

**Evaluación de tres tratamientos post-
pasteurización en salchichas tipo hot dog
marca Zamorano**

Pablo Andrés Villarroel Morales

Honduras
Diciembre, 2006

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA

Evaluación de tres tratamientos post- pasteurización en salchichas tipo hot dog marca Zamorano

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar
al título de Ingeniera en Agroindustria en el Grado
Académico de Licenciatura

Presentado por:

Pablo Andrés Villarroel Morales

Honduras
Diciembre, 2006

El autor concede a Zamorano permiso para reproducir y distribuir copias de este trabajo para fines educativos. Para otras personas físicas o jurídicas se reservan los derechos de autor.

Pablo Andrés Villarroel Morales

Honduras
Diciembre, 2006

Estudio de vida útil de tres tratamientos post-pasteurización en salchichas tipo hot dog Zamorano

Presentado por:

Pablo Andrés Villarroel Morales

Aprobado:

Wilfredo Domínguez, M.Sc.
Asesor Principal

Raúl Espinal, Ph.D.
Director
Carrera de Agroindustria

Adela Acosta Marchetti, D.C.T.A.
Asesora

George Pilz, Ph.D.
Decano Académico

Kenneth L. Hoadley, D.B.A.
Rector

DEDICATORIA

A Dios por permitirme existir y alumbrar mi camino.

A mi papá Nelson Villarroel Idrovo y a mi mamá Gloria Morales Cevallos, que han forjado mi vida con dedicación y esmero, por el respaldo incondicional y el gran ejemplo de humildad, dedicación, perseverancia y triunfo que han inculcado sobre mí

A mi Tía Magdalena Toral, quiero dejar impregnado en este papel el gran dolor que nos causó su fallecimiento el día 13 de Julio de 2006, fecha en la que no pude acompañarla a la triste despedida, a mi tío Jaime Villarroel e hijos por tenerme siempre presente y seguir luchando solos sin su esposa y madre.

A mis hermanos Nelson y Diego por ser el reflejo de la constante dedicación y servicio hacia los demás, por estar junto a mí en las alegrías, triunfos y tristezas.

A mi tío Marcos Morales.

AGRADECIMIENTOS

Al Ingeniero Wilfredo Domínguez, por el tiempo valioso y efectivo, dedicado a solventar mis dudas, e ilustrar con sus conocimientos el presente Estudio.

Al la Doctora Adela Acosta y Doctor Luís Osorio, por facilitar la ejecución del estudio, orientándolo con conocimientos y dedicación.

Al Ingeniero Víctor Taleón, quien colaboró con el desarrollo analítico del estudio, asesorándolo con su conocimiento.

A mis amigos: Andrés Villagran, Andrés Guerra, Sebastián Araya, Herbert Meléndez, Carlos Mercado, Rodrigo Rodríguez, Iván García, Miguel Jordán, y uno muy especial a Diana Guevara. por permitirme vivir junto a ellos los mejores momentos de mi vida en Zamorano.

A mis profesores por su desinteresada y generosa labor de transmisión del saber, su inagotable entusiasmo y sus acertados consejos y sugerencias.

A mi familia.

AGRADECIMIENTOS A PATROCINADORES

A mi familia por haber facilitado la culminación de mi carrera, apoyándome a través de estos cuatro Años.

A mis tíos, Hilda y Jorge Vásquez y su familia por su gran generosidad con mi familia.

A la Procesadora Nacional de Alimentos PRONACA SA., por permitirme desarrollar mi experiencia laboral junto a ellos.

RESUMEN

Villarroel, P. 2006. Evaluación de tres tratamientos post-pasteurización en salchichas tipo hot dog marca Zamorano. Proyecto de Graduación del Programa de Ingeniería en Agroindustria, Escuela Agrícola Panamericana “El Zamorano”, Honduras. 54 p.

En la actualidad existen razones económicas para que la industria cárnica busque alternativas de procesamiento que alarguen la vida útil y mantenga la calidad de sus productos. El uso de aditivos, como bacteriosinas es una opción que permite mantener la calidad de alimentos cárnicos. El objetivo de este estudio fue evaluar la vida útil física, microbiológica y sensorial de tres tratamientos post-pasteurización aplicados sobre salchichas tipo hot dog marca Zamorano. Los tratamientos fueron: nisina (25 ppm), ácido láctico (2.5%), nisina (25 ppm) más ácido láctico (1.25%) y un testigo (sin antimicrobianos). El estudio tuvo una duración de 49 días y se realizó en el Laboratorio de Microbiología, Centro de Evaluación de Alimentos, Planta de Procesamiento de Carne y Planta Agroindustrial de Investigación y Desarrollo de la Escuela Agrícola Panamericana. Para el análisis estadístico se empleó un Diseño Completamente al Azar con Medidas Repetidas en el Tiempo y una separación de medias Tukey estableciendo un nivel de significancia de $P < 0.05$. Las variables microbiológicas fueron: aerobios, coliformes y psicrófilos; las físicas: pH, color y dureza mecánica y las sensoriales: apariencia, color, olor, sabor y textura. Los tratamientos con nisina tuvieron un mayor efecto antimicrobiano que los demás. El tratamiento nisina-ácido láctico registró los recuentos menores de aerobios mesófilos ($4.5 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$) al día 49, mientras que el testigo alcanzó al día 35, $5.1 \text{ Log}_{10} \text{ UFC/g}$. La carga de psicrófilos fue controlada por los tratamientos con nisina. Sin embargo, la nisina no fue eficaz contra los coliformes, donde el ácido láctico fue superior. El análisis físico reveló con excepción al testigo, que los tratamientos tuvieron igual comportamiento en color, pH y dureza mecánica. El análisis sensorial de las muestras no reveló diferencias en el tiempo para las características apariencia, color y sabor, no obstante, sí se encontraron diferencias en textura y olor.

Palabras claves: Ácido Láctico, Aerobios mesófilos, Bacteriosinas, Nisina, Psicrófilos.

Wilfredo Domínguez, M.Sc.
Asesor Principal

CONTENIDO

	Portadilla.....	i
	Autoría	ii
	Página de Firmas	iii
	Dedicatoria	iv
	Agradecimientos.....	v
	Agradecimientos a patrocinadores	vi
	Resumen	vii
	Contenido	viii
	Índice de cuadros	xii
	Índice de figuras	xii
	Índice de anexos	xiii
1.	REVISIÓN DE LITERATURA	1
1.1	ENTORNO GENERAL	1
1.2	VIDA ÚTIL EN ALIMENTOS.....	1
1.2.1	Definición de Calidad.....	1
1.2.2	Generalidades microbiológicas que alteran la calidad de un producto cárnico	2
1.2.2.1	Microorganismos Indicadores	2
1.2.3	Normas Microbiológicas	2
1.3	BACTERIOSINAS Y ADITIVOS UTILIZADOS EN EL ESTUDIO.....	3
1.3.1	Nisina.....	3
1.3.2	Ácido Láctico	4
2.	INTRODUCCIÓN	5
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	7
3.1	LOCALIZACIÓN DEL ESTUDIO	7
3.2	DISEÑO EXPERIMENTAL.....	7
3.3	ARREGLO FACTORIAL.....	7
3.4	MUESTRAS.....	8
3.5	SOLUCIONES PARA TRATAMIENTOS	8
3.5.1	Nisina.....	8
3.5.2	Ácido Láctico	9
3.5.3	Ácido Láctico-Nisina.....	9
3.6	ANÁLISIS SENSORIAL.....	9
3.7	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	9
3.7.1	Preparación de Medios y Caldos	9
3.7.2	Esterilización y Manutención de los medios antes de siembra	10
3.7.3	Preparación de diluciones.....	10
3.7.4	Recuentos de Platos.....	11

3.8	ANÁLISIS FÍSICO	11
3.8.1	Determinación Analítica de Color.....	11
3.8.2	Determinación Analítica de Dureza Mecánica.....	12
3.8.3	Determinación de pH.....	12
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	14
4.1	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	14
4.1.1	Aerobios Totales.....	14
4.1.2	Coliformes Totales	16
4.1.3	Psicrófilos	18
4.2	ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS	20
4.2.1	Determinación del pH.....	20
4.2.2	Dureza Mecánica.....	22
4.2.3	Color	25
4.2.3.1	Valor L*.....	25
4.2.3.2	Valor a*.....	25
257		
4.2	ANÁLISIS SENSORIAL DE ACEPTACIÓN	209
5.	CONCLUSIONES	32
6.	RECOMENDACIONES	33
7.	BIBLIOGRAFÍA	34
8.	ANEXOS	327

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro

1	Límites microbiológicos en productos cárnicos terminados, permitido por la legislación ecuatoriana.	3
2	Arreglo factorial de tratamientos aplicados post-pasteurización a Salchichas tipo Hot Dog Zamorano.....	8
3	Métodos de análisis utilizados en el estudio.....	13
4	Evolución de aerobios (Log_{10} ufc/g) a través del tiempo entre tratamientos aplicados post-pasteurización a salchichas hot dog marca Zamorano.	15
5	Progreso de aerobios (Log_{10} ufc/g) a través del tiempo para cada tratamiento aplicado post-pasteurización a salchichas hot dog marca Zamorano.....	16
6	Evolución de coliformes (Log_{10} ufc/g) a través del tiempo entre tratamientos aplicados post-pasteurización a salchichas hot dog marca Zamorano.	17
7	Progreso de coliformes (Log_{10} ufc/g) a través del tiempo para cada tratamiento aplicado post-pasteurización a salchichas hot dog marca Zamorano.....	18
8	Evolución de Psicrófilos (Log_{10} ufc/g) a través del tiempo entre tratamientos aplicados post-pasteurización a Salchichas hot dog marca Zamorano.....	19
9	Progreso de psicrófilos (Log_{10} ufc/g) a través del tiempo para cada tratamiento aplicado post-pasteurización a Salchichas hot dog marca Zamorano.	20
10	Evolución del pH a través del tiempo entre tratamientos aplicados post-pasteurización a salchichas hot dog marca Zamorano.	21
11	Progreso del pH a través del tiempo para cada tratamiento aplicado post-pasteurización a Salchichas hot dog marca Zamorano.....	22
12	Evolución de la dureza mecánica (kilonewtons) a través del tiempo entre tratamientos aplicados post-pasteurización a salchichas hot dog marca Zamorano.....	23

13	Progreso de la dureza mecánica (kilonewtons) a través del tiempo para cada tratamiento aplicado post-pasteurización a Salchichas hot dog marca Zamorano.....	24
14	Evolución del valor L a través del tiempo entre tratamientos aplicados post-pasteurización a Salchichas hot dog marca Zamorano.....	25
15	Progreso del valor L a través del tiempo para cada tratamiento aplicado post-pasteurización a salchichas hot dog marca Zamorano.	27
16	Evolución del color, en valor A para salchichas tipo Hot Dog de Zamorano con diferentes tratamientos a través del tiempo.	27
17	Progreso del valor A a través del tiempo para cada tratamiento aplicado post-pasteurización a Salchichas hot dog marca Zamorano.....	28
18	Valoración de características sensoriales entre tratamientos de salchichas tipo hot dog de Zamorano 28 días después de haber aplicado los antimicrobianos....	29
19	Valoración de características sensoriales entre tratamientos de salchichas tipo Hot Dog de Zamorano 49 días después de haber aplicado los antimicrobianos ..	30
20	Valoración de textura a través del tiempo entre tratamientos aplicados post-pasteurización a salchichas hot dog marca Zamorano.	30
21	Valoración del Olor a través del tiempo entre tratamientos aplicados post-pasteurización a Salchichas hot dog marca Zamorano.....	31

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		
1	Preparación de dilución madre y siembra de diluciones	11
2	Comportamiento de microorganismos aerobios (\log_{10} ufc/g) a través del tiempo en tratamientos aplicados post-pasteurización en salchichas tipo hot dog marca Zamorano.....	15
3	Comportamiento de microorganismos coliformes (\log_{10} ufc/g) a través del tiempo en tratamientos aplicados post-pasteurización en salchichas tipo hot dog marca Zamorano.....	17
4	Comportamiento de microorganismos psicrófilos (\log_{10} ufc/g) a través del tiempo en tratamientos aplicados post-pasteurización en salchichas tipo hot dog marca Zamorano.....	19
5	Comportamiento del pH a través del tiempo en tratamientos aplicados post-pasteurización en salchichas tipo hot dog marca Zamorano.	21
6	Comportamiento de la dureza mecánica a través del tiempo en tratamientos aplicados post-pasteurización en salchichas tipo hot dog marca Zamorano.	24
7	Comportamiento del valor L en tratamientos aplicados post-pasteurización en salchichas tipo hot dog marca Zamorano a través del tiempo	26
8	Comportamiento del valor A en tratamientos aplicados post-pasteurización en salchichas tipo hot dog marca Zamorano a través del tiempo	28

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo

1	Análisis de costos variables de Aditivos	38
2	Esquema de procedimientos realizados en el estudio.....	40
3	Hoja de Evaluación Sensorial.....	41

1. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1 ENTORNO GENERAL

Un reto fundamental en la industria cárnica es satisfacer la demanda de productos cárnicos preparados y semielaborados, que puedan cocinarse con un esfuerzo mínimo, en un corto espacio de tiempo y con una vida útil razonable. Los productores necesitan encontrar un equilibrio óptimo entre frescura y sabor por un lado y seguridad y vida útil por otro. El sector agroindustrial de procesamiento cárnico es responsable de la seguridad intrínseca de sus productos lo que significa reducir el riesgo de contaminación con microorganismos patógenos y descomponedores, así como inhibir su crecimiento durante los procesos de manipulación y almacenamiento (Rodríguez 2005).

1.2 VIDA ÚTIL EN ALIMENTOS

El período de vida del producto comercializado, es el tiempo que transcurre entre su elaboración y consumo, depende, además de otros factores de elaboración (pH, condiciones de cocción, composición, etc.), de la contaminación microbiana en el momento del envasado, del tipo de envasado (vacío, atmósfera protectora y de la temperatura de conservación. El crecimiento de microorganismos no depende únicamente del número de unidades presentes en el envase en el momento del envasado, sino también de la presencia y cantidad de otros microorganismos susceptibles de competir con él. Si las condiciones de envasado, de temperatura y de tiempo son iguales, un microorganismo se puede multiplicar, inactivar o desaparecer según se encuentre o no en competición con otro (Durand 2002).

1.2.1 Definición de Calidad

La calidad de un alimento es un concepto subjetivo, porque depende del sujeto que lo valora; relativo, en función de la especie y el nivel al cual se evalúa; y dinámico, ya que es variable en el espacio y el tiempo. En cualquier caso, la decisión es, en último término, del consumidor. La aceptación del producto se vincula con distintos atributos, incluyendo los aspectos de inocuidad, nutricionales, propiedades sensoriales (sabor, textura, color, apariencia), la adecuación de la materia prima para el procesamiento y la conservación (Agüeria y otros 1998).

1.2.2 Generalidades microbiológicas que alteran la calidad de un producto cárnico

Existen un sin número de microorganismos que pueden causar algunos problemas durante el almacenamiento refrigerado de carne, como bacterias psicotróficas principalmente del género *Pseudomonas* y ciertas levaduras y mohos que pueden crecer a temperaturas bajas (Castillo 2002). El sistema de empaque es el factor de mayor importancia en la flora que descompone el producto. Las salchichas en fundas impermeables al oxígeno tienen una vida de anaquel, en refrigeración, de semanas, sin embargo, el uso de empaques al vacío o con atmósfera modificada favorece el crecimiento de anaerobios facultativos y anaerobios totales, tales como los géneros de *Brochothrix*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* y miembros de la *Enterobacteriaceae* (Cousin y otros 1992). Los paquetes de salchichas pueden hincharse debido a la producción de CO₂, en general por bacterias lácticas heterofermentativas, mientras que las bacterias reductoras de nitratos dan lugar a la formación de gas (óxido nítrico). Eso ocurre cuando la cubierta del empaque es elástica e impermeable a los gases (Castillo 2002).

1.2.2.1 Microorganismos Indicadores

Los Aerobios totales, son microorganismos celulares somáticos, que pueden desempeñarse en un amplio rango de temperatura, de ahí que existen tres grandes clasificaciones; mesófilos, termófilos y psicrófilos, y algunos mesófilos adaptados; como los psicrotrofos y termodúricos. Estos organismos depende en su mayoría de oxígeno para vivir, aunque se ha podido detectar algunos microorganismos con metabolismos facultativos que pueden engañar la verdadera definición de aerobios totales. (Arguello 2005).

Los Coliformes son bacilos Gram negativos, aerobios y anaerobios facultativos que no forman esporas y fermentan la lactosa con producción de gas a una temperatura de incubación entre 30°C a 37°C (Arguello 2005).

1.2.3 Normas Microbiológicas

El Instituto Ecuatoriano de Normalización, es el órgano nacional que controla y promueve la estandarización de varios procesos industriales, en este caso estipula los siguientes parámetros microbiológicos para productos cárnicos terminados:

Cuadro 1. Límites microbiológicos en productos cárnicos terminados, permitido por la legislación ecuatoriana.

Descripción del producto	Coliformes totales	Aerobios mesófilo (ufc/g)
PRODUCTO COCIDO		
1. Entero	<10 ² ufc/g	<10 ⁵
2. Rebanado	<3 NMP*	<2x10 ⁵
PRODUCTO AHUMADO Y COCIDO		
1. Entero	<3 NMP	<10 ⁵
2. Rebanado	Máx 9.4 NMP	<2x10 ⁵
PRODUCTO CRUDO CONGELADO		
1.-Hamburguesa de pollo	<10 ³ ufc/g	<5x10 ⁵
2. Hamburguesa de res/ Carne molida	<10 ³ ufc/g	Máx 75x10 ⁴
3.- Filete de pechuga marinado.	<10 ³ ufc/g	<5x10 ⁵
PRODUCTO CONGELADO		
1.Producto horneado congelado	Máx 4 NMP	<2x10 ⁵
2. Producto con pre-fritura	<3 NMP	<2x10 ⁵

Fuente: NORMAS INEN: 1339:96; 1344:96; 1342:96; 1338:96; 1340:96.

* NMP= Número Más Probable.

1.3 BACTERIOSINAS Y ADITIVOS UTILIZADOS EN EL ESTUDIO

1.3.1 Nisina

La Nisina, (C₁₄₃H₂₃₀N₄₂O₃₇S₇), consta de cuatro componentes de estructura similar, compuestos a su vez de 29 a 34 aminoácidos, ocho de los cuales contienen azufre, aminoácidos raramente encontrados en la naturaleza (Gross y Morell 1971 y Hansen 1994).

Determinadas cepas bacterianas generan pequeñas proteínas conocidas como bacteriocinas. Estos biocompuestos funcionan como antibióticos de reducido espectro ya que tienden a dañar solo a aquellos microorganismos similares a las bacterias que los producen. Presenta actividad antimicrobiana contra un rango limitado de bacterias Gram-positivas, estreptococos, bacilos, clostridios y otros microorganismos anaerobios espórogenos. (Lück y otros 2002). La nisina es una sustancia producida por *Lactococcus lactis* a partir de una fermentación en medio lácteo modificado. La molécula es ácida y por tanto exhibe su mayor estabilidad bajo condiciones ácidas (Delves y Broughton 1990).

Según Arguello (2005), con la utilización de nisina se puede duplicar la vida de almacenamiento a 8° C de productos cárnicos cocidos. El grado de eficacia depende de una serie de factores, como por ejemplo, el contenido de grasa, el tipo de sal de fundido de fosfato y el nivel de bacterias de ácido láctico contaminantes.

La nisina es un preservante recomendado en Europa para productos lácteos, bebidas, conservas y productos cárnicos, es así que exceptuando la nisina (E-234) todos los demás antibióticos quedan reservados en la Unión Europea al uso médico, prohibiéndose taxativamente su utilización como preservante alimentarios. Esto para evitar la aparición de cepas bacterianas resistentes y la posible alteración de la flora intestinal de los consumidores. El uso de antibióticos en medicina veterinaria está también reglamentado para que no puedan llegar al consumidor como contaminantes de la carne o de la leche (García 2006).

La nisina fue aislada en 1928, comenzó a utilizarse como antimicrobiano en algunos alimentos en la década del '50 y actualmente reviste la categoría de GRAS (Generally Recognized As Safe) por la FDA (Food and Drug Administration, USA) (Delves y Broughton 1990).

1.3.2 Ácido Láctico

El Acido Láctico es un líquido entre incoloro (en pequeñas cantidad) y ligeramente amarillento (en mayor cantidad), con miscibilidad ilimitada en agua. El ácido láctico, como producto natural, que se forma espontáneamente en los alimentos durante los procesos de fermentación, apenas ha sido sometido a unas cuantas restricciones legales alimentarias. (Lück y otros 2000)

El ácido láctico se encuentra entre los conservantes más antiguos conocidos, sus efectos se han utilizado durante siglos en la producción de col ácida (sauerkraut), encurtidos y aceitunas de mesa aderezada. Especialmente en el lejano oriente y Asia oriental, también, se conserva por fermentación ácido láctica, otros alimentos, incluso productos de origen animal. El agriado de la leche y la acidificación de la mantequilla, así como algunos aspectos de la manufactura de quesos, son otros ejemplos del uso del ácido láctico como conservante, como la producción de yogur y otras leches fermentadas. El ácido láctico producido en estos alimentos, se forma por fermentación de carbohidratos presentes en los alimentos ya que se están comercializando alimentos completamente nuevos mediante una diversidad de reacciones bioquímicas (como en la producción de bebidas alcohólicas por la fermentación de zumos) el proceso de fermentación no es, en sentido estricto un método químico de conservación de alimentos. Recientemente se ha recomendado el ácido láctico y los lactatos para conservar carnes y productos embutidos (Lück y otros 2000).

El ácido láctico como preservante es determinado sobre la medida que pueda éste afectar el pH de los alimentos, el crecimiento acelerado de organismos en los alimentos se presenta a partir de un pH 4.5. Si el ácido láctico puede disminuir este valor evitando la alteración organoléptica del producto, entonces es considerado válido para la aplicación de este aditivo (Jay 1973).

2. INTRODUCCIÓN

La incesable búsqueda de calidad y aceptación en alimento procesados, ha sido el actual lineamiento filosófico de muchas empresas agroalimentarias. La innovación, las exigencias de los consumidores, las legislaciones cada vez más estrictas y la libre competencia, ponen en vilo la pobre eficiencia de ciertos sistemas agroindustriales. La industria de procesamiento de productos cárnicos, es un ejemplo claro del peso jurídico, comercial y técnico que recae sobre algunos segmentos empresariales.

Los productos cárnicos por su naturaleza de origen son propensos al deterioro, sin embargo, varias actividades se han desarrollado por siglos para conservar las cualidades integras del producto. La nisina, recientemente utilizada en productos lácteos ha demostrado ser útil para mantener las propiedades microbiológicas y organolépticas de los mismos, alargando su vida útil y disminuyendo costos por rechazo. La nisina, comercialmente conocida como Nisaplin™ o Chrisin™, está incursionando en la industria de cárnicos. Aunque no se dispone de mucha información técnica detallada, se ha constatado mediante ensayos en laboratorio, que la nisina posee una amplia gama de acción en contra de los organismos Gram positivos, incluso *Listeria monocytogenes*, una de las bacterias más temidas en el sector cárnico. Los microorganismos Gram positivos son en su mayoría causantes del deterioro acelerado del alimento, pese a tomar otras medidas de mitigación.

Debido a la reciente utilización de la nisina, existen varias desventajas y limitaciones en su uso: el elevado costo, la poca disponibilidad de fabricantes y el desconocimiento técnico. Por otro lado, el ácido láctico no ha probado ser un antimicrobiano de fuertes características, he incluso es tan común, que se encuentra presente en varios procesos metabólicos bacterianos en alimentos. Sin embargo, según Lück y otros. (2000), en dosis arriba de 0.5%, este aditivo funciona como preservante. La buena utilización, teóricamente, aumenta la vida útil de productos cárnicos. Las ventajas de este producto son: la fácil disponibilidad para las industrias alimentarias, el costo bajo y las no detalladas normas de dosificación para alimentos, ya que se ha probado que no causa agravio al consumidor.

En varias industrias cárnicas, como Pronaca-Embutidos en Pifo, Ecuador la cual procesa alrededor de 26 toneladas en promedio semanalmente de producto cocido, la vida de anaquel es determinante. En este contexto, un cuello de botella que la empresa enfrenta es la recontaminación del producto a partir de la salida de hornos. Si bien es cierto, existen sistemas de manejo que garantizan productos inocuos, la naturaleza de los mismos productos los vuelve susceptibles a la contaminación cruzada y recontaminación ambiental.

El objetivo de este estudio fue evaluar la vida útil física, microbiológica y sensorial de tres tratamientos post-pasteurización aplicados sobre salchichas tipo hot dog marca Zamorano.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 LOCALIZACIÓN DEL ESTUDIO

El estudio se realizó en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos, El Centro de Evaluación de Alimentos (CEA), La Planta Agroindustrial de Investigación y Desarrollo (PAID) y La Planta de Procesamiento de Carne, ubicados en la Universidad Agrícola Panamericana “Zamorano”, localizada en el kilómetro 30 vía Danlí, Valle del Yeguaré, Departamento Francisco Morazán, Honduras, C.A.

3.2 DISEÑO EXPERIMENTAL

Se empleó un Diseño Completamente al Azar (DCA) analizado como Medidas Repetidas en el Tiempo y una separación de medias Tukey. Se utilizó el modelo lineal general (GLM) del programa estadístico SAS (Statistical Analysis System) versión 9.1, con un nivel de significancia de $P < 0.05$.

Las variables estudiadas fueron:

- Físicas: pH, color, dureza mecánica.
- Sensoriales: color, olor, sabor, textura, apariencia.
- Microbiológicas: aerobios, psicrófilos y coliformes.

Los tratamientos aplicados a las muestras de salchichas fueron: Nisina, Ácido Láctico y Nisina-Ácido Láctico, analizados los días cero, siete, catorce, veinte y uno, veinte y ocho, treinta y cinco, cuarenta y dos y cuarenta y nueve.

3.3 ARREGLO FACTORIAL

El estudio se estableció mediante un arreglo factorial, donde las columnas representan los días y las filas cada tratamiento. El análisis estadístico se realizó evaluando todos los tratamientos entre cada columna de tiempo, también se analizó a cada tratamiento (fila) a través del tiempo (Cuadro 2).

Cuadro 2. Arreglo factorial de tratamientos aplicados post-pasteurización a Salchichas tipo Hot Dog Zamorano.

TRATAMIENTOS	Días							
	0	7	14	21	28	35	42	49
Nisina	N1	N2	N3	N4	N5	N6	N7	N8
Ácido Láctico	AL1	AL2	AL3	AL4	AL5	AL6	AL7	AL8
Nisina+Ácido Láctico	NAL1	NAL2	NAL3	NAL4	NAL5	NAL6	NAL7	NAL8
Testigo*	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8

* Grupo de salchichas procesadas sin aplicar ningún tratamiento y sirvieron como medida de comparación.

3.4 MUESTRAS

Los ejemplares de salchichas Hot Dog fueron recolectados en el Área de Producción de la Planta de Cárnicos. Cada muestra siguió el mismo procedimiento habitualmente usado en este tipo de producto, no obstante, antes del empaquetado (después del proceso de cocido y ahumado), se seleccionaron las muestras de salchichas para aplicar los tratamientos. Se retiró la funda o sauciso (funda no comestible de celulosa tipo Teepak Wienepak calibre 21 Coria) de la salchicha, con excepción de la muestra testigo, luego se colocaron las muestras de salchichas en tres recipientes plásticos diferentes, previamente lavados y desinfectados con jabón y alcohol gel. En estos recipientes se depositaron las soluciones para cada tratamiento.

En grupos independientes por cada tratamiento, las salchichas fueron sumergidas durante dos minutos en las soluciones, luego fueron colgadas y escurridas por un minuto. Inmediatamente se efectuó el empaquetado normal al vacío y se identificó cada muestra. Estas fueron trasladadas manteniendo la cadena de frío, hasta el refrigerado del Laboratorio de Microbiología donde permanecieron durante todo el estudio.

3.5 SOLUCIONES PARA TRATAMIENTOS

3.5.1 Nisina

El producto comercial Nisaplin™ (Danisco, preservante 234 de Código Alimentario) fue diluido hasta obtener 25 ppm de nisina pura en 1 litro de agua destilada con 1 ml de ácido clorhídrico a 0.02 N (preparación de origen Cat.No. A144 Fisher), este último actuó como promotor eficaz de la dilución entre el agua y la nisina. La solución alcanzó un pH de 3.4.

3.5.2 Ácido Láctico

El ácido láctico al 88 % (PURAC FCC 88, PURAC Inc.) fue diluido en agua destilada hasta alcanzar una concentración de 2.5 %. El pH de la dilución final deseada fue de 2.2.

3.5.3 Ácido Láctico-Nisina

En un litro de agua destilada se diluyó Nisaplin™ hasta alcanzar una concentración final de 50 ppm de nisina (no se utilizó HCl). En otro litro de agua se añadió ácido láctico (88%) hasta alcanzar una concentración de 2.5% de ácido láctico. Estas dos soluciones fueron mezcladas, obteniendo como resultado 2 litros de agua destilada con 25 ppm de nisina y 1.25% de ácido láctico en su concentración. El pH de la dilución final deseada fue de 2.8. En este caso el ácido láctico actuó como promotor eficaz de la dilución entre el agua y la nisina.

3.6 ANÁLISIS SENSORIAL

Se realizó un panel sensorial de carácter descriptivo, es decir las muestras al día cero, siete, catorce, veinte y ocho y treinta y cinco, cuarenta y dos y cuarenta y nueve, excepto el testigo, que sólo fue analizado los 5 primeros tiempos. Se usaron 9 panelistas no entrenado y una escala hedónica de 1= excelente a 5= deficiente. Este panel se efectuó en las instalaciones de La Planta Agroindustrial de Investigación y Desarrollo, específicamente en la sala de degustación.

3.7 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

3.7.1 Preparación de Medios y Caldos

Agua de Dilución o Peptona: Se mezclaron 480 ml de agua destilada con 0.48 gramos de peptona (Cat. No.: 214010, Bacto Agar- Difco). Se utilizó una estufa térmica con agitador (Cat. No.: 11-600-100SHQ, Fisher Scientific) para calentar paulatinamente la mezcla hasta diluirla. Esta cantidad fue suficiente para preparar 4 frascos con 90 ml y 12 tubos de ensayo con 9 ml al 0.1% de peptona.

Medio Estándar para Recuentos de Colonias (PCA): se mezclaron 7.2 gramos de PCA (Cat. No.: CZ-14202-68 Cole-Palmer) con 320 ml de agua destilada. Se utilizó una estufa térmica con agitador (Cat. No.: 11-600-100SHQ Fisher Scientific) para calentar la mezcla hasta alcanzar una claridad total del medio. Esta cantidad fue suficiente para llenar 16 platos Petri desechables con 20 ml de medio.

Medio Estándar para Recuentos de colonias (VRBA): se mezclaron 13.3 gramos de VRBA (Cat. No.: CZ-14202-82, Cole-Parmer) con 320 ml de agua destilada. Se utilizó una estufa térmica con agitador (Cat. No.: 11-600-100SHQ, Fisher Scientific) para calentar la mezcla hasta obtener una clarificación total del medio, percatándose de evitar su ebullición completa. Esta cantidad fue suficiente para llenar 16 platos Petri desechables con 20 ml de medio.

Medio Estándar para Recuentos de colonias (TSA): se mezcló 12.2 gramos de medio TSA (Cat. No.: R455002, Fisher Scientific) con 370 ml de agua destilada, calentando la mezcla sobre una estufa con agitador (Cat. No.: 11-600-100SHQ, Fisher Scientific) hasta obtener una solución cristalina. Esta cantidad fue suficiente para sembrar 16 platos Petri con 25 ml de medio).

3.7.2 Esterilización y Manutención de los medios antes de siembra

Los medios líquidos, cristalinos y calientes PCA y TSA y el Agua Peptonada, fueron trasvasados a frascos rotulados de vidrio. Estos fueron sometidos a esterilización (modo líquidos) en autoclave (modelo 109-85-E, Market Force Industries Inc) a 120 °C por 15 minutos. Una vez retiradas las muestras, fue necesario colocar los frascos en baño María (Cat. No.: IA-214 / IA-214D, ISERBO) a 42 °C, con excepción de la peptona, esto con el fin de evitar la pronta gelificación de los medios. El VRBA es un medio no autoclavable, por lo cual su procedimiento es diferente y delicado. Este medio fue llevado casi a punto de ebullición al momento de su agitación, luego fue trasvasado asépticamente a frascos estériles, que son inmediatamente trasladados al baño María.

3.7.3 Preparación de diluciones

Utilizando técnicas asépticas microbiológicas, se pesaron 10 gramos de cada muestra (diferente tratamiento) en bolsas estériles individuales (Cat. No.: 01-002-44, Fisher Scientific). Se vertió 90 ml de agua peptonada ya esterilizada y aclimatada a 35-40 °C sobre cada una de las bolsas que contenían las muestras, estas fueron homogenizada en el Stomacher (Cat. No.: CCS3445, Broyeur) durante 1 minuto. En la cámara de flujo laminar Purifier Class II (Catalogo # 362001-04Y LABCONCO) se diluyó cada muestra de solución madre hasta alcanzar las diluciones 10^1 , 10^2 y 10^3 .

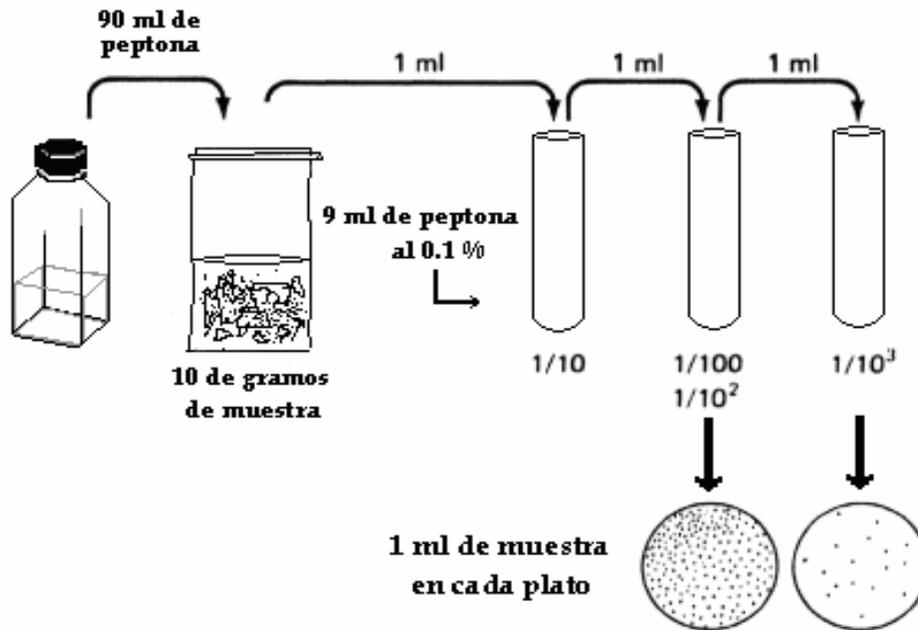


Figura 1. Preparación de dilución madre y siembra de diluciones.

3.7.4 Recuentos de Platos

Cada dilución fue sembrada (asépticamente) con micropipeta (Cat. No.: 21-377-821, Finnpiette II) por duplicado en platos Petri rotulados mediante la técnica llamada Pour Plate. Veinte ml de medio aclimatado a 40 ± 5 °C PCA y VRBA fue vertido sobre cada plato según fue el caso, para el medio TSA se utilizó 25 ml por plato. Una vez los medios estuvieron en los platos inoculados, se realizó sobre cada plato un suave movimiento circular para homogenizar la dilución con el medio. Se dejó reposar hasta que los medios gelificaran por completo. El PCA y el VRBA fueron incubados a 36 °C por 24 a 36 horas en una incubadora (modelo 116D serie 100, Fisher Scientific) y el TSA fue incubado a 5 ± 1 °C por 12 días.

3.8 ANÁLISIS FÍSICO

3.8.1 Determinación Analítica de Color

Cada tratamiento fue sujeto a la detección cuantitativa de color con ayuda del Colorímetro (Colorflex Hunter Associates Laboratory Inc.) el cual reporta valores en rangos de color L^* , a^* y b^* . El instrumento, previo a su utilización, fue calibrado bajo diferentes estándares de tonalidades (negro y blanco), así mismo se limpió con agua destilada la celda de detección entre cada medición de muestra.

3.8.2 Determinación Analítica de Dureza Mecánica

La dureza mecánica para cada muestra fue determinada por triplicado con el texturómetro (Instron 4444 Model 4440 Load Frames). El instrumento fue encendido una hora antes de su utilización, inmediatamente se procedió a ubicar los comandos de calibración y balanceo en el panel frontal del aparato. Después, se colocó el acople de corte y se tomaron distancias entre el implemento y la base del equipo, y de igual forma los diámetros de las salchichas con un pie de Rey. Luego, se colocó la información pertinente en el programa (tipo de ensayo, información del producto y parámetros del ensayo). Se corrió el aparato, controlando la gráfica cartesiana que se fue formando en el programa, hasta que el implemento cortó completamente la muestra. Finalmente se anotó los datos de dureza mecánica en kilonewtons detectados por el instrumento.

3.8.3 Determinación de pH

Sobre un beaker de 250 ml se pesó 10 gramos de cada muestra de salchicha tipo hot dog marca Zamorano sobre la balanza electrónica (Mettler AE200) y se agregó 90 ml de agua destilada. Con un pistilo se homogenizó la muestra en agua, hasta alcanzar un macerado casi completo. El pH-Metro (Orion Reserch Model 701A Digital/Ionalyzer) fue calibrado con los buffers pH 4 y pH 7, luego se colocó el electrodo sobre la mezcla, y se anotó el pH. Cada muestra fue analizada por triplicado.

Cuadro 3. Métodos de análisis utilizados en el estudio.

Nombre del Método o Protocolo de Ensayo	Norma Técnica o Especificación Utilizada	Tipo de Análisis
Protocolo de Siembra: Recuento de microorganismos aerobios mesófilos.	988.18 ; 990.12 AOAC Internacional, Tercera edición. EU. 1997.	Microbiológico
Protocolo de Siembra, detección y conteo de Coliformes Totales	Adaptación del método: 966.24; 991.14 AOAC Internacional, Tercera edición. EU. 1997.	Microbiológico
Protocolo de Recuento de placas, Siembra por superficie en agar estándar aerobios Psicrófilos y Psicrótrofos	Método publicado por la APHA en 1976 para recuento de psicrófilos *.	Microbiológico
Determinación Analítica de Color	Manual de Operación Colorflex Hunterlab. CEA – Zamorano.	Físico
Determinación de Dureza Mecánica	Manual de Operación Maquina INSTRON Serie 4444. CEA – Zamorano.	Físico
Verificación de Acidez mediante determinación de Potencial de Hidrogeno (Ph)	Norma Técnicas No: NTE 0783:85 Ecuatorianas (INEN).	Físico-Químico
Preparación del Tratamiento Acido Láctico	Determinación de concentraciones: Cuadrado de Pearson.	Químico
Preparación de Solución de Nisina (Arguello 2005).	Formulario de Instrucciones CR-PR01- I58 emisión No.12 Pronaca-Embutidos 2005.	Químico
Panel sensorial descriptivo con una escala hedónica del 1 deficiente y 5 Excelente (Pico 2004).	Formulario de Análisis FAP-PR45 emisión No.12 Pronaca-Embutidos 2005.	Sensorial

* El método usa PCA como medio de cultivo. En el análisis se utilizó TSA para el recuento de Psicrófilos.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se aplicaron tres tratamientos antimicrobianos post-pasteurización sobre muestras de salchichas tipo hot dog marca Zamorano, para determinar su efecto en la vida útil del producto. Los tratamientos fueron medidos a través del tiempo basadas en características sensoriales, físicas y microbiológicas. Todas las muestras de salchichas estuvieron refrigeradas a una temperatura de 5 ± 1 °C por 49 días permaneciendo en su respectivo empaque al vacío.

4.1 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

El motivo de este estudio solo supone parámetros de putrefacción, más no de patogenicidad en el alimento. Por lo tanto este trabajo no analizó la inocuidad de las salchichas hot dog marca Zamorano.

4.1.1 Aerobios Totales

Los microorganismos mesófilos aerobios, desempeñaron un papel importante en el análisis de este estudio. Existieron varias razones para considerar la investigación de este amplio grupo de microorganismos, que se detallan a continuación. Los recuentos de aerobios determinan la aceptabilidad en muchos alimentos procesado, de acuerdo a la legislación de cada país. En este estudio se determinó la vida de anaquel microbiológica de los diversos tratamientos, bajo los parámetros de la legislación ecuatoriana. De esta forma también se garantizó la seguridad de los jueces en el panel sensorial.

El ácido láctico no fue lo suficientemente antagonistas para limitar el crecimiento microbiano al inicio del estudio, sin embargo mantuvo la carga microbiana por debajo de lo permitido por la ley hasta el día 49 (Cuadro 4). El tratamiento con nisina tiene su acción microbiana directa sobre una amplia gama de organismos Gram positivos (Arguello 2003), posiblemente el crecimiento inicial de microorganismos aerobios en este tratamiento correspondió a los Gram negativos, donde el tratamiento nisina no tiene efecto (Frazier y Westhoff, 1985).

El análisis pudo demostrar que el tratamiento nisina y nisina-ácido láctico aplicado a salchichas tipo hot dog de Zamorano cumplió con la legislación durante todo el estudio, mientras que el testigo tuvo una vida útil microbiológica de 28 días (Cuadro 4).

Cuadro 4. Evolución de aerobios (Log_{10} ufc/g) a través del tiempo entre tratamientos aplicados post-pasteurización a salchichas hot dog marca Zamorano.

Tratamiento	Días							
	0	7	14	21	28	35	42	49
Ácido Láctico	3.1 a	4.0 a	4.5 a	4.8 a	4.9 a	4.9 a	4.7 b	5.0 a
Testigo	3.4 a	4.1 a	4.3 a	4.7 a	4.9 a	5.1 a	5.5 a	5.6 b
Nisina+Ácido Láctico	3.3 a	4.1 a	4.3 a	4.5 a	4.6 a	4.6 a	4.7 b	4.8 a
Nisina	3.1 a	3.8 a	4.5 a	4,6 a	4.7 a	4.8 a	4.9 b	4.9 a

Medias con letra diferente en la misma columna, son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Lo tratamientos presentaron un tendencia incremental en el desarrollo de colonias (Log_{10} ufc/g), este proceso es normal en todo producto alimenticio. En el estudio, los conteos de aerobios totales del testigo fueron mayores a los conteos registrados por los demás tratamientos (Figura 2). La prevaencia de un microorganismo en un alimento esta dada por una curva de crecimiento (Castillo 2002), que para el caso del testigo presentó un comportamiento lineal y no logarítmico como lo señala la literatura para la fase de crecimiento, esto posiblemente a los diversos sistemas de barreras que la muestra posee (empaqué al vacío, aditivos de cura, cocción, ahumado y cadena de frío).

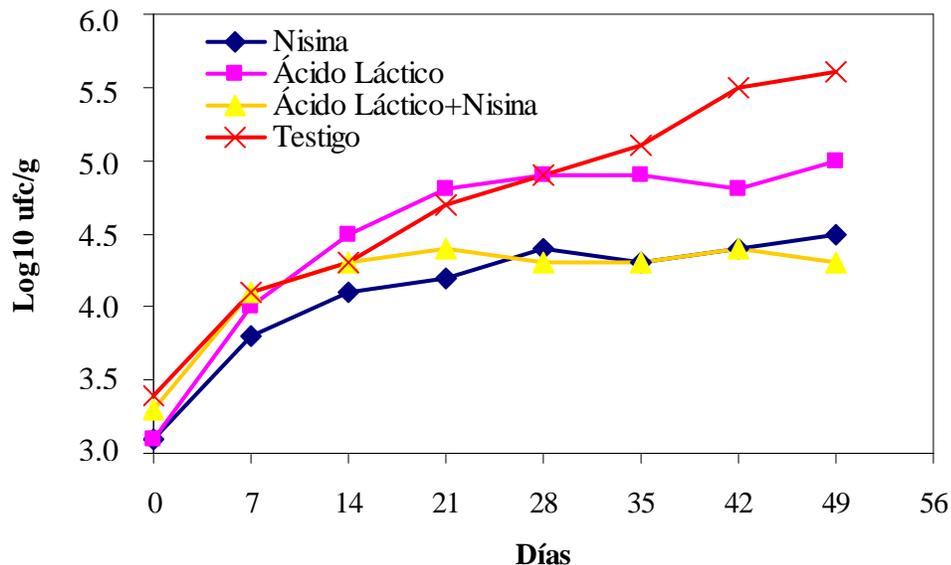


Figura 2. Comportamiento de microorganismos aerobios (log_{10} ufc/g) a través del tiempo en tratamientos aplicados post-pasteurización sobre salchichas tipo hot dog marca Zamorano.

Se analizó el tratamiento nisina individualmente cada tiempo, pudiendo identificar la cualidad de la nisina para mantener igual la carga de aerobios totales, mostrando que no existe diferencias significativas ($P>0.05$) entre los conteos registrados los días 14, 21, 28, 35, 42, y 49 (Cuadro 5). Esto permitió concluir que la nisina tuvo acción residual contra aerobios totales a través de los 49 días, mostrar su verdadero efecto conservador durante los últimos tres tiempos registrados.

La muestra aplicada con ácido láctico tuvo un crecimiento inicial de colonias los primeros tres días (Cuadro 5), comprometiendo rápidamente su carga total permitida por la ley. Aunque en días posteriores la carga se mantuvo constante estadísticamente, el tratamiento sólo logró alcanzar 49 días de vida útil.

El tratamiento nisina-ácido láctico mantuvo la carga estadísticamente igual ($P>0.05$) a través de todo el estudio, con excepción del día cero, probablemente debido al crecimiento inicial de organismos Gram negativos, a los cuales la nisina y ácido láctico a 25 ppm y a 1.25% respectivamente no pudieron controlar (Cuadro 5).

Cuadro 5. Progreso de aerobios (Log_{10} ufc/g) a través del tiempo para cada tratamiento aplicado post-pasteurización a salchichas hot dog marca Zamorano.

Día	Nisina	Ácido Láctico	Nisina-Ácido Láctico	Testigo
0	3.07 b	3.12 c	3.26 b	3.39 c
7	3.84 b	3.96 b	4.10 a	4.12 bc
14	4.11 ab	4.50 ab	4.31 a	4.32 bc
21	4.17 ab	4.77 a	4.41 a	4.74 ab
28	4.10 ab	4.90 a	4.31 a	4.87 ab
35	4.31 a	4.94 a	4.34 a	5.14 ab
42	4.37 a	4.67 a	4.38 a	5.54 a
49	4.50 a	5.00 a	4.30 a	5.57 a

Medias con letra diferente en la misma columna, son significativamente diferentes ($P<0.05$).

4.1.2 Coliformes Totales

Se tomó las mismas consideraciones que para el caso de aerobios, al momento de evaluar los conteos de coliformes totales. Los tratamientos aplicados sobre la salchichas hot dog, nisina, nisina-ácido láctico y el testigo fueron estadísticamente iguales ($P>0.05$) aunque diferentes al tratamiento ácido láctico los primeros 14 días (Cuadro 6). Los datos registrados los días 21 y 28 para los tratamientos ácido láctico y nisina-ácido láctico fueron idénticos estadísticamente. A la finalización del estudio, los conteos de coliformes no presentaron diferencias estadísticas entre los tratamientos y el testigo (Cuadro 6).

Esto nos indica que el tratamiento con ácido láctico fue un verdadero agente antagonista frente a los coliformes totales. Esto concuerda con lo encontrado por Ruiz (2005), al aplicar ácido láctico sobre canales calientes de res y cerdo, como medida preventiva para disminuir carga de coliformes totales.

Cuadro 6. Evolución de coliformes (Log_{10} ufc/g) a través del tiempo entre tratamientos aplicados post-pasteurización a salchichas hot dog marca Zamorano.

Tratamiento	Días							
	0	7	14	21	28	35	42	49
Testigo	1.4 a	1.7 a	1.8 a	1.6 a	1.4 a	1.9 a	0.9 b	1.0 a
Nisina+Ácido Láctico	1.3 a	1.2 a	1.6 a	0.9 b	1.1 b	1.9 a	0.9 b	0.7 a
Nisina	1.2 a	1.1 a	1.4 a	1.6 a	1.8 a	1.7 a	1.6 a	0.5 a
Ácido Láctico	0.7 b	0.3 b	0.7 b	0.8 b	1.0 b	1.0 b	1.1 b	1.0 a

Medias con letra diferente en la misma columna, son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Ningún tratamiento presentó una tendencia constante a través del estudio, aunque todos los tratamientos conservaron los parámetros permitidos por la ley (100 ufc/g ó 2 log_{10} ufc/g).

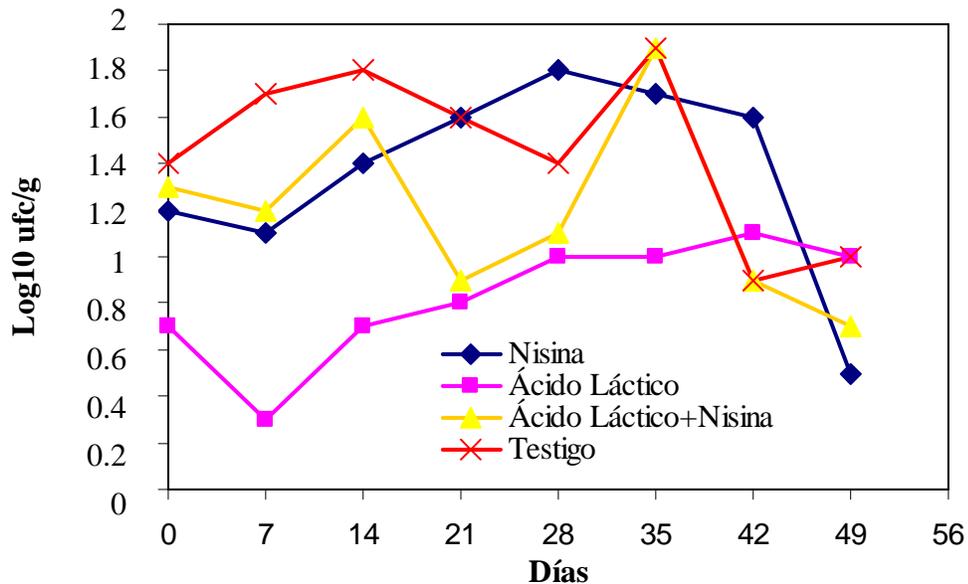


Figura 3. Comportamiento de microorganismos coliformes (log_{10} ufc/g) a través del tiempo en tratamientos aplicados post-pasteurización sobre salchichas tipo hot dog marca Zamorano.

La carga de coliformes en el tratamiento nisina para cada tiempo, fue estadísticamente similar ($P>0.05$), exceptuando el día 49. Esto último posiblemente, al eventual deterioro de las condiciones ambientales para los coliformes. Se comprobó que no hubo diferencias en los tiempos para demás tratamientos durante todo el estudio.

Cuadro 7. Progreso de coliformes (Log_{10} ufc/g) a través del tiempo para cada tratamiento aplicado post-pasteurización a salchichas hot dog marca Zamorano.

Día	Nisina	Ácido Láctico	Nisina-Ácido Láctico	Testigo
0	1.20 a	0.73 a	1.33 a	1.43 a
7	1.12 a	0.34 a	1.12 a	1.73 a
14	1.40 a	0.67 a	1.56 a	1.76 a
21	1.55 a	0.78 a	0.94 a	1.64 a
28	1.83 a	1.04 a	1.14 a	1.43 a
35	1.70 a	0.98 a	1.87 a	1.94 a
42	1.55 a	1.13 a	0.98 a	0.85 a
49	0.50 b	1.00 a	0.79 a	0.98 a

Medias con letra diferente en la misma columna, son significativamente diferentes ($P<0.05$).

4.1.3 Psicrófilos

No existen parámetros legales tanto en Ecuador como en Honduras para el recuento de estos microorganismos. Este estudio se empleó para orientar el análisis en función de la actividad metabólica de psicrófilos que pueden afectar la vida útil del producto.

Se pudo demostrar mediante la separación de medias Tukey que el testigo fue más afectado por el crecimiento microbiano, inmediatamente seguido por el ácido láctico. Estos tratamientos no presentaron diferencias significativas entre ellos ($P>0.05$) hasta el día 21, mientras que los tratamientos nisina y nisina-ácido láctico tampoco experimentaron diferencias entre ellos a través del estudio (Cuadro 8). Los tratamientos con nisina fueron diferentes estadísticamente frente a los otros (testigo y ácido láctico) en la mayoría del estudio, concluyendo entonces que la nisina es una sustancia antagonista al crecimiento de organismos psicrófilos, mucho más eficaz que el ácido láctico.

Cuadro 8. Evolución de Psicrófilos (Log_{10} ufc/g) a través del tiempo entre tratamientos aplicados post-pasteurización a Salchichas hot dog marca Zamorano.

Tratamiento	Días							
	0	7	14	21	28	35	42	49
Ácido Láctico	3.3 a	3.2 ab	3.8 a	4.3 a	5.0 b	5.3 b	5.9 b	6.4 b
Nisina	3.0 a	3.8 ab	3.4 b	3.0 b	3.2 c	2.7 c	2.5 c	3.0 c
Testigo	2.8 a	3.0 b	4.0 a	4.7 a	6.1 a	7.9 a	8.4 a	8.1 a
Nisina+Ácido Láctico	2.6 a	3.0 b	3.2 b	2.8 b	3.0 c	3.0 c	2.4 c	3.1 c

Medias con letra diferente en la misma columna, son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

El día 28 el testigo presentó un comportamiento creciente, pudiéndose registrar altos conteos. Para el día 35 el testigo ya supera 7 log_{10} de unidades formadoras de colonias psicrófilas, lo que significa para Durand (2002) una carga capaz de generar olores característicos de putrefacción en un alimento cárnico.

Los tratamientos formulados con nisina presentaron una tendencia estable a través del tiempo en el estudio. Esto corrobora el estudio realizado por Mossel y otros (2003), donde señala que la nisina es un antibiótico considerado leve sin embargo, en cantidades correctas es suficiente para disminuir y mantener la población de psicrófilos Gram positivos.

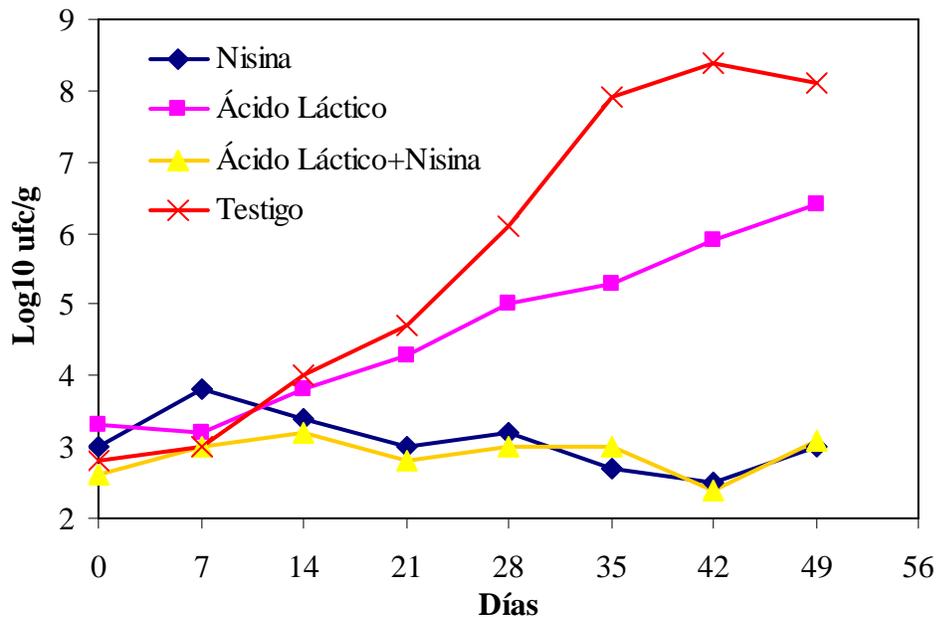


Figura 4. Comportamiento de microorganismos psicrófilos (log_{10} ufc/g) a través del tiempo en tratamientos aplicados post-pasteurización en salchichas tipo hot dog marca Zamorano.

Los tratamientos nisina y nisina-ácido láctico mantuvieron la carga de psicrófilos sin presentar cambios significativos en el tiempo ($P>0.05$), lo que ratificó la acción residual de la nisina y la estabilidad durante largos periodos de tiempo. Afirmación que fue similar a lo encontrado por Geornaras y otros (2006).

Cuadro 9. Progreso de psicrófilos (Log_{10} ufc/g) a través del tiempo para cada tratamiento aplicado post-pasteurización a Salchichas hot dog marca Zamorano.

Día	Nisina	Ácido Láctico	Nisina-Ácido Láctico	Testigo
0	3.0 a	3.3 d	2.6 a	2.8 e
7	3.8 a	3.2 d	3.0 a	3.0 de
14	3.4 a	3.8 cd	3.2 a	4.0 cd
21	3.0 a	4.3 c	2.8 a	4.7 c
28	3.2 a	5.0 bc	3.0 a	6.1 b
35	2.7 a	5.3 ab	3.0 a	7.9 ab
42	2.5 a	5.9 ab	2.4 a	8.4 a
49	3.0 a	6.4 a	3.1 a	8.1 a

Medias con letra diferente en la misma columna, son significativamente diferentes ($P<0.05$).

4.2 ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

4.2.1 Determinación del pH

El tratamiento testigo fue estadísticamente diferente a los demás tratamientos, mostrando los valores de pH más altos hasta el día 28 (Cuadro 10). La alcalinización del testigo se debe según Frazier y Westhoff (1985) a la acción proteolítica de organismos, como el género *Pseudomona*, los mismos que aprovechan alimentos con alto contenido proteico para realizar sus actividades metabólicas. A partir del día 28 el testigo experimenta un decrecimiento constante que lo lleva a ser significativamente diferente al día 49 entre los demás tratamientos (mostrando el valor más bajo). Mossel y otros (2003) explican que la acidez es un indicador del metabolismo anaerobio de organismos generadores de ácido láctico (BAL). Estos tienen una lenta adaptación por lo que su presencia no es evidenciada inmediatamente en el alimento, en este caso en el testigo.

El tratamiento ácido láctico fue estadísticamente diferente a los demás tratamientos el día 0 (Cuadro 10), esto debido al carácter ácido de la solución aplicada. Este tratamiento se comportó igual que el testigo a través del tiempo, sin embargo el día 42 el testigo experimentó un decremento en su valor mientras que el tratamiento ácido láctico creció (Cuadro 10), esto concuerda con lo dicho por Jay (1973). Él señala que el ácido láctico tiene una persistencia no constante sobre las bacterias ácido lácticas, es decir, que es capaz de controlar temporalmente el crecimiento de estas bacterias.

Cuadro 10. Evolución del pH a través del tiempo entre tratamientos aplicados post-pasteurización a salchichas hot dog marca Zamorano.

Tratamientos	Días							
	0	7	14	21	28	35	42	49
Testigo	6.00 a	5.59 a	6.02 a	6.43 a	6.61 a	5.64 b	5.83 b	4.95 c
Nisina	5.23 b	5.30 b	6.04 a	6.06 b	6.24 b	6.28 a	6.07 a	6.29 a
Nisina+Ácido Láctico	5.13 b	5.40 ab	5.46 b	5.76 c	5.89 c	6.08 a	5.39 c	5.77 b
Ácido Láctico	4.91 c	4.52 c	5.34 b	5.27 d	4.75 d	4.63 c	5.24 d	5.64 b

Medias con letra diferente en la misma columna, son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Los tratamientos formulados a base de nisina a 25 ppm, mantuvieron un comportamiento similar entre ellos a través de todo el experimento, indicándonos que no hubo suficiente crecimiento microbiológico que provoque cambios sustanciales en el pH. Sin embargo, estos tratamientos mantuvieron su tendencia a crecer a través del tiempo (Figura 5).

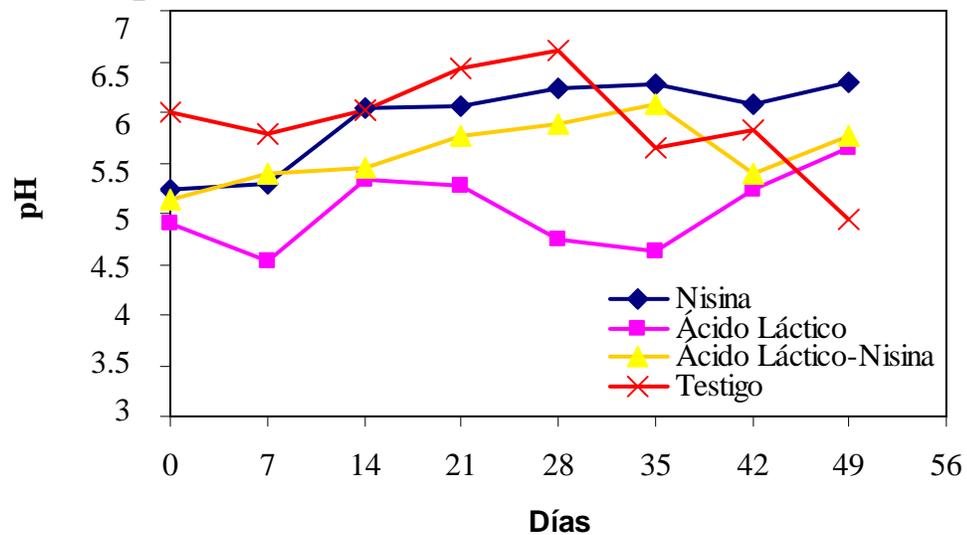


Figura 5. Comportamiento del pH a través del tiempo en tratamientos aplicados post-pasteurización en salchichas tipo hot dog marca Zamorano.

El tratamiento nisina tuvo diferentes variaciones en su pH a través del tiempo. Los días 0, 14 y 21 fueron más alcalinos que los otros días, mientras que, los días 42 y 49 fueron anotados como los más ácidos. El tratamiento testigo fue más ácido estadísticamente el

día 0 y más básico los días 14 y 42 (Cuadro 11), esto nos indica que el ácido láctico ejerció su principio de conservación (mediante acidez) más alto, los días 14 y 42. Esto posiblemente a raíz del desarrollo de microorganismos Gram Negativo.

Cuadro 11. Progreso del pH a través del tiempo para cada tratamiento aplicado post-pasteurización a Salchichas hot dog marca Zamorano.

Día	Nisina	Ácido Láctico	Nisina-Ácido Láctico	Testigo
0	6.29 a	5.64 a	5.77 b	4.95 d
7	6.07 b	5.24 b	5.39 c	5.83 cb
14	6.28 a	4.63 ed	6.08 a	5.64 c
21	6.24 a	4.75 d	5.89 ab	6.61a
28	6.06 b	5.27 b	5.76 b	6.43 a
35	6.04 b	5.34 b	5.46 c	6.02 b
42	5.30 c	4.52 e	5.40 c	5.79 c
49	5.23 c	4.91 c	5.13 d	6.00 b

Medias con letra diferente en la misma columna, son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

4.2.2 Dureza Mecánica

El análisis de variación entre los tratamientos a través del tiempo, demostró que todas las muestras con sus diferentes tratamientos experimentan una disminución en la dureza mecánica (Cuadro 12). Al inicio del estudio, el tratamiento ácido láctico tuvo un valor por debajo estadísticamente de los demás tratamientos (Cuadro 12), esto debido a la acidez del tratamiento aplicado. Durante todo el ensayo, el tratamiento nisina y nisina-ácido láctico fueron estadísticamente iguales ($P > 0.05$).

Al finalizar el ensayo, se observó que las salchichas tratadas con ácido láctico habían disminuido su dureza mecánica, es decir que fueron mas blandas que las otras salchichas tratadas con los demás tratamientos (Cuadro 12), esto a causa de la acción microbiana y la acidez inicial de la solución aplicadas, esta situación originó una sinergia entre ambos antimicrobianos y actuó directamente sobre la estructura de la salchicha, volviéndola mas vulnerable a la aplicación de fuerzas mecánica.

El emblandecimiento general de las muestras, se pudo atribuir a lo mencionado por Potter (1978), quien señala que las emulsiones cárnicas cocidas pueden sufrir daños en su estructura, debido a la generación de enzimas proteolíticas de organismos alterantes.

Cuadro 12. Evolución de la dureza mecánica (kilonewtons) a través del tiempo entre tratamientos aplicados post-pasteurización a salchichas hot dog marca Zamorano.

Tratamiento	Días			
	0	7	14	21
Nisina	0.0222 a	0.0198 a	0.0175 a	0.0108 a
Nisina+Ácido Láctico	0.0212 ab	0.0194 a	0.0168 ab	0.0108 a
Testigo	0.0205 b	0.0182 ab	0.0160 ab	0.0103 a
Ácido Láctico	0.0190 c	0.0172 b	0.0145 b	0.0117 a

Tratamiento	Días			
	28	35	42	49
Nisina	0.0099 a	0.0090 a	0.0074 ab	0.0067 a
Nisina+Ácido Láctico	0.0093 a	0.0080 a	0.0067 b	0.0051 b
Testigo	0.0099 a	0.0086 a	0.0081 a	0.0066 a
Ácido Láctico	0.0096 a	0.0073 a	0.0053 c	0.0043 c

Medias con letra diferente en la misma columna, son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

La dispersión de medias (dureza mecánica) para cada tratamiento evidencia la tendencia de las muestras por disminuir su resistencia a la presión mecánica a través del tiempo (Figura 6). Según Durand (2002), la textura de un embutido disminuye al pasar los días, ya que las fuerzas de atracción de Van Der Waals de las emulsiones son alteradas en presencia de ácidos orgánicos (como el ácido láctico), capaces de afectar la estructura de la emulsión y volverla más vulnerable a la presión mecánica. La pendiente del tratamiento ácido láctico se mantiene constante durante el experimento. Por otro lado, los tratamientos testigo, nisina y nisina-ácido láctico muestran un decrecimiento acelerado durante el día 14 y 21, esto probablemente a la aparición de organismos acidófilos.

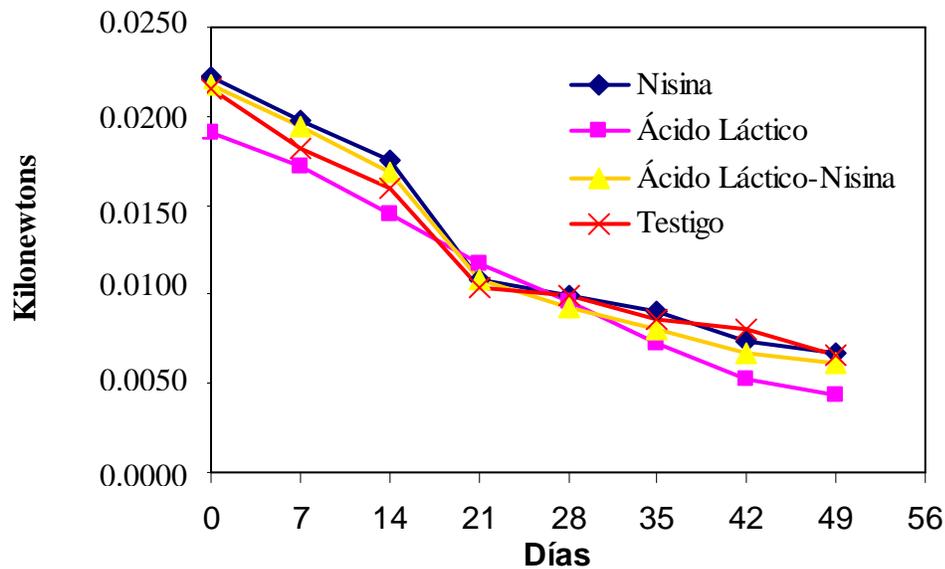


Figura 6. Comportamiento de la dureza mecánica a través del tiempo en tratamientos aplicados post-pasteurización en salchichas tipo hot dog marca Zamorano.

Los tratamientos independientes, variaron significativamente a través del tiempo. Según la separación de medias Tukey por tratamiento a través del tiempo, el ácido láctico presentó mas valores de diferenciación (a,b,c,d,e,f), demostrando que sufrió más alteraciones en la dureza mecánica que los demás tratamientos (Cuadro 13).

Cuadro 13. Progreso de la dureza mecánica (kilonewtons) a través del tiempo para cada tratamiento aplicado post-pasteurización a Salchichas hot dog marca Zamorano.

Día	Nisina	Ácido Láctico	Nisina-Ácido Láctico	Testigo
0	0.0222 a	0.0190 a	0.0217 a	0.0215 a
7	0.0198 ab	0.0172 a	0.0194 b	0.0182 b
14	0.0175 b	0.0145 b	0.0168 b	0.0160 b
21	0.0108 c	0.0117 c	0.0108 c	0.0103 c
28	0.0099 cd	0.0096 cd	0.0093 c	0.0099 c
35	0.0090 cd	0.0072 de	0.0080 cd	0.0086 cd
42	0.0074 d	0.0053 ef	0.0057 d	0.0081 cd
49	0.0067 d	0.0043 f	0.0055 d	0.0066 d

Medias con letra diferente en la misma columna, son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

4.2.3 Color

El color fue determinado en una escala de valores L^* y a^* . El valor L^* define la tonalidad del alimento, el valor a^* precisa escalarmente en valor positivo el color rojo y en valor negativo el color verde. El valor b^* , de la misma forma, muestra en valor positivo el color amarillo y en negativo el azul. Esta escala de Color esta definida en un espacio tridimensional, siendo la coordenada X el valor a^* , la coordenada Y el valor L^* y la coordenada Z el valor b^* . El ultimo valor (valor b^*) no se consideró en el análisis, debido a que los colores que este representan no se encuentran fácilmente perceptible en el producto.

4.2.3.1 Valor L^*

La variación de este valor proviene de un rango entre 0 (negro) y 100 (blanco). El valor L^* se mantuvo constante durante el estudio hasta el día 14, donde los datos obtenidos en el Colorflex y procesados en el programa SAS, no mostraron diferencias significativas ($P>0.05$). A partir de los valores registrados en el día 28, sí hubo diferencias significativas entre los tratamientos (Cuadro 14). La separación de medias Tukey mostró que el tratamiento testigo es completamente diferente a los demás tratamientos a partir del día 35 y mantuvo esa tendencia hasta el día 49. Esto reveló que la muestra testigo incremento su valor L mucho más a partir del día 35, en relación a los demás tratamientos, concluyendo entonces que el testigo adquirió una tonalidad mas luminosa, que los demás tratamientos. Pérez y Andujar (2000) encontraron que la luminosidad incrementa en los productos curados y embutidos, debido a la presencia de ácidos provenientes de la respiración anaeróbica de los microorganismos.

Cuadro 14. Evolución del valor L^* a través del tiempo entre tratamientos aplicados post-pasteurización a Salchichas hot dog marca Zamorano.

Tratamiento	Días							
	0	7	14	21	28	35	42	49
Ácido Láctico	31.4 a	33.7 a	35.4 a	37.0 a	38.7 a	40.2 b	42.6 b	43.8 b
Nisina	30.5 a	31.1 a	34.4 a	36.7 a	37.6 a	38.1 bc	39.4 c	40.2 c
Nisina+Ácido Láctico	30.4 a	32.1 a	33.7 a	36.5 a	36.0 b	37.1 c	38.3 c	38.7 c
Testigo	30.2 a	32.3 a	34.8 a	36.4 a	38.6 a	44.8 a	45.4 a	47.1 a

Medias con letra diferente en la misma columna, son significativamente diferentes ($P<0.05$).

El valor L^* en todos los tratamientos evidenció una incremento. La tendencia fue igual para todas las muestras hasta el día 28, donde el testigo experimentó un crecimiento acelerado, esto posiblemente se debe a lo mencionado por Núñez (2000), él cual señala

que la pérdida de claridad en los embutidos se debe a la presencia de reacciones bioquímicas causadas por varios microorganismos, afectando directamente a los nitritos formados (Figura 7).

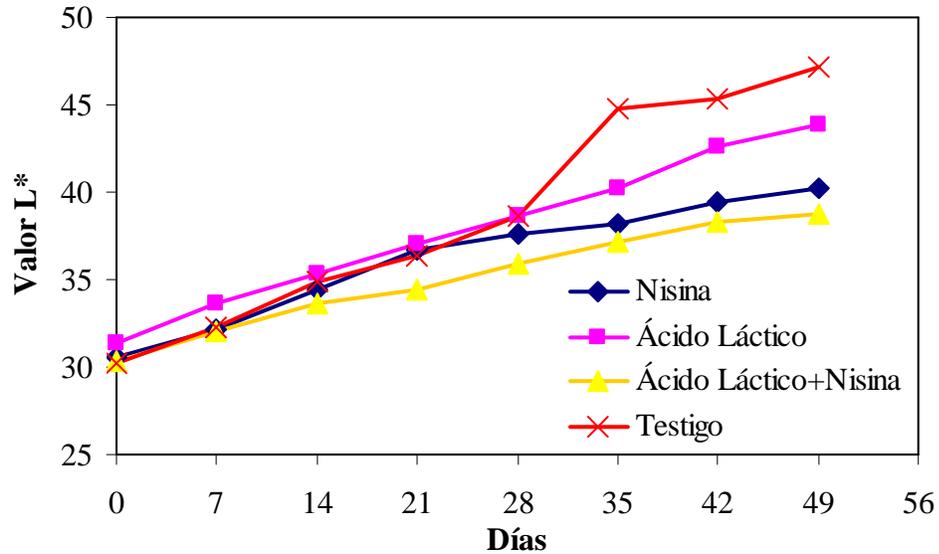


Figura 7. Comportamiento del valor L* en tratamientos aplicados post-pasteurización en salchichas tipo hot dog marca Zamorano a través del tiempo.

El valor L* de cada tratamiento individual fue diferente en el tiempo (Cuadro 15). El tratamiento nisina-ácido láctico mantuvo el valor L* durante el estudio. Esto se evidencia en que estadísticamente del día 0 al día 49 se observaron 4 letras de separación Tukey (Cuadro 15), mientras que en los demás tratamientos se obtuvieron 5 letras. Esto respaldó la capacidad que tiene este tratamiento a oponerse a los factores descomponedores que deterioran la apariencia, en este caso la luminosidad de la salchicha hot dog marca Zamorano.

Cuadro 15. Progreso del valor L* a través del tiempo para cada tratamiento aplicado post-pasteurización a salchichas hot dog marca Zamorano.

Día	Nisina	Ácido Láctico	Nisina-Ácido Láctico	Testigo
0	30.51 e	31.43 e	30.42 d	30.16 e
7	31.14 de	33.72 e	32.13 d	32.26 ed
14	34.43 cd	35.39 de	33.72 cd	34.82 cd
21	36.73 bc	37.02 cd	36.47 cd	36.41 bc
28	37.64 bc	38.68 bc	35.96 bc	38.62 b
35	38.12 ab	40.17 ab	37.08 ab	44.79 a
42	39.41 a	42.56 ab	38.29 a	45.39 a
49	40.23 a	43.83 a	38.74 a	47.12 a

Medias con letra diferente en la misma columna, son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

4.2.3.2 Valor a*

Su rango máximo y mínimo en una escala numeral es de +60 a -60 respectivamente. En productos curados, la presencia de sales curantes y nitrificantes, determinan un color característico rosa sobre las muestras, pudiendo ser determinado por el valor a*.

Las muestras de salchichas hot dog marca Zamorano presentaron una disminución en el valor a*, posiblemente a consecuencia del incremento microbiano (formación de peróxidos), reacciones de oxidación y exceso de nitritos, originando un enverdesimiento en el embutido, similar a lo encontrado por Pérez y Andujar (2000). A partir del día 35, se presentó diferencias estadísticas significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos (Cuadro 6).

Cuadro 16. Evolución del color, en valor a* para salchichas tipo Hot Dog de Zamorano con diferentes tratamientos a través del tiempo.

Tratamiento	Días							
	0	7	14	21	28	35	42	49
Ácido Láctico	15.0 a	13.6 a	12.3 a	11.3 a	10.8 a	9.7 ab	8.9 ab	7.3 a
Nisina+Ácido Láctico	14.0 a	13.4 a	12.3 a	12.1 a	12.0 a	10.9 a	10.0 a	9.2 a
Testigo	13.8 a	12.9 a	11.8 a	11.0 a	10.4 a	8.7 b	7.8 b	6.9 a
Nisina	13.7 a	13.2 a	11.8 a	10.9 a	10.7 a	9.5 ab	8.5 ab	8.6 a

Medias con letra diferente en la misma columna, son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

La tendencia decreciente del valor a^* prevaleció durante el estudio en todos los tratamientos. El tratamiento nisina-ácido láctico, se distinguió linealmente a partir del día 21, no volviendo a interactuar con la línea de otro tratamiento hasta finalizar el experimento (Figura 8).

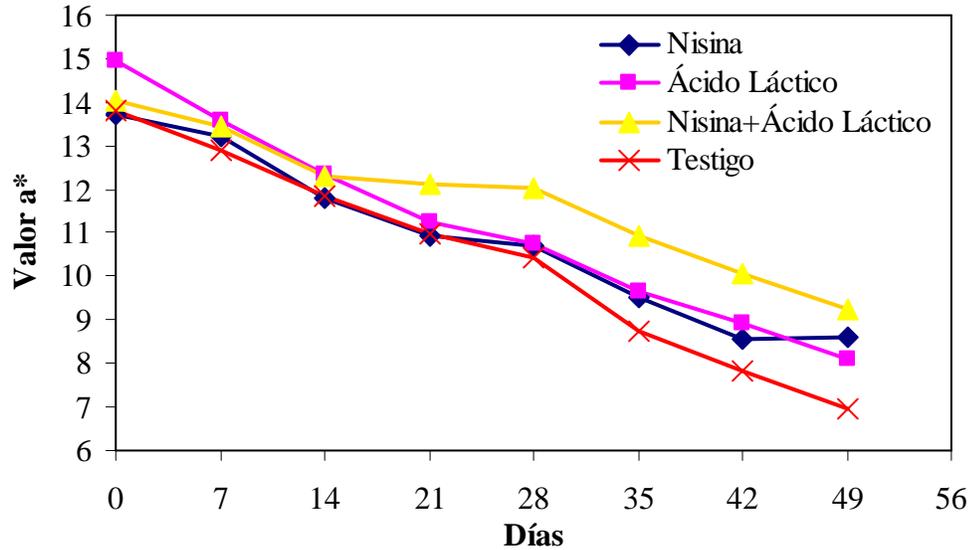


Figura 8. Comportamiento del valor a^* en tratamientos aplicados post-pasteurización en salchichas tipo hot dog marca Zamorano a través del tiempo.

El valor a^* fue variable en cada tratamiento durante cada tiempo (Cuadro 17). Por ejemplo, el efecto de la nisina a oponerse al enverdecimiento del producto fue igual estadísticamente los días 0 y 7, de igual forma los días 14, 21, 35 42 y 49.

Cuadro 17. Progreso del valor a^* a través del tiempo para cada tratamiento aplicado post-pasteurización a Salchichas hot dog marca Zamorano.

Día	Nisina	Ácido Láctico	Nisina-Ácido Láctico	Testigo
0	8.55 c	7.35 f	9.24 d	6.94 e
7	8.59 c	8.92 ef	10.07 d	7.81 de
14	9.54 bc	9.67 de	10.91 cd	8.74 d
21	10.71 abc	10.77 cde	12.01 bc	10.44 c
28	10.91 abc	11.27 cd	12.10 bc	11.00 c
35	11.81 ab	12.34 bc	12.30 bc	11.84 bc
42	13.21 a	13.59 ab	13.43 ab	12.89 ab
49	13.71 a	14.97 a	14.03 a	13.83 a

Medias con letra diferente en la misma columna, son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

4.3 ANÁLISIS SENSORIAL DE ACEPTACIÓN

Para efectos de seguridad en los panelistas que participaron en la catación del producto, se tomó en cuenta los datos microbiológicos de Aerobios y Coliformes previo al desarrollo del panel, para ratificar la aceptabilidad de las muestras dentro de lo estipulado por la ley ecuatoriana como un producto seguro. Por lo tanto, las muestras aplicadas con los tratamientos de ácido láctico, nisina y Nisina+ácido láctico, se realizaron durante todo el estudio, es decir los días cero, siete, catorce, veintiuno, veintiocho, treinta y cinco, cuarenta y dos y cuarenta y nueve, mientras que la muestra testigo, solo fue evaluada hasta el día 28 (5 tiempos). El análisis consistió en describir la aceptación de los panelistas ante las muestras tratadas. Se incluyó las variables: Apariencia, Color, Olor, Sabor y Textura. Se empleó la ayuda de 9 panelistas (no entrenados), que colaboraron durante la realización de todo el estudio.

No existieron diferencias significativas ($P>0.05$) entre los cuatro tratamientos evaluados por los panelistas hasta el día 28 en las variables Color, Sabor y Apariencia. Así mismo no se registró diferencias estadísticas en los cinco tiempos para cada tratamiento independiente.

Cuadro 18. Valoración de características sensoriales entre tratamientos de salchichas tipo hot dog de Zamorano 28 días después de haber aplicado los antimicrobianos.

Tratamientos	Características Sensoriales*		
	Color	Sabor	Apariencia
Nisina	3.7 a	3.8 a	3,1 a
Ácido Láctico	3.6 a	3.8 a	3,2 a
Nisina+Ácido Láctico	3.5 a	3.8 a	3,2 a
Testigo	3.4 a	3.7 a	3,2 a

Medias en cada columna con la misma letra no fueron estadísticamente diferentes ($P>0.05$).

*Valorados en escala hedónica de preferencias (1= deficiente y 5 = Excelente).

Una vez que el estudio alcanzó el día 35, la muestra testigo fue separada de los análisis, pero se prosiguió con los demás tratamientos, los cuales todavía cumplían los parámetros de legislación microbiológicos (Cuadro 18). No existieron diferencias significativas ($P>0.05$) en el estudio sensorial para las variables color, sabor y apariencia a través del tiempo en los tratamientos (Cuadro 9), es decir, los panelistas no evidenciaron cambios entre los tres tratamientos para las variables antes mencionadas. Tampoco Existió diferencias significativas ($P>0.05$) entre los nueve tiempos para cada tratamiento individual.

La acidez que impregnaron los tratamientos aplicados a las muestras, y la actividad microbiana, no afectó el Sabor de las salchichas hot dog Zamorano durante los 49 días de estudio. Sobre la Apariencia los panelistas indicaron que no existió diferencias significativas entre los tratamientos a través de los 49 días del ensayo ($P < 0.05$). Lo que supone que la calidad percibida por los integrantes del panel en relación a las muestras, es la misma para los tres tratamientos evaluados.

Cuadro 19. Valoración de características sensoriales entre tratamientos de salchichas tipo Hot Dog de Zamorano 49 días después de haber aplicado los antimicrobianos.

Tratamientos	Características Sensoriales*		
	Color	Sabor	Apariencia
Nisina	3.4 a	3.3 a	2.9 a
Ácido Láctico	3.2 a	3.0 a	3.0 a
Nisina+Ácido Láctico	3.4 a	3.2 a	2.8 a

Medias en cada columna con la misma letra no fueron estadísticamente diferentes ($P > 0.05$).

*Valorados en escala hedónica de preferencias (1= deficiente y 5 = Excelente).

Para las variables Textura y Olor, se realizó un análisis individual de tiempo a través del estudio, esto debido a que sí hubo interacción entre los tratamientos a través de cada tiempo. Los panelistas no detectaron diferencias significativas ($P > 0.05$) de textura en las muestras de salchichas hasta el día 14, los datos recopilados a partir del día 21 evidencian diferencias significativas entre los tratamientos, como se muestra en la (Cuadro 20). Al final del estudio el tratamiento con ácido láctico fue el menos valorado (escala hedónica) por lo panelistas, esto probablemente a la incidencia que tubo el pH de la solución aplicada.

Cuadro 20. Valoración de textura a través del tiempo entre tratamientos aplicados post-pasteurización a salchichas hot dog marca Zamorano.

Tratamiento	Días							
	0	7	14	21	28	35	42	49
Ácido Láctico	3.3 a	3.0 a	3.2 a	2.3 b	2.4 c	2.9 a	2.3 b	2.1 b
Nisina+Ácido Láctico	3.2 a	3.6 a	3.7 a	3.2 ab	2.6 bc	3.2 a	3.3 a	3.3 a
Testigo	4.3 a	3.7 a	3.8 a	3.6 a	3.6 ab	—	—	—
Nisina	3.6 a	3.7 a	3.3 a	2.7 ab	3.8 a	3.2 a	3.1 a	3.0 a

Medias con letra diferente en la misma columna, son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

Los panelistas no encontraron diferencias significativas en Olor durante los primeros 21 días (Cuadro 21). El día 28 los tratamientos nisina y nisina-ácido láctico fueron estadísticamente diferentes ($P < 0.05$) a los tratamientos ácido láctico y testigo, estos últimos evidenciando posiblemente el inicio de su descomposición. Después del día 28 (sin testigo), los panelistas valoraron de manera similar a los tratamientos nisina y nisina-ácido láctico. Es decir que en los días 35, 42 y 49 calificaron con menor puntaje el Olor proveniente de las muestras con ácido láctico aplicado. De acuerdo a Sancho y otros (2002), los olores generados por la descomposición de productos cárnicos, se deben a reacciones bioquímicas. En el caso de salchichas empacadas al vacío, según Guil (2001), son afectadas por la presencia de organismos generadores de CO_2 , y puede ser detectado fácilmente por el consumidor. Por otro lado Jay (1973), acusa a la Reacción de Maillard de crear sustancias volátiles por degradación (reacciones de azúcares reductores con aminoácidos, degradación térmica de compuestos de Amadori, pirólisis de aminoácidos y reacciones de amoníaco con compuestos α -dicarbonilos). Estos factores pudieron afectar la apreciación olfativa de los panelistas, castigando el tratamiento con ácido láctico el día 49 y 28, y al testigo el día 28.

Cuadro 21. Valoración del Olor a través del tiempo entre tratamientos aplicados post-pasteurización a Salchichas hot dog marca Zamorano.

Tratamiento	Días							
	0	7	14	21	28	35	42	49
Ácido Láctico	3.2 a	3.3 a	2.9 a	3.0 a	2.4 b	2.2 b	2.3 b	2.1 b
Nisina+Ácido Láctico	3.3 a	3.2 a	3.2 a	2.8 a	3.0 a	3.2 a	3.0 a	3.0 a
Testigo	3.4 a	3.1 a	2.7 a	2.7 a	2.2 b	—	—	—
Nisina	3.4 a	3.3 a	3.1 a	3.2 a	3.2 a	3.2 a	3.2 a	2.8 a

Medias con letra diferente en la misma columna, son significativamente diferentes ($P < 0.05$).

5. CONCLUSIONES

Los tratamientos a base de nisina a 25 ppm (tratamiento Nisina y tratamiento Nisina+Ácido Láctico) alcanzaron una vida útil por lo menos de 49 días, el tratamiento con Ácido Láctico 49 días y el testigo por lo menos de 28 días pero menor de 35 días.

Los tratamientos con nisina a 25 ppm controlaron eficazmente el crecimiento de microorganismos psicrófilos y aerobios, pero no coliformes.

El tratamiento de ácido láctico, en salchichas hot dog Zamorano, fue capaz de reducir y controlar la carga de coliformes.

Todas las variables estudiadas experimentaron diferencias significativas en el tiempo, excepto las sensoriales: sabor, color y apariencia.

6. RECOMENDACIONES

Realizar un estudio de diferentes niveles de Nisina para encontrar la cantidad mínima necesaria para lograr su función preservante.

Realizar un estudio de costos para la aplicación post-pasteurización de una solución de Nisina más Ácido Láctico a los embutidos cocidos en la Planta de Cárnicos Zamorano.

Realizar un estudio mas minucioso de la parte microbiológica, utilizando medios de cultivos específicos para determinar el genero de bacterias que puede estar incidiendo mayormente en la vida útil de la salchicha tipo hot dog marca Zamorano.

Determinar un estudio similar, aplicando los tratamientos con nisina, directo a la formulación de salchicha tipo hot dog marca Zamorano y correlacionar con el presente estudio.

7. BIBLIOGRAFÍA

APHA (American Public Health Association). Compendium of methods for the microbiological examination of foods. Washington, D.C., 1976.

AOAC (Association of Official Analytical Chemistry). 1997. Methods of Analysis of the AOAC International. 3 ed. Volumen II, Maryland.

Agüeria, D.; Grosman, F.; Tabera, A.; Sanzano, P.; Porta, R. 2004. Valoración de la calidad de carne de Pejerrey *Odontesthes bonariensis* (en línea). *Revista AquaTIC*, N° 20. Consultado el 2 de octubre de 2006. Disponible en: <http://www.revistaaquatic.com/aquatic/art.asp?t=p&c=182>

Arguello, A. 2005. Determinación de microorganismos aerobios. 3 ed. Pifo, Ecuador. Pronaca-Embutidos. 5 p.

Arguello, A. 2005. Preparación de Nisina. 7 ed. Pifo, Ecuador. Pronaca-Embutidos. 12 p.

Castillo

Cousin, M.; Jay, J.; Vasavada, P. 1992. Psychrotrophic microorganisms. In Compendium of methods for the microbiological examination of foods. 3 ed. C. Vanderzant; F. Splittstoesser.. Washington, DC. APHA. 168. p.

Delves, N.; Broughton, J. 1990. Nisin and its uses as a food preservative. *J. Food Science*. 11(1990) 100-117.

Durand, P. 2002. Tecnología de los Productos de Charcutería y Salazones. Zaragoza, España: ACRIBIA. 556 p.

Frazier, W.; Westhoff, D. 1985 Microbiología de los Alimentos. 3 ed. Zaragoza España: Acribia SA. 712 p.

García, J. 2006. Aditivos Alimentarios (en línea). Aula Cibernética Internacional. México. Consultado: 4 de octubre de 2006. Disponible en: http://www.cibernetica.com/tesis_es_/CIENCIAS_TECNOLOGICAS/TECNOLOGIA_DE_LOS_ALIMENTOS/ADITIVOS_ALIMENTARIOS_/3

Geornaras, I.; Skandamis, P.; Belk, K.; Scanga, J.; Kendall, P.; Smith, G.; Sofos, J. 2006. Post-processing application of chemical solutions for control of *Listeria monocytogenes*, cultured under different conditions, on commercial smoked sausage formulated with and without potassium lactate sodium diacetate. *J. Food Microbiology*. 23 (2006) 762–771.

- Gross, E.; Morell, J. 1971. The structure of nisin. Estados Unidos. J. American Chemistry Society 93. 463 p.
- Guil J. 2002. Bioquímica y tecnología de la carne. Almería, España. 176 p.
- Hansen, J. 1994. Nisin as a model food preservative. J. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 34 64-93.
- INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 1985. Carnes y Productos Cárnicos; Determinación del pH. 5 ed. INEN NTE 0783:85 Ecuador. 7 p.
- INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 1996. Carnes y Productos Cárnicos; Jamón Requisitos. 4 ed. INEN NTE 1339:96. Ecuador. 6 p.
- INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 1996. Carnes y Productos Cárnicos; Chorizo Requisitos. 6 ed. INEN NTE 1344:96. Ecuador. 8 p.
- INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 1996. Carnes y Productos Cárnicos; Mortadela Requisitos. 6 ed. INEN NTE 1340:96. Ecuador. 8 p.
- INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 1996. Carnes y Productos Cárnicos; Salchichas Requisitos. 6 ed. INEN NTE 1338:96. Ecuador. 8 p.
- INEN (Instituto Ecuatoriano de Normalización). 1996. Carnes y Productos Cárnicos; Tocino Requisitos. 6 ed. INEN NTE 1342:96. Ecuador. 8 p.
- Pico, D. 2004. Panel sensorial descriptivo. 5 ed. Pifo-Ecuador. Pronaca Embutidos 14 p.
- Jay, J. 1973. Microbiología moderna de los alimentos. Zaragoza, España: Acribia. 319 p.
- Lück, E.; Jager, M. 2000. Conservación química de los alimentos. 2 ed. Zaragoza, España. Acribia. 324 p.
- Mossel, B.; Moreno, C.; Struijk, B. 2003. Microbiología de los Alimentos. 2 ed. Zaragoza, España. 703 p.
- Núñez, A.; Cayré, M.; Castro, P.; Garro, O.; 2000. Efectividad y modo de acción de nisina sobre *Lactobacillus fructivorans* (en línea). Universidad Nacional del Noreste, Argentina. Consultado el 6 de octubre de 2006. Disponible en: www.unne.edu.ar/cyt/2002/08-Exactas/E-004.pdf
- Pérez, M.; Andujar, C. 2000. Cambios de coloración de los productos cárnicos. Rev Cubana Aliment. Nutr. 2000; 14(2):114-23
- Potter, N. 1978. La ciencia de los alimentos. México D.F. México. Harla. 749 p.

Price, J.; Schweigert, B. 1976 Ciencia de la carne y de los productos cárnicos. Zaragoza España. Acribia. 668 p

Rodríguez, J. 2005. El uso de lactatos en el control de productos cárnicos (en línea). Consultado el 25 de agosto de 2006. Disponible en: <http://www.consumaseguridad.com/web/es/investigacion/2005/09/07/19918.php>

Ruiz, A. 2005. Evaluación de las propiedades antimicrobianas de PronTech® (alquil dimetil bencil amonio clorado) y ácido láctico en canales y carne fresca de res y cerdo. Zamorano, Honduras. Zamorano. 43 p

Sancho, J., Bota, E.; De Castro, J. 2002. Análisis Sensorial de los Alimentos. México D.F México: Alfaomega. 336 p.

8. ANEXOS

Anexo 1. Análisis de costos variables de aditivos

Nisina

La nisina, utilizada en el estudio (Nisaplin™), es un producto no muy popular en la industria latinoamericana. Nisaplin™ es un aditivo que generalmente se importa desde Europa.

Las principales empresas que producen este aditivo son Christian Hansen, Danisco, DSM, entre otras. A continuación se detalla un cuadro de costos unitarios (variable) tentativos para la implementación de este proceso en la Planta de Procesamiento de Carnes de Zamorano.

Costo Unitario para preparar 1 litro de solución utilizado en el estudio (precios dados en dólares americanos).

Marcas	Nombres Comerciales*	Cantidad	Precio FOB Toncontin	Dosis empleada**	\$ Costo Unitario por litro***
DSM	DelvoPlus™	1 kg.	485.00 USD	0.48 g/l	0.23
Christian Hansen	Chris-Nisin™	1 kg.	420.00 USD	0.48 g/l	0.20
Danisco	Nisaplin™	1 kg.	475.00 USD	0.48 g/l	0.23

* Todos estos productos comerciales tienen la misma concentración de Nisina .

** Dosis empleada en el estudio.

*** No se incluye el costo por Agua.

Si la industrialización de este proceso se llevase a cabo, entonces es necesario estimar el costo de adquisición por un tanque para agua de acero inoxidable, el mismo que trabajaría con un sistema de nebulización o aspersión, para rociar la solución en forma de duchado sobre las salchichas que hayan sido cocinadas.

En Pronaca-Embutidos (Pifo-Ecuador), existe un tanque con el sistema antes mencionado con capacidad para 40.9 litros de agua, cantidad suficiente para procesara 18 toneladas de salchicha (sometidas a este tratamiento) a la semana. El tanque es llenado dos veces al día.

Ácido Láctico

El ácido láctico es un producto ampliamente difundido, por lo que su adquisición y precio, son accesibles.

A continuación se detalla el costo unitario diario para la elaboración de salchichas tipo hot dog, si la Planta de Procesamiento Carnes en Zamorano, decidiese implementar el sistema.

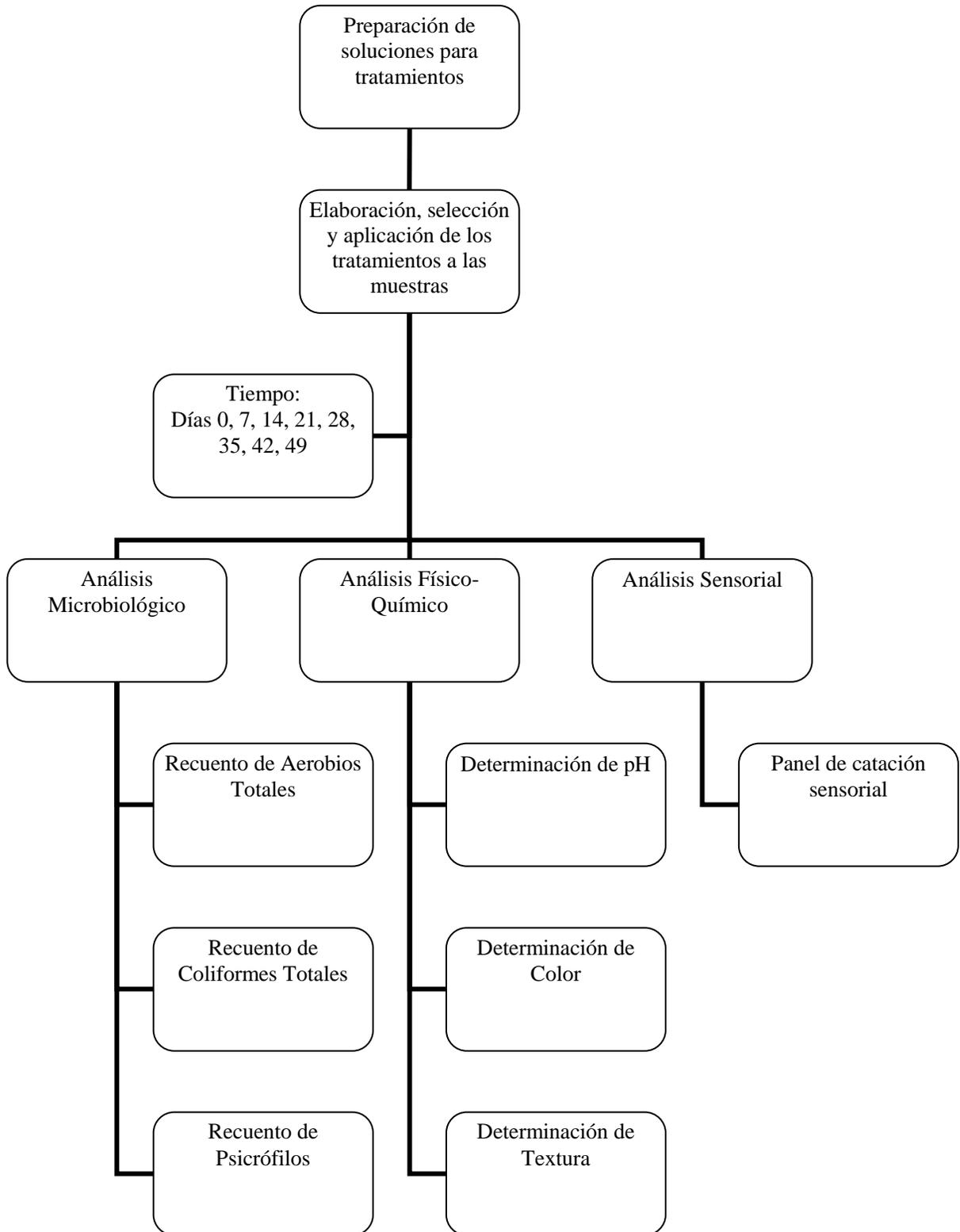
Costo Unitario para preparar 1 litro de solución utilizado en el estudio (precios dados en dólares americanos).

Nombres Comerciales	Cantidad	Precio	Dosis empleada	Costo Unitario pro litro**
Ácido Láctico PURAC FCC 88	1 l.	1.71 USD	2.3 ml*	0.0039

* Dosis empleada en el Estudio.

** No incluye el costo por Agua.

De la misma forma que para la nisina se utilizaría un tanque y un sistema de aspersion para realizar el duchado del producto previo al empaque y después de la cocción.

Anexo 2. Esquema de procedimientos realizados en el estudio.

Anexo 3. Hoja de Evaluación Sensorial

Escuela Agrícola Panamericana
Carrera de Agroindustria Alimentaria

Nombre _____ Fecha _____

Instrucciones

A continuación se presenta una serie de características sensoriales aplicadas para Salchicha tipo Hot Dog de marca Zamorano. En una escala de preferencias estipuladas para cada característica seleccione lo que usted considere prudente.

Para la degustación de cada muestra, es necesario neutralizar el paladar. La manera más adecuada de realizar este proceso es bebiendo un sorbo de agua y sirviéndose una pequeña porción de galletas de Soda, previo a la cata de cada muestra.

Por Favor califique las siguientes características entre las muestras que a continuación se presentan: 392, 189, 986 del 1 al 5 (1= deficiente y 5 = Excelente), si es necesario complete la información adicional mostrada en la parte inferior.

CARACTERÍSTICAS	392	189	569	986
Sabor	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
Olor	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
Textura	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5
Apariencia	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5	1 2 3 4 5

Comentario Adicional
