

Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Departamento de Agroindustria Alimentaria
Ingeniería en Agroindustria Alimentaria



Proyecto Especial de Graduación
**Validación de ácidos orgánicos como tratamiento antimicrobiano en la
conservación de canales de ave**

Estudiante

Ronny Manuel Barrera Guamán

Asesores

Mayra Márquez González, Ph.D.

Yordan Martinez Aguilar, D.Sc.

Honduras, julio 2021

Autoridades

TANYA MÜLLER GARCÍA

Rectora

ANA M. MAIER ACOSTA

Vicepresidenta y Decana académica

ADELA M. ACOSTA MARCHETTI

Directora Departamento de Agroindustria Alimentaria

HUGO ZAVALA MEMBREÑO

Secretario General

Contenido

Índice de Cuadros.....	5
Índice de Figura.....	6
Índice de Anexos.....	7
Resumen	8
Abstract.....	9
Introducción.....	10
Materiales y Métodos.....	13
Ubicación del Estudio.....	13
Evaluación del Efecto de los Ácidos Orgánicos en los Recuentos Microbiológicos de los Enjuagues de las Canales de Pollo.....	13
Preparación del Hielo Funcional	13
Diseño Experimental.....	14
Preparación de Muestras.....	14
Análisis Microbiológicos.....	15
Análisis de pH.....	16
Análisis Estadístico Recuentos Microbiológicos y pH	16
Evaluación del Cumplimiento de los Criterios Microbiológicos del RTCA y de la SENASA Para Canales de Pollo en los Procesos del Centro de Investigación y Enseñanza Avícola	16
Análisis de Salmonella.....	17
Análisis de E. coli.....	17
Resultados y Discusión.....	18

Evaluación del Efecto de los Ácidos Orgánicos en los Recuentos Microbiológicos de los Enjuagues de las Canales de Pollo.....	18
Análisis de pH.....	21
Evaluación del Cumplimiento de los Criterios Microbiológicos del RTCA y de la SENASA Para Canales de Pollo en los Procesos del Centro de Investigación y Enseñanza Avícola	23
Conclusiones	26
Recomendaciones.....	27
Referencias.....	28
Anexos.....	32

Índice de Cuadros

Cuadro 1 Recuento de grupos indicadores (Log UFC/ml) en canales de pollo con diferentes tratamientos posteriores a la evisceración y cosecha	19
Cuadro 2 Evaluación de pH de las canales a 0 horas y 24 horas después de haber estado en contacto con los hielos.....	22
Cuadro 3 Recuentos microbiológicos de los enjuagues a las 0 horas, primera repetición	23
Cuadro 4 Recuentos microbiológicos de los enjuagues a las 0 horas, segunda repetición.....	23

Índice de Figura

Figura 1 Diagrama de Flujo de Proceso de las Canales de Ave.....	15
---	----

Índice de Anexos

Anexo A <i>Resumen de ANDEVA de los análisis microbiológicos</i>	32
Anexo B <i>Efecto de los tratamientos y control después de las 24 horas con respecto a las cero horas</i>	33

Resumen

La producción avícola es sin duda la más rentable en la región Latinoamericana. Esto impulsa a muchos productores de pequeña escala a dedicarse a este rubro. Sin embargo, no todos cuentan con la capacidad de asegurar la inocuidad de su producción. Es por ello que, la presente investigación se centró en la evaluación de los efectos de hielos funcionales con ácido acético (1%) y el ácido peracético (0.02%) en los recuentos microbiológicos de las canales de ave. Además, se evaluó el cumplimiento de los criterios microbiológicos del Reglamento Técnico Centro Americano (RTCA) y la Secretaría de Agricultura y Ganadería a través del Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria (SENASA) para carne avícola. Se analizaron 40 muestras de pollo que fueron recolectadas en dos días diferentes. Fueron evaluados antes y después de 24 horas en contacto con los hielos de ácidos orgánicos. Se realizaron recuentos microbiológicos de coliformes totales (CT), *E. coli* (EC), enterobacterias (ENT) y bacterias mesófilas aerobias (BMA). Los ácidos orgánicos tuvieron un efecto reductor en *E. coli* y coliformes totales. Los recuentos de *E. coli* y la ausencia de *Salmonella* se encontraron dentro de los parámetros del RTCA de 2018. Por lo tanto, se puede inferir que en el Centro de Investigación y Enseñanza Avícola (CIEAZ) se cumple con los requisitos establecidos por el RTCA. Se recomienda establecer un proceso y verificación de cumplimiento de los procesos de sacrificio de pollos, además, analizar la vida útil del producto en cada hielo.

Palabras clave: Criterios microbiológicos, hielo funcional, industria avícola.

Abstract

Poultry production is undoubtedly the most profitable in the Latin American region. This prompts many small-scale producers to work on this field. However, not all of them have the capacity to ensure the safety of their production. For this reason, the present investigation was mainly focused on the evaluation of the effects of functional ice with acetic acid (1%) and peracetic acid (0.02%) on the microbiological counts of poultry carcasses. In addition, it evaluated compliance with the microbiological criteria of the Central American Technical Regulation (CATR) and Secretariat of Agriculture and Livestock through the National Service of Agricultural Health (SAG-SENASA for poultry meat. Forty poultry samples that were collected on two different days were analyzed. They were evaluated before and after 24 hours in contact with organic acid ice. Microbiological counts of total coliforms (TC), *E. coli* (EC), Enterobacteriaceae (ENT), and aerobic mesophilic bacteria (BMA) were performed. Organic acids had a reducing effect on *E. coli* and total coliforms. The *E. coli* counts, and the absence of *Salmonella* were found within the Central American Technical Regulation (CATR) in 2018. Therefore, it can be inferred that the Poultry Research and Zamorano Poultry Research and Teaching Center (ZPRTC) complies with the requirements established by the CATR. It is recommended to establish a process and verification of compliance with the chicken slaughter processes. Also, analyze the shelf life of each ice.

Keywords: Functional ice, microbiological counts, poultry industry.

Introducción

La carne avícola se ha vuelto parte de la dieta cotidiana de las personas. Por tal motivo, se ha incrementado su productividad en las últimas décadas. El valor estimado de producción de carne avícola en 2019 fue de 133.6 millones de toneladas a nivel mundial y se encontró un incremento de 2.4% hasta mayo de 2020 (FAO 2020). Teniendo en cuenta el aumento del consumo per cápita y su producción global, es necesario asegurar la inocuidad tanto del producto terminado como de toda su línea de procesamiento. El microorganismo de mayor importancia en las aves es *Salmonella*, y este se encuentra en su sistema digestivo. Las vías más rápidas de contaminación son en sus huevos a través de la cloaca o debido a una mala manipulación al extraer las vísceras de la canal (Herrera B y Jabib R 2015). Según la Organización Panamericana de la Salud (OPS 2018), la *Salmonella* entérica serovar Typhi causa la fiebre tifoidea la cual lleva desde una infección subclínica hasta un cuadro de salud grave con complicaciones.

Para mitigar problemas de Enfermedades Transmitidas por Alimentos (ETA), se han realizado varios estudios sobre descontaminación de carnes rojas y blancas. Si bien es cierto, no se puede erradicar por completo los microorganismos, es posible reducir su población mediante la descontaminación de la canal. Para descontaminar una canal se pueden usar métodos físicos y químicos. Dentro de los métodos químicos tenemos el uso de ácidos orgánicos, los cuales pueden reducir o eliminar los patógenos en carne y productos avícolas (Benli 2014). Cabe destacar que en otros estudios los ácidos orgánicos como acético, ascórbico, cítrico, fórmico, láctico, propiónico y peroxiacético fueron usados para el tratamiento de canales de pollo en concentraciones de 0.05 a 2.5% (Di Schiavi et al. 2015). Así mismo, la aplicación de diferentes métodos establecidos por organismos internacionales que se encargan de proporcionar manejos adecuados para las canales de ave reduce los recuentos de microorganismos indicadores. Al evaluar una planta de una producción de 1200 pollos por hora con una certificación de la norma ISO 22000:2005, se puede observar cómo

los recuentos de microorganismos indicadores bajan desde el punto de evisceración hasta el enfriamiento y almacenamiento de las canales de pollo (Maharjan et al. 2019).

Los métodos de conservación de la carne avícola son de vital importancia para mantener una carga microbiológica baja al final de un proceso. Se debe proporcionar un almacenamiento adecuado y óptimo de la canal hasta su lugar de venta. Para prevenir e incluso reducir el desarrollo de microorganismos, se debe enfriar inmediatamente termine el proceso de sacrificio. La temperatura que por razones higiénicas se recomienda almacenar la carne es a 4 °C con una humedad relativa entre 85 a 95% (Cano-Muñoz 1991). Un método muy asequible y de gran impacto son los hielos funcionales, debido a que son mezclados con ácidos orgánicos. Esta técnica, realiza el enfriamiento y descontaminación de la canal ya que se encuentra en contacto directo con el hielo hasta llegar a los mercados o tiendas.

Madrid Sandoval, en 2017, utilizó la aplicación de hielo con ácido peracético (PAA) para evaluar el efecto de este en contacto con pechugas de pollo con piel. En su estudio, la pechuga estuvo en contacto con el hielo funcional durante nueve horas, mismo tiempo que tardaban en llegar las pechugas a su destino. Madrid utilizó cuatro tratamientos con concentraciones de 75 y 150 ppm sin ajustar pH y las mismas concentraciones con pH ajustado de 7.5. Menciona también que no afecta ni influye estas concentraciones en la calidad de la carne.

Este estudio está enfocado en el uso de dos ácidos orgánicos que son permitidos por organizaciones dedicadas a la inocuidad de productos agrícolas. Según el Sistema de Inspección e Inocuidad de los Alimentos del Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA-FSIS 2021), el ácido peracético se debe encontrar en un rango de dilución hasta 2000 ppm y el ácido acético se recomienda no exceder los 1436 ppm al usarse en métodos de rocío. Se escogieron los valores más bajos para realizar el estudio ya que se busca minimizar los costos del procesamiento de hielos.

Para los pequeños productores de canales de pollo como el Centro de Investigación y Enseñanza Avícola Zamorano (CIEAZ), es muy difícil controlar la línea de proceso ya sea por los pocos colaboradores involucrados en el proceso o la falta de un plan de análisis de peligros y puntos de control (HACCP). El USDA- FSIS durante la actualización de la inspección de establecimientos que cosechan aves, (USDA-FSIS 2015) reportaron que no existen organismos índices identificados que reflejen la presencia o ausencia de patógenos entéricos como *Salmonella* en canales de aves. Se recomienda en las guías de muestreo microbiológico, el análisis de microorganismos indicadores de manera intermitente para poder evaluar las canales después del enfriamiento de estas.

Esta investigación está enfocada en los productores de pequeña escala que no cuentan con un sistema adecuado de enfriamiento, transporte, ni almacenamiento. Una vez empieza a derretirse el hielo, este liberará el ácido orgánico a la superficie de las aves crudas lo cual reducirá su carga microbiana (Madrid Sandoval 2017). La investigación permitirá evaluar el uso de ácido acético y ácido peracético en hielo. Este estudio beneficia en gran parte a los productores de pequeña escala de zonas rurales los cuales se ven limitados económicamente o muchas veces no tienen acceso a un servicio básicos como la electricidad. Las limitantes del estudio son, la falta de muestreos periódicamente durante un año debido a que solo cuenta con dos días de toma de datos; la información solo puede ser utilizada por Centroamérica. Debido a que la investigación se encuentra ubicado en Honduras, se utilizará el reglamento de inspecciones de carnes y productos cárnicos establecido por la Secretaría de Agricultura y Ganadería a través del Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria (SAG-SENASA 2000), en conjunto con el Reglamento Técnico Centro Americano (RTCA 2018).

Los objetivos del presente estudio fueron

Evaluar el efecto de los ácidos orgánicos en los recuentos microbiológicos de los enjuagues de las canales de pollo.

Evaluar el cumplimiento de los criterios microbiológicos del RTCA y de la SENASA para canales de pollo en los procesos del Centro de Investigación y Enseñanza Avícola Zamorano.

Materiales y Métodos

Ubicación del Estudio

El estudio se realizó en el Centro de Investigación y Enseñanza Avícola, Zamorano (CIEAZ) perteneciente al departamento de Ciencia e Investigación Agropecuaria, donde se recolectaron las muestras de las canales de pollo. Tanto las evaluaciones como los recuentos microbiológicos se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos Zamorano (LMAZ) ubicado en el departamento de Agroindustria Alimentaria, las muestras fueron procesadas e incubadas para sus respectivos recuentos. Ambas unidades localizadas en la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano en el Municipio de San Antonio de Oriente, Francisco Morazán, Honduras.

Evaluación del Efecto de los Ácidos Orgánicos en los Recuentos Microbiológicos de los Enjuagues de las Canales de Pollo

En este punto se evaluó la propiedad antimicrobiana de los diferentes hielos funcionales y si estos influyen o no en el cambio de pH de la canal.

Preparación del Hielo Funcional

Se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de Zamorano, los tratamientos se prepararon en bandejas previamente desinfectadas (Con alcohol al 95%). Para realizar los diferentes tratamientos, en cada bandeja se prepararon 5 kg de solución de ácido acético AA (1%), ácido peracético PAA (0.02%), y agua destilada como control. Se verificó la concentración de ácido peracético con un kit LaMotte 7191-02, el porcentaje del ácido acético se verificó por titulación con NaOH y fenolftaleína. Se transfirió las soluciones a moldes de plástico para elaborar el hielo previamente lavadas y desinfectadas con alcohol al 95%. Se preparó un total de 20 kg de hielo por tratamiento en un congelador a -20 °C por un lapso de 16 horas. Se colocaron 4 kg del hielo fabricado en bolsas transparentes etiquetadas con el tratamiento, cada tiempo del muestreo y el número de la repetición (PTR-N°tiempo/Rep). Por último, se almacenaron en el mismo refrigerador hasta el día del muestreo.

Diseño Experimental

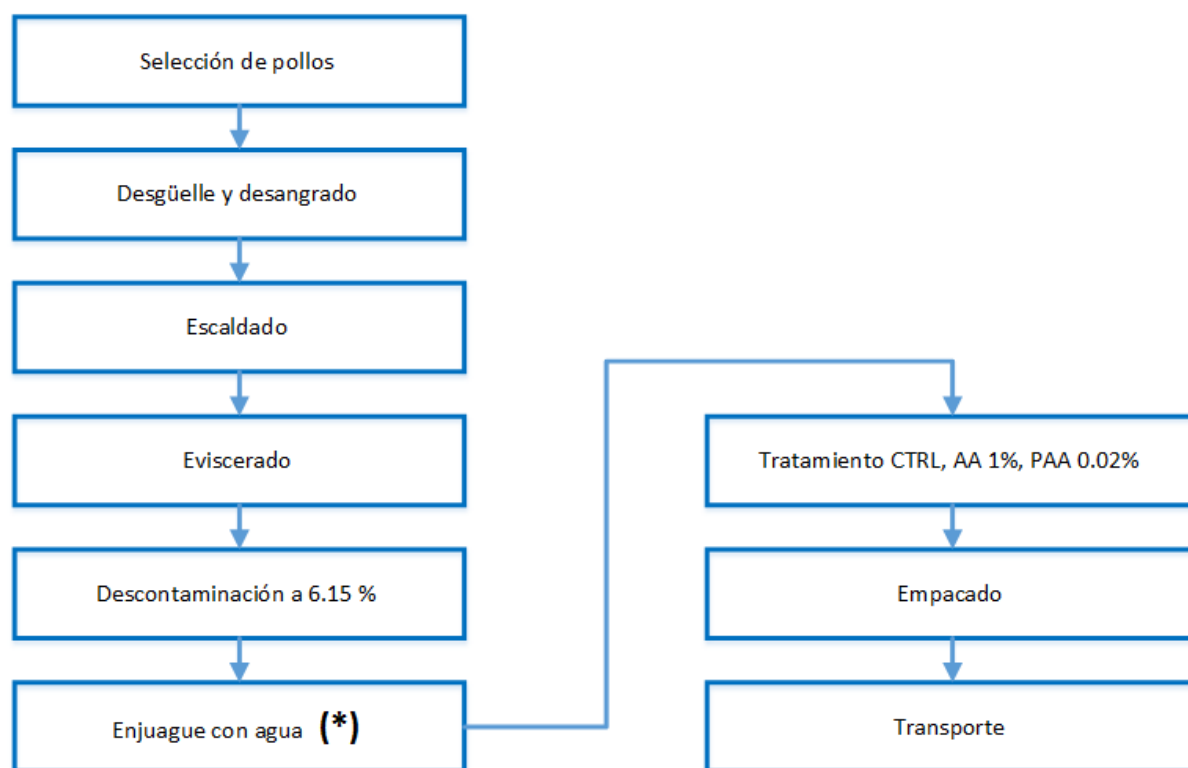
Se utilizó un Diseño de Bloques Completos al Azar (BCA); se evaluaron cuatro tratamientos: dos tipos de hielo con ácidos orgánicos (Ácido acético y ácido peracético) a una concentración de 1 y 0.02% respectivamente, hielo control con agua destilada y control sin aplicación de hielo. Se realizaron dos repeticiones en diferentes días, en cada repetición se obtuvieron cinco muestras para cada tratamiento recolectadas en diferentes momentos del proceso de la cosecha de aves.

Preparación de Muestras

Se recolectaron un total de 20 muestras por cada día de la siguiente manera: se recolectó una canal para evaluar la carga inicial que se enjuagó con 300 mL de agua peptonada estéril en el CIEAZ. Posteriormente, se depositó el enjuague en una bolsa “whirlpack” estéril y se almacenó en refrigeración hasta el momento de su análisis microbiológico en el LMAZ. Las otras tres canales se colocaron cada una en diferentes bandejas en conjunto con los hielos de cada tratamiento, ácido acético 1%, peracético 0.02% y un control con agua destilada. Se almacenaron con una relación de hielo/canal 2:1. Se almacenaron las canales con los tratamientos en hieleras por 24 horas en un lugar con sombra dentro del LMAZ para luego ser analizadas en el laboratorio. En la Figura 1 se puede observar el flujo de proceso del CIEAZ y el punto exacto en donde se recolectan las muestras.

Figura 1

Diagrama de Flujo de Proceso de las Canales de Ave.



Nota. (*) Extracción de la muestra.

Análisis Microbiológicos

Los enjuagues refrigerados con buffer fosfato estéril, se homogenizaron por 60 segundos. Luego se realizó las diluciones 10^0 y 10^1 (1 mL) en los tubos de ensayo con buffer fosfato (9 mL). Después, se homogenizaron las diluciones en un “vortex” y se extendió sobre la superficie 0.1 mL de cada dilución en los agares correspondientes.

Se utilizó Agar Bilis Rojo Violeta + Mug (ABRV-MUG) para los recuentos de coliformes totales (CT) y *E. coli* (EC); Agar Bilis Rojo Violeta + Glucosa (ABRVG) para las enterobacterias (ENT); y Agar Cuenta Estándar (ACE) para las bacterias mesófilas aerobias (BMA). Los medios se incubaron de acuerdo con los métodos del laboratorio para recuentos microbiológicos de cada microorganismo. Se incubaron las placas por 24 horas a 35 °C para CT, EC, ENT y 48 horas para BMA. Los recuentos de cada grupo indicador se expresaron en Log de unidades formadoras de colonias (UFC/mL) después de su

respectivo tiempo de incubación. Una vez pasadas las 24 horas, se analizaron las muestras para evaluar el efecto de los ácidos orgánicos, de la misma manera como se evaluaron los enjuagues de las 0 horas.

Análisis de pH

Se midió el pH de cada canal evaluada al salir de su flujo de procesamiento inmediatamente después de haber reposado en agua. Posteriormente, se midió el pH después de haber estado en contacto por 24 horas con los hielos funcionales antes de sus análisis microbiológicos.

Análisis Estadístico Recuentos Microbiológicos y pH

El análisis estadístico se realizó usando el programa “Statistical Analysis System” (SAS versión 9.4). Se realizó un ANDEVA para los recuentos microbiológicos y una separación de medias con la prueba Duncan, con un nivel de significancia ≤ 0.05 . Se utilizó un diseño de Bloques Completos al Azar (BCA). En cada bloque se evaluaron la carga microbiológica de la canal a cero horas y después de estar las canales en contacto por 24 horas con los hielos de ácido peracético (PAA), ácido acético (AA) y el control (CTRL); siendo estas, las variables independientes. Las variables dependientes fueron, coliformes totales (CT), *Escherichia coli* (EC), enterobacterias (ENT) y bacterias mesófilas aerobias (BMA).

Para el análisis de pH de las canales antes y después de haber estado en contacto con los hielos funcionales, se utilizó un análisis estadístico usando una prueba “t”. El nivel de significancia fue ≤ 0.05 .

Evaluación del Cumplimiento de los Criterios Microbiológicos del RTCA y de la SENASA Para Canales de Pollo en los Procesos del Centro de Investigación y Enseñanza Avícola

Se realizó una comparación con los diferentes reglamentos utilizados en el presente estudio y se determinó si el Centro de Investigación y Enseñanza Avícola Zamorano cumple con los parámetros microbiológicos del RTCA y la SAG-SENASA. Se realizaron análisis de *Salmonella* y *E. coli* ya que estos son los microorganismos indicadores para ambos reglamentos.

Análisis de *Salmonella*

Se realizó un análisis con los enjuagues refrigerados de las cero horas de cinco muestras del total recogidos en los dos diferentes días. Se analizó un total de 10 muestras para determinar la presencia de *Salmonella* mediante el método de "Molecular Detection System" (MDS). Los criterios del Reglamento Técnico Centro Americano dictan que, en revisión del procesamiento de aves, las canales no deben tener presencia de *Salmonella* en cinco canales de toda la producción del día. Al igual que la Secretaría de Agricultura y Ganadería a través del Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria mencionan menciona que en cinco muestras no debe haber presencia de *Salmonella*.

Análisis de *E. coli*

Se tomaron los platos *Petri* de CT y EC antes y después de haber estado las canales en contacto con los hielos funcionales. Esto para verificar que no sobrepasaban los límites establecidos por el Reglamento Técnico Centro Americano, este menciona que, de cada cinco muestras, los recuentos deben ser menores a 10^2 UFC/g, solo una puede tener más de 10^2 sin que sobrepase 10^3 UFC/g ($n=5$, $c=1$; $m=10^2$ UFC/g; $M=10^3$ UFC/g). Para la Secretaría de Agricultura y Ganadería a través del Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria mencionan menciona que en cinco muestras permite que dos estén en el rango marginalmente aceptable de 5×10^2 y 5×10^3 UFC/g ($n=5$, $c=2$; $m=5 \times 10^2$ UFC/g; $M=5 \times 10^3$ UFC/g). Para determinar la cantidad de *E. coli* los platos de (ABRV-MUG) fueron incubados a 35°C durante 24 h y luego estos fueron sometidos a luz ultravioleta de 365 nm para poder cuantificar *E. coli*.

Resultados y Discusión

Evaluación del Efecto de los Ácidos Orgánicos en los Recuentos Microbiológicos de los Enjuagues de las Canales de Pollo

No se observaron diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$) entre tratamientos después de las 24 horas de haber estado en contacto con la canal. Ambos tratamientos de ácido acético (AA) 1% y ácido peracético (PAA) 0.02% en conjunto con el hielo control (CTRL), fueron similares en cuanto a recuentos de bacterias mesófilas aerobias, enterobacterias, coliformes totales y *E. coli* después de las 24 horas. Se encontraron diferencias significativas entre las muestras recolectadas post cosecha que fueron inmersas en ácido acético al 6.15% durante 5 minutos.

Las bacterias mesófilas aerobias (BMA) se mantuvieron constantes, no hubo crecimiento ni reducción. Al pasar las 24 horas se observaron recuentos de 3.57, 3.50 3.55 Log UFC/mL de los enjuagues del control, ácido peracético y ácido acético respectivamente. Para las enterobacterias no se observó una reducción significativa ($P < 0.05$) de los recuentos después de las 24 horas en contacto con el control ni en los dos ácidos orgánicos. Se observó diferencias significativas entre los recuentos de coliformes totales de post cosecha con respecto a los recuentos después de que la canal estuviera 24 horas en contacto con los hielos. Sin embargo, no hubo una diferencia estadística entre el control y los tratamientos (Cuadro 1).

La presencia *Escherichia coli* en las canales de pollo mostraron una diferencia significativa entre el enjuague post cosecha con respecto al post enfriamiento del control y los tratamientos de PAA y AA ($P < 0.05$). Se observó una reducción en los tratamientos después de 24 horas con respecto a la carga inicial que fue de 2.90 Log UFC/mL (Cuadro 1), después de las 24 horas, los recuentos bajaron a 1.56, 1.39, 1.38 Log UFC/mL en el control, ácido peracético y ácido acético respectivamente. Este cuadro fue realizado en base al Anexo A.

Cuadro 1

Recuento de grupos indicadores (Log UFC/ml) en canales de pollo con diferentes tratamientos posteriores a la evisceración y cosecha.

Grupo Indicador	Carga inicial	Hielo Control	Hielo con ácido. peracético 0.02%	Hielo con ácido acético 1%	CV%
Coliformes Totales	3.10 ± 0.44 ^A	2.42 ± 0.46 ^B	2.33 ± 0.83 ^B	2.65 ± 0.93 ^B	15.52
<i>E. coli</i>	2.90 ± 0.53 ^A	1.34 ± 0.83 ^B	1.51 ± 1.60 ^B	1.52 ± 1.05 ^B	38.81
Enterobacterias ^{NS}	3.03 ± 0.61	2.52 ± 0.62	2.52 ± 0.98	2.60 ± 0.59	19.99
Mesófilas Aerobias ^{NS}	3.54 ± 0.27	3.57 ± 0.49	3.50 ± 0.56	3.55 ± 0.43	11.54

Nota. CV: Coeficiente de Variación.

^{AB} Letras diferentes en la misma línea, indican diferencias significativas entre tratamientos (P < 0.05)

^{NS} No hay diferencia significativa entre tratamientos (P > 0.05).

La contaminación microbiológica de las canales ocurre por un mal manejo de estas dentro del flujo de procesamiento. Provocar un mal corte en el desangrado, permitir el ingreso de aves vivas al escaldado, no tener las temperaturas óptimas en la misma y no efectuar un buen lavado. Se debe prestar atención especial a la hora de eviscerar, ya que la ruptura del buche puede causar una contaminación de *Salmonella* elevada, incluso más que la ruptura de los ciegos (AVINEWS 2017). Luego de la evisceración se requiere de un lavado e inspección ya que puede existir costras de materia fecal o residuos del eviscerado. El miso autor menciona que las operaciones de desplumado es donde más contaminación cruzada puede ocurrir con *Salmonella* y *Campylobacter*. Los recuentos más elevados de mesófilos se encuentran en las etapas iniciales del procesado después del desplumado (Pérez 2016). Muchas otras etapas deben ser controladas para evitar la contaminación cruzada de diferentes microorganismos.

Para el estudio se eligieron ácidos orgánicos debido a la eficacia que estos presentan en diferentes estudios en la reducción de microorganismos patógenos que son un riesgo para la salud (Sumarmono y Djoko Rahardjo 2012; Madrid Sandoval 2017). Los resultados obtenidos en el presente estudio de coliformes totales son similares a los reportados por Madrid Sandoval en 2017, con

respecto a la reducción mediante el uso de ácido peracético en hielos. Para coliformes totales, hubo una reducción mayor a 1 Log UFC/ml en los enjuagues de las pechugas de (Madrid Sandoval 2017).

En la presente investigación se obtuvieron muestras con cargas iniciales promedios de 3.10 Log UFC/mL para Coliformes Totales (CT), 2.9 Log UFC/mL para *E. coli* (EC), 3.03 Log UFC/mL para Enterobacterias (ENT) y 3.54 Log UFC/mL para Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA). Estas presentaron una reducción significativa solo en CT y EC. Las BMA se mantuvieron, no hubo crecimiento durante las 24 horas durante el contacto con los hielos funcionales. Para enterobacterias hubo una reducción, pero no fue significativa ya que en ácido acético (AA) al 1% solo eliminó 0.43 Log UFC/ml del recuento inicial. Este resultado no concuerda con un estudio realizado por (Gonzalez-Fandos et al. 2020), ya que indica que la reducción de ENT fue de 0.78 Log UFC/mL utilizando el mismo porcentaje de AA en un día, pero esta reducción aumenta a medida pasan los días de almacenamiento. Una de las diferencias en la metodología de estudio fue la aplicación de los ácidos orgánicos no era en hielos funcionales sino en un lavado por aspersión. Se puede inferir que presenta una baja de eficiencia antimicrobiana después de un cierto tiempo. Por otra parte, se encontró reducción significativa en recuentos de *E. coli* y coliformes totales. Otras investigaciones han detectado una mayor reducción de estos microorganismos. Sin embargo, por un periodo menor al de las 24 horas (Madrid Sandoval 2017) evaluó ácidos orgánicos a diferente concentración por un periodo máximo de 8 horas.

En cuanto al ácido peracético, existió una reducción de 0.77 Log UFC/mL de CT, 1.39 Log UFC/ml de EC y 0.51 Log UFC/mL de ENT. En un estudio similar sobre PAA a diferentes concentraciones y pH se demostró que CT hubo una reducción mayor a 1 Log UFC/mL (Madrid 2017). Las canales evaluadas por Madrid Sandoval fueron por un lapso de 9 horas, por lo que se puede observar una ligera pérdida de efectividad al pasar las 24 horas de haber estado en contacto con los hielos funcionales. Por lo que en el presente estudio se puede inferir que los ácidos orgánicos utilizados funcionaron como agentes bactericidas para CT, EC y en menor medida para ENT. No obstante,

funcionaron como un agente bacteriostático para recuentos de BMA, manteniendo su carga microbiológica similar a la inicial al pasar las 24 horas de contacto.

Todas las canales tuvieron el mismo tiempo de ayuno el cual fue de seis horas, con el fin de reducir el coeficiente de variación en las canales. Según Puerto Hernández (Puerto Hernández 2019), las canales con diferentes tiempos de ayuno incrementan algunos microorganismos indicadores. Los recuentos que aumentaron en el estudio de Puerto Hernández fueron los de coliformes, *E. coli* y enterobacterias. Por lo que un tiempo de ayuno uniforme en las dos repeticiones reduce el riesgo de aumentar o disminuir la carga microbiológica de las canales. Gracias a esto se obtuvieron datos similares en los dos muestreos realizados dentro del Centro de Investigación y Enseñanza Avícola Zamorano (CIEAZ).

Al evaluar la carga inicial en las diferentes canales se determinó que, siguiendo normas de bioseguridad e higiene, la mayoría de los microorganismos indicadores tuvieron alrededor de 3 Log UFC/mL al final de su procesamiento y eran descontaminados en una solución con ácido acético al 6.15% de concentración. Al cabo de las 24 horas en contacto con los hielos funcionales, se observó una reducción de un 1 Log UFC/mL de enjuague de todos los microorganismos en todos los tratamientos, a excepción de las bacterias mesófilas aerobias y las enterobacterias. Se puede observar los cambios gráficamente en el Anexo B

Análisis de pH

El pH no presentó una diferencia significativa entre tratamientos ($P > 0.05$). Sin embargo, se obtuvo una diferencia significativa entre los tiempos establecidos de inicio y final ($P < 0.05$). Los ácidos orgánicos presentan una reducción similar de pH después de las 24 horas (Cuadro 2).

Cuadro 2

Evaluación de pH de las canales a 0 horas y 24 horas después de haber estado en contacto con los hielos.

Tratamientos ^{NS}	pH antes	pH después	Pr > t
Hilo con ácido acético	6.50 ± 0.31 ^A	6.11 ± 0.36 ^B	0.0192
Hielo con ácido peracético	6.66 ± 0.19 ^A	6.27 ± 0.24 ^B	0.0007
Hielo control	6.56 ± 0.19 ^A	6.29 ± 0.17 ^B	0.0035

Nota. AA: Ácido Acético, PAA: Ácido Peracético, CTRL: Control

^{AB} Letras diferentes en la misma línea, indican diferencias significativas entre tiempos (P < 0.05)

Los valores de pH después de las 24 horas se vieron afectados ya que hubo una disminución con respecto al pH inicial. Esto concuerda con la investigación de Sumarmono y Djoko en 2012, quienes evaluaron ácido láctico, cítrico y acético con diferentes concentraciones cada uno, presentando cambios significativos después de aplicar dichos ácidos orgánicos. Todos los tratamientos del actual estudio presentaron cambios significativos, AA y PAA tuvieron una reducción de 0.39 mientras que el tratamiento control tuvo una reducción de 0.27 en el pH. Existe una menor disminución de pH después de las 24 horas en aves con 8 horas de espera en la matanza a temperatura ambiente 24 °C (Bautista et al. 2016). Un mayor estrés en las aves como temperatura o poco tiempo de espera pueden disminuir drásticamente los valores de pH pasadas las 24 horas de almacenamiento. Varios factores determinan la disminución de pH y estos pueden ocurrir durante la transformación del músculo a carne. Esto se debe a que sin corriente sanguínea el músculo no se puede oxigenar. Durante las primeras cuatro horas la pechuga tiene un pH de 6.15 y el contra muslo de 6.40, después de 24 horas *post mortem* llegan a 5.70 y 5.90 Respectivamente (Yagüe 2017). Los ácidos no contrarrestan esta información, la disminución de pH en las muestras se mantuvo. Las canales de pavo se consideran dentro de carne de ave o carne blanca, esta contiene un pH alrededor de 5.7 (Okuskhanova E et al. 2017). Después de las 24 horas los pH se mantuvieron como un alimento de baja acidez. Alcanzando 6.11 para los tratamientos con AA, 6.27 los de PAA y 6.29 para el CTRL.

Se observó que el hielo mezclado con ácido peracético al pasar 24 horas en una hielera se encontró en su mayoría en estado sólido, de igual manera con el hielo de ácido acético. Sin embargo,

el hielo control con agua destilada se encontró en su mayoría en fase líquida. Lo anterior mencionado indica que se puede evaluar la eficacia de los ácidos por un lapso mayor de 24 horas y ver cómo reaccionan los microorganismos a otros tiempos.

Evaluación del Cumplimiento de los Criterios Microbiológicos del RTCA y de la SENASA Para Canales de Pollo en los Procesos del Centro de Investigación y Enseñanza Avícola

Los resultados de las canales recolectadas para verificar el cumplimiento de las canales de aves de las regulaciones hondureñas se muestran en los Cuadros 3 y 4.

Cuadro 3

Recuentos microbiológicos de los enjuagues a las 0 horas, primera repetición.

Muestreo día 1, enjuagues 0 horas		
Muestra	<i>E. coli</i> UFC/ml ^x	<i>Salmonella</i> en 25 g ^{yz}
1	3400	Negativo
2	310	Negativo
3	600	Negativo
4	600	Negativo
5	340	Negativo

Nota.^x No se encuentra dentro de los parámetros tanto del RTCA y SAG-SENASA;

^y Se encuentra dentro de los parámetros microbiológicos de RTCA;

^z Se encuentra dentro de los parámetros de SAG-SENASA.

Cuadro 4

Recuentos microbiológicos de los enjuagues a las 0 horas, segunda repetición.

Muestreo día 2, enjuagues 0 horas		
Muestras	<i>E. coli</i> UFC/ml ^x	<i>Salmonella</i> en 25g ^{yz}
1	6600	Negativo
2	2600	Negativo
3	2100	Negativo
4	220	Negativo
5	910	Negativo

Nota.^x No se encuentra dentro de los parámetros tanto del RTCA y SAG-SENASA;

^y Se encuentra dentro de los parámetros microbiológicos de RTCA;

^z Se encuentra dentro de los parámetros de SAG-SENASA.

De acuerdo con el Reglamento Técnico Centroamericano en 2018, para revisiones en establecimientos que producen pollos, los recuentos de *E. coli* tienen un límite entre 100 y 1000

UFC/mL y la presencia de *Salmonella* debe ser nula en 25 g, solo una canal puede estar fuera de los parámetros establecidos. Los recuentos de *E. coli* no cumplen los requerimientos. Los resultados de *Salmonella* son satisfactorios al momento de terminar la cosecha. Se observó una gran reducción en *E. coli* después de estar en contacto con los hielos, en donde después de 24 de enfriamiento cumplen con las especificaciones del reglamento de SENASA. No se observó *Salmonella* mediante el método de "Molecular Detection System" (MDS). En el reglamento de inspecciones de carnes y productos cárnicos establecido por la Secretaría de Agricultura y Ganadería a través del Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria SAG SENASA en el año 2000, menciona en el artículo 259: Debe tener no más de 5×10^3 UFC por gramo y no debe existir *Salmonella* en ninguna canal. Se puede observar que por la falta de un plan HACCP hay variaciones en los datos obtenidos en los diferentes días. Esto puede atribuirse a las diferencias en las concentraciones del agua de enjuague en el proceso con ácido acético, las cuales no se verifican, presentando valores de 4.98 y 7.33% de ácido acético en los días 1 y 2 respectivamente. El rango permitido de *E. coli* varía mucho dependiendo del país en el que se encuentre, muchos son más permisibles y otros son muy estrictos. Durante la evisceración puede ocurrir contaminación cruzada debido a una ruptura de las vísceras en donde de manera natural se encuentra *Campylobacter* (Huertas Moreno 2018). Esto pudo influenciar directamente en los recuentos microbiológicos de *E. coli*. El manejo eficiente de herramientas al momento del eviscerado reduce drásticamente la contaminación cruzada de los intestinos del pollo a la canal.

De acuerdo a la Dirección General de Salud Ambiental e Inocuidad Alimentaria del Ministerio de Salud en Ecuador (DIGESA 2003), el cual establece que cinco muestras pueden exceder el límite entre 100 000 y 10 000 000 UFC/g de aerobios mesófilos y una debe presentar ausencia en 25 g de *Salmonella* sp. Los microorganismos indicadores de la calidad de la carne de ave varían dependiendo del país. Sin embargo, la bacteria de importancia en aves siempre será *Salmonella*, debido a esto en los reglamentos investigados en el presente estudio siempre mencionan que debe estar ausente en los diferentes muestreos.

Una canal con altos recuentos de microorganismos indicadores es causa de un mal manejo del animal durante su cosecha ambientes avícolas, otros animales e incluso los humanos son fuentes de contaminación durante la incubación y el periodo de crecimiento del animal (Firildak et al. 2015).

Conclusiones

El uso de ácidos orgánicos en forma de hielo reduce los recuentos microbiológicos de *Escherichia coli* y coliformes totales con respecto a la carga microbiológica inicial; la reducción fue significativa después de las 24 horas.

El Centro de Investigación y Enseñanza Avícola Zamorano cumple con los criterios microbiológicos de *Salmonella* y *Escherichia coli* del Reglamento Técnico Centro Americano y la Secretaría de Agricultura y Ganadería a través del Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria de Honduras; logrando obtener recuentos microbiológicos por debajo de lo establecido en dichos microorganismos regulatorios después del contacto con los hielos.

Recomendaciones

Evaluar la vida útil de la canal de pollo en contacto con los hielos. Contabilizar el tiempo máximo en la que esta canal se encuentra dentro de los parámetros microbiológicos establecidos por el RTCA sin que se vean afectadas sus características sensoriales.

Establecer un sistema de BPM y plan HACCP en el CIEAZ y verificar que se cumplan los procedimientos de descontaminación establecidos por el mismo.

Referencias

- AVINEWS. 2017. Contaminación de los pollos durante el procesamiento. América Latina: [sin editorial]; [actualizado el 25 de sep. de 2017; consultado el 19 de ene. de 2021]. <https://avicultura.info/contaminacion-de-los-pollos-durante-el-procesamiento/>.
- Bautista Y, Narciso C, Pro A, Hernández AS, Becerril CM, Sosa E, Velasco J. 2016. Efecto del estrés por calor y tiempo de espera ante mortem en las características fisicoquímicas y la calidad de la carne de pollo. *Arch. med. vet.* 48(1):89–97. doi:10.4067/S0301-732X2016000100011.
- Benli H. 2014. Surface Decontamination Treatments for Improving the Safety of Meat and Poultry. En: Malik A, Erginkaya Z, Ahmad S, Erten H, editores. *Food processing: strategies for quality assessment*. New York, NY: Springer New York; Imprint; SPRINGER. p. 155–174 (Food Engineering Series).
- Cano-Muñoz G. 1991. *Manual on meat cold store operation and management*. Rome: FAO. VI, 121 S (FAO animal production and health paper; vol. 92). ISBN: 92-5-102788-9; [consultado 23/08/20]. <http://www.fao.org/3/t0098e/T0098E02.htm>.
- Di Schiavi MdlÁ, Rebagliati JE, Libonatti C. 2015. Análisis entre ácido láctico y ácido cítrico en la desinfección de las cáscaras de pollos en el sector de trozado, en una planta de faena.[Tesis] [Tesis]. Tandil, Argentina: Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires. 107 p; [consultado el 20 de ago. de 2020]. <https://www.ridaa.unicen.edu.ar/xmlui/bitstream/handle/123456789/458/Di%20Schiavi%2C%20Maria%20de%20los%20Angeles-%20Facultad%20de%20Ciencias%20Veterinarias.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
- [DIGESA] Dirección General de Salud Ambiental e Inocuidad Alimentaria. 2003. Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. Ecuador. N° 615-2003; [consultado el 5 de abr. de 2021]. http://www.digesa.minsa.gob.pe/norma_consulta/Proy_RM615-2003.pdf.

- [FAO] Food and Agriculture Organization. 2020. Food Outlook: Biannual report on global food markets, june 2020. 1ra ed. United States: FOOD & AGRICULTURE ORG (Vol 1). ISBN: 978-92-5-132848-4. <http://www.fao.org/3/ca9509en/CA9509EN.pdf>.
- Firildak G, Asan A, Goren E. 2015. Chicken carcasses bacterial concentration at poultry slaughtering facilities. *Asian J. of Biological Sciences*. 8(1):16–29. doi:10.3923/ajbs.2015.16.29.
- Gonzalez-Fandos E, Martinez-Laorden A, Perez-Arnedo I. 2020. Effect of decontamination treatments on *Campylobacter jejuni* in chicken. *Foods*. 9(10). eng. doi:10.3390/foods9101453.
- Herrera B Y, Jabib R L. 2015. Salmonelosis, zoonosis de las aves y una patogenia muy particular. *Revista Electrónica de Veterinaria*; [consultado el 3 de ago. de 2020]. 16(1):1–19. <https://www.redalyc.org/pdf/636/63638739002.pdf>.
- Huertas Moreno AP. 2018. Evaluación cualitativa de riesgos en una cadena productiva de pollo y sus relaciones con el eje de inocuidad de la seguridad alimentaria y nutricional. Caso: empresa avícola ubicada en el departamento de cundinamarca [Maestría]. Bogotá-Colombia: Universidad Nacional de Colombia. 217p; [consultado el 24 de nov. de 2020]. <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/69490/Tbjo%20grado%208%20Feb%202019%20-%20FINAL.pdf?sequence=2&isAllowed=y>.
- Madrid Sandoval AL. 2017. Efecto del uso de hielo funcional en el crecimiento de microorganismos indicadores durante el almacenamiento de pechugas de pollo. [Tesis]. Zamorano-Honduras. 14 p: Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. 27 p; [consultado el 3 de sep. de 2020]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6064/1/AGI-2017-034.pdf>.
- Maharjan S, Rayamajhee B, Chhetri V, Sherchan S, Panta O, Karki T. 2019. Microbial quality of poultry meat in an ISO 22000: 2005 certified poultry processing plant of Kathmandu valley. *Food Contamination*. 6(1):231. doi:10.1186/s40550-019-0078-5.

- Okuskhanova E, Rebezov M, Yessimbekov Z, Suychinov A, Semenova N, Rebezov Y, Gorelik O, Zinina O. 2017. Study of water binding capacity, pH, chemical composition and microstructure of livestock meat and poultry. *ARRB*. 14(3):1–7. doi:10.9734/ARRB/2017/34413.
- [OPS] Organización Panamericana de la Salud. 2018. Alerta epidemiológica *Salmonella* entérica serovar Typhi haplotipo H58. América Central y el Caribe: PAHO; [consultado el 3 de ago. de 2020]. https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&view=download&alias=46632-10-de-octubre-de-2018-salmonella-enterica-serovar-typhi-alerta-epidemiologica-1&category_slug=salmonella-enterica-serovar-1&Itemid=270&lang=es.
- Puerto Hernández GM. 2019. Efecto del tiempo de ayuno en los recuentos microbiológicos de canales de aves. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana Zamorano. 26p; [consultado el 29 de sep. de 2020]. <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/6490/1/AGI-2019-T046.pdf>.
- [RTCA] Reglamento Técnico Centro Americano. 2018. Criterios microbiológicos para la inocuidad de los alimentos. 1ra Revisión. Centroamérica: Secretaría de Integración Económica Centroamericana; [consultado el 15 de sep. de 2020]. 63 p. <https://arsa.gob.hn/descargas/402-2018.pdf>.
- [SAG-SENASA] Secretaría de Agricultura y Ganadería, Servicio Nacional de Sanidad Agropecuaria. 2000. Reglamento de inspección de carnes y productos cárnicos. Honduras: Secretaría de Agricultura y Ganadería. 49 p. No. 078-00; [consultado el 7 de sep. de 2020]. <https://honduras.eregulations.org/media/Acuerdo%20078-00.pdf>.
- Sumarmono J, Djoko Rahardjo AH. 2012. Effects of decontamination using organic acids on total microbial number and qualities of poultry carcasses; [consultado el 20 de nov. de 2020]. 10(2):129-134p. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=DJ2012073659>.
- [USDA-FSIS] United States Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service. 2015. Compliance guideline: modernization of poultry slaughter inspection: Microbiological sampling of raw poultry. Estados Unidos: Food Safety Information; [actualizado 06/2015; consultado el 1 de

sep. de 2020]. 26 p. Food and Safety Information. <https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/a18d541e-77d2-40cf-a045-b2d2d13b070d/Microbiological-Testing-Raw-Poultry.pdf?MOD=AJPERES>.

[USDA-FSIS] United States Department of Agriculture, Food Safety and Inspection Service. 2021. List of approved on-line reprocessing (OLR) antimicrobial systems for poultry. Estados Unidos: Food Safety Information; [actualizado 01/2021; consultado el 31 de ene. de 2021]. 33 p. https://www.fsis.usda.gov/sites/default/files/media_file/2021-02/7120.1-olr-oflr-tables.pdf.

Yagüe A. 2017. Factores post mortem que afectan a la carne de pollo: Sacrificio y conversión de músculo de pollo a carne. no especificado. Centroamérica: [sin editorial]; [actualizado el 17 de mar. de 2017; consultado el 7 de ene. de 2021]. <https://avicultura.info/transformacion-del-musculo-carne/>.

Anexos

Anexo A

Resumen de ANDEVA de los análisis microbiológicos.

MICROORGANISMOS	FRACCIÓN	VALOR F	PR > F	R ²	COEF VAR
COLIFORMES TOTALES	BLOQUE	8.65	<0.0001	0.652768	15.52563
	REPETICIÓN	2.24	0.1446	0.652768	15.52563
	TRATAMIENTO	7.15	0.0009	0.652768	15.52563
<i>E. coli</i>	BLOQUE	7.14	0.0003	0.669643	38.81503
	REPETICIÓN	2.68	0.1117	0.669643	38.81500
	TRATAMIENTO	10.54	<0.0001	0.669643	38.81500
ENTEROBACTERIAS	BLOQUE	8.53	<0.0001	0.567527	19.99901
	REPETICIÓN	0.13	0.7200	0.567527	19.99901
	TRATAMIENTO	2.14	0.1151	0.567527	19.99901
BACTERIAS MESÓFILAS AEROBEAS	BLOQUE	0.3	0.8779	0.303259	11.54002
	REPETICIÓN	12.17	0.0015	0.303259	11.54002
	TRATAMIENTO	0.05	0.9864	0.303259	11.54002

Anexo B

Efecto de los tratamientos y control después de las 24 horas con respecto a las cero horas.

