

**UTILIZACIÓN DE LA NISINA COMO CONSERVANTE DE LA SALCHICHA TIPO
PERRO BAJO CONDICIONES DE LA PLANTA PILOTO DE LA UNIVERSIDAD
POPULAR DEL CESAR.**

**LAURA MARCELA MONTENEGRO BORJA
JENIS KARINA MORON PERTUZ**

**UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR
FACULTAD DE INGENIERIA Y TECNOLOGIA
INGENIERIA AGROINDUSTRIAL
VALLEDUPAR
2018**

**UTILIZACIÓN DE LA NISINA COMO CONSERVANTE DE LA SALCHICHA
TIPO PERRO BAJO CONDICIONES DE LA PLANTA PILOTO DE LA
UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR.**

**LAURA MARCELA MONTENEGRO BORJA
JENIS KARINA MORON PERTUZ**

**Trabajo de grado como requisito para optar al título de ingeniera
agroindustrial**

**Director
FRANKLIN MEJIA PADILLA
Ingeniero agrónomo**

**UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR
FACULTAD DE INGENIERIA Y TECNOLOGIA
INGENIERIA AGROINDUSTRIAL
VALLEDUPAR**

2018

TABLA DE CONTENIDO

	pág.
RESUMEN	8
ABSTRACT	10
INTRODUCCIÓN	12
1. TITULO	14
2. OBJETIVOS	15
2.1. OBJETIVO GENERAL	15
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
4. JUSTIFICACIÓN	18
5. MARCO TEÓRICO	20
5.1. ANTECEDENTES	20
5.2. MARCO REFERENCIAL	22
5.2.1. Embutidos escaldados	22
5.2.1.1. Salchicha	23
5.2.2. CONSERVANTES NATURALES	27
5.2.3. CONDIMENTOS Y ESPECIAS	29
5.2.4. EMPAQUES TRIPAS ARTIFICIALES	30
5.2.5. CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA	30
5.2.6. NISINA	31
5.2.6.1. Control de bacterias patógenas y alterantes en carne cruda	32
5.2.6.2. Control de bacterias patógenas y alterantes en productos cárnicos cocidos	34
5.2.6.3. Aplicaciones en productos cárnicos fermentados	38
6. MATERIALES Y MÉTODOS	41
6.1. ENFOQUES DE LA INVESTIGACIÓN	41
6.2. DISEÑO EXPERIMENTAL	41
6.3. DISEÑO DEL TRATAMIENTO	41

	pág.
6.3.1. DISEÑO DEL EXPERIMENTO	42
6.3.2. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA	43
6.3.3. ANÁLISIS FÍSICOS	48
6.3.4. ANÁLISIS QUÍMICOS.	49
6.3.5. ANÁLISIS SENSORIAL	49
6.3.6. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	50
6.3.7. Análisis estadístico	52
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	53
7.1. RESULTADOS Y ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS	53
7.1.1. DISCUSIÓN DE RESULTADOS PARA LOS TRATAMIENTOS Y FORMULACIÓN CON SAL CURANTE DE NITRITO Y NISINA	53
7.1.1.1. Determinación de los análisis microbiológicos al inicio y final del almacenamiento.	53
7.2. RESULTADOS Y ANÁLISIS FISICOQUÍMICOS	58
7.2.1. DISCUSIÓN DE RESULTADOS PARA LOS TRATAMIENTOS CON FORMULACIÓN SAL CURANTE DE NITRITOS Y NISINA.	59
7.3. RESULTADOS Y ANÁLISIS SENSORIALES	65
7.3.1. DISCUSIÓN DE RESULTADOS PARA TRATAMIENTOS Y FORMULACIÓN CON SAL CURANTE DE NITRITO Y NISINA	65
8. CONCLUSIONES	72
9. RECOMENDACIONES	73
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
ANEXOS	77

LISTA DE TABLAS

	pág.
Tabla 1. Diseño experimental.	42
Tabla 2. Formulaciones para la elaboración de salchichas.	45
Tabla 3. Escala de valores para la aceptación o rechazo del producto.	50
Tabla 4. Requisitos microbiológicos para productos cárnicos procesados cocidos.	50
Tabla 5. Resultados de los análisis microbiológicos.	57
Tabla 6. Análisis estadístico de los tratamientos de salchicha con Sal Curante de Nitritos y nisina.	58
Tabla 7. ANOVA para Humedad por Tratamientos	59
Tabla 8. ANOVA para ceniza por tratamientos	60
Tabla 9. ANOVA para proteína por tratamientos	61
Tabla 10. ANOVA para Grasa por tratamientos	62
Tabla 11. ANOVA para pH por tratamientos	63
Tabla 12. Promedios de pH de tratamientos y formulaciones durante el almacenamiento de las salchichas.	63
Tabla 13. Análisis estadístico por tratamientos de las salchichas	65
Tabla 14. ANOVA para sabor por tratamientos	68
Tabla 15. ANOVA para olor por tratamientos	68
Tabla 16. ANOVA para color por tratamientos	69
Tabla 17. ANOVA para textura por tratamientos	70

LISTA DE FIGURAS

	pág.
Figura 1. Flujograma para la elaboración salchicha	47
Figura 2. Prueba de aceptación de los salchichas con el tratamiento T ₀	66
Figura 3. Prueba de aceptación de los salchichas con el tratamiento T ₁	66
Figura 4. Prueba de aceptación de las salchichas con el tratamiento T ₂	67
Figura 5. Prueba de aceptación de los salchichas con el tratamiento T ₃	67

LISTA DE ANEXOS

	pág.
Anexo A. Prueba de múltiples rangos para Humedad por tratamientos	78
Anexo B. Prueba de múltiple rango Tukey para Cenizas	79
Anexo C. Prueba de múltiple rango Tukey para proteína	80
Anexo D. Prueba de múltiple rango Tukey para GRASA	81
Anexo E. Prueba de múltiple rango Tukey para pH	82
Anexo F. Prueba de múltiple rango Tukey para Sabor	83
Anexo G. Prueba de múltiple rango Tukey para Olor	84
Anexo H. Prueba de múltiple rango Tukey para Color	85
Anexo I. Prueba de múltiple rango Tukey para Textura	86
Anexo J. Ficha técnica de la Nisina	87
Anexo K. Resultados de Análisis microbiológicos y resultados de pruebas Fisicoquímicas Proteína - Grasa	89
Anexo L. Resultado de análisis sensorial	97
Anexo M. Artículo Científico	98

RESUMEN

Se formularon, fabricaron y analizaron salchichas con carne de bovino empleando sal curante de nitrito y Nisina como conservantes, teniendo como objetivo general “la capacidad que tiene la nisina para destruir o inhibir el desarrollo de microorganismos patógenos y deteriorativos”. Se realizó en la ciudad de Valledupar del departamento del Cesar; se ejecutó en la planta piloto de carne y el centro de investigación para el desarrollo de ingeniería (CIDI) de la Universidad Popular del Cesar, durante los meses de octubre a noviembre del 2017. Se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos y tres repeticiones por tratamiento; el tratamiento testigo T_0 con 200 ppm de sal curante de nitrito de sodio, el tratamiento T_1 con 0 ppm de sal curante de nitrito y 25 ppm de nisina, el tratamiento T_2 con 0 ppm de sal curante de nitrito y 12.5 ppm de nisina, y el tratamiento T_3 con 15 ppm de sal curante de nitrito y 15 ppm de nisina; los análisis estadísticos se realizaron con el programa Statgraphics Centurión XVI, con un nivel de confianza del 95%. Se determinó la capacidad de conservación de las salchichas influenciado por la Nisina ante el crecimiento de todos los microorganismos que recomienda la NTC 1325 para productos cárnicos procesados cocidos. Los resultados microbiológicos de los microorganismos analizados están dentro de los parámetros permitidos por la norma excepto los aerobios mesófilos en los tratamientos T_0 (200ppm de nitrito) estuvieron dentro de los rangos solo el día 0 de la muestra, los tratamientos T_1 , T_2 , T_3 . Se mantuvieron estables el día 0 de la muestra, el día 10 y 20 tuvieron un incremento significativo que no se encuentran dentro de los rangos permitidos por la NTC 1325 e indicado por el instituto nacional de vigilancia de medicamentos y alimentos, **INVIMA**. El día 30 tuvo un descenso significativo pero no se mantuvieron dentro del rango permitido. Ver **CUADRO 1**. Para la determinación del tiempo de vida útil de las salchichas, se conservó las muestras del producto, almacenadas a $3^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ durante 30 días. En estos días de almacenamiento se realizó análisis fisicoquímicos, los tratamientos con mayor humedad fueron T_1 con 5,99%, y T_0 con 74,41%, con diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos

T₀ y T₃. En cenizas el tratamiento T₁ presentó el mayor porcentaje con 24,81 y no tuvo diferencia estadísticamente significativa con los otros tratamientos T₀, T₁ y T₂. En proteína el tratamiento T₀ fue el que presentó un mayor porcentaje con 12.70%, tuvo diferencias estadísticamente significativas con los tratamientos T₀, T₁. En grasa, el tratamiento T₀ (8,94%) tuvo diferencia significativa con el tratamiento T₀, T₁. En el pH el tratamiento T₂ con 6,81 presentó diferencia estadística con los demás tratamientos T₀ 6,69, T₁ 6,76 y T₃ 6,78. El análisis sensorial el tratamiento testigo T₀ con 3,66 no muestra diferencias estadísticas en el sabor con los tratamientos T₁, T₂ y T₃. El color el tratamiento testigo T₀ con calificación 3,25 los tratamientos T₁ y T₂ son iguales con 3,33 y T₃ 3,91 no hubo diferencias estadísticas significativa en ninguno de los tratamientos. El olor el tratamiento testigo T₀ 3,33 no muestra diferencia estadística con los tratamientos problemas T₁, T₂, T₃; en la textura el tratamiento testigo T₀ con 3,50 de calificación, no se diferenció estadísticamente con los tratamientos problemas T₁, T₂, T₃.

En general la vida útil del producto a los 30 días de almacenamiento no tuvo un comportamiento aceptable según la cantidad de microorganismos mostrado en los análisis microbiológicos ya que en los aerobios mesofilos aumentaba la carga microbiana al pasar de los días. Se demostró que la cantidad de Nisina no fue suficiente para inhibir el crecimiento de los aerobios mesofilos, debido a esto se observó un crecimiento progresivo en el producto.

Palabras claves: Salchicha, nisina, formulación, nitrito de sodio.

ABSTRACT

Sausages were formulated, manufactured and analyzed with bovine meat using nitrite and Nisin curing salt as preservatives, having as a general objective "the ability of nisin to destroy or inhibit the development of pathogenic and deteriorating microorganisms". It was carried out in the city of Valledupar of the department of Cesar; It was executed in the meat pilot plant and the research center for the development of engineering (CIDI) of the Universidad Popular del Cesar, during the months of October to November 2017. A completely randomized design was used with four treatments and three repetitions per treatment; the control treatment T0 with 200 ppm of sodium nitrite curing salt, the T1 treatment with 0 ppm of nitrite curing salt and 25 ppm of nisin, the T2 treatment with 0 ppm of nitrite curing salt and 12.5 ppm of nisin, and T3 treatment with 15 ppm nitrite curing salt and 15 ppm nisin; Statistical analyzes were performed with the Statgraphics Centurion XVI program, with a confidence level of 95%. The preservation capacity of sausages influenced by Nisin was determined before the growth of all microorganisms recommended by NTC 1325 for cooked processed meat products. The microbiological results of the microorganisms analyzed are within the parameters allowed by the standard, except the mesophilic aerobes in the T0 treatments (200ppm of nitrite) were within the ranges only on day 0 of the sample, treatments T1, T2, T3. They remained stable on day 0 of the sample, on day 10 and 20 they had a significant increase that are not within the ranges allowed by NTC 1325 and indicated by the national institute for surveillance of medicines and foods, INVIMA. On the 30th it had a significant decrease but they did not stay within the allowed range. See TABLE 1. For the determination of the useful life of the sausages, the samples of the product were stored at $3^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ for 30 days. In these days of storage physicochemical analysis was performed, the treatments with the highest humidity were T1 with 5.99%, and T0 with 74.41%, with a statistically significant difference between the treatments T0 and T3. In ashes, the T1 treatment presented the highest percentage with 24.81 and did not have a statistically significant difference with the other treatments T0, T1 and T2. In protein T0 treatment was the one that presented a higher percentage with

12.70%, had statistically significant differences with the treatments T0, T1. In fat, the treatment T0 (8.94%) had a significant difference with the treatment T0, T1. In the pH, the T2 treatment with 6.81 presented statistical difference with the other treatments T0 6.69, T1 6.76 and T3 6.78. The sensory analysis of the control treatment T0 with 3.66 did not show statistical differences in taste with the treatments T1, T2 and T3. The control treatment T0 color with qualification 3.25 treatment T1 and T2 are equal with 3.33 and T3 3.91 there were no significant statistical differences in any of the treatments. The odor of the control treatment T0 3.33 showed no statistical difference with the treatments problems T1, T2, T3; in the texture the control treatment T0 with 3.50 of qualification, did not differ statistically with the treatments problems T1, T2, T3.

In general, the shelf life of the product after 30 days of storage did not have an acceptable behavior according to the quantity of microorganisms shown in the microbiological analyzes since in the mesophilic aerobes the microbial load increased as the days went by. It was demonstrated that the amount of Nisin was not enough to inhibit the growth of mesophilic aerobes, due to this a progressive growth in the product was observed.

Keywords: Sausage, nisin, formulation, sodium nitrite

INTRODUCCIÓN

Existe últimamente una importante tendencia por parte de los consumidores de preferir y reclamar alimentos naturales con poco procesamiento y sin uso de conservantes sintéticos o no naturales. Siguiendo esta tendencia se ha tenido como resultado el interés y la apuesta en práctica de planificar y desarrollar alimentos con conservantes naturales que no sean nocivos para la salud del consumidor que cumplan con parámetros de óptima calidad y que tengan la aceptación de las normas vigentes de cada país para poder conseguir la seguridad microbiológica en el proceso de elaboración, comercialización y consumo por presentar alto espectro de efectividad contra los microorganismos patógenos y deteriorativos.

La industria alimentaria ha desarrollado la aplicación de bacteriozinas producto del metabolismo secundario de algunas bacterias ácido lácticas (BAL) en la conservación de los alimentos. Las bacteriozinas se pueden definir como péptido de origen proteínico que a bajas concentraciones presentan inhibiciones microbiológicas efectivas (Beshkova y frengova, 2012). Algunas BAL productoras de bacteriozinas han sido aisladas de alimentos como la carne y los productos lácteos, además se utilizan en la fermentación de algunos alimentos como iniciadores de los procesos fermentativos. Las BAL y/o bacteriozinas pueden ser utilizadas como conservadores biológicos puro que en algunos procedimientos podrían reemplazar a los conservadores sintéticos.

Muchas bacteriozinas son efectivas contra microorganismo patógeno que pueden generar enfermedades transmitidas por alimentos, *listeria Monocytogenes*, *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli* y *Salmonella spp*, (wa, et al, 2004, jeevaratnam et al, 2005), sin embargo, solo la nisina ha sido aprobada legalmente por su uso en alimento por la administración de alimentos y cosméticos, FDA (por sus siglas en inglés) en la categoría generalmente como seguras GRAS (por su sigla en inglés).

Debido a las razones expuestas anteriormente las bacteriozinas se han convertido en los últimos 25 o 30 años en un campo importante de estudio e investigación, por esta razón en el presente trabajo de investigación se pretende dar a conocer la acción y efectividad que puede tener la nisina sobre algunos microorganismos patógenos y deteriorativos que puede estar presente en un producto cárnico como la salchicha y que ayuda a aumentar la vida útil del producto elaborado y a la vez velar por la salud de los consumidores teniendo en cuenta la capacidad de conservación que puede tener la nisina sobre los productos cárnicos.

1. TITULO

UTILIZACIÓN DE LA NISINA COMO CONSERVANTE DE LA SALCHICHA TIPO PERRO BAJO CONDICIONES DE LA PLANTA PILOTO DE LA UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GENERAL

Determinar la capacidad que tiene la nisina para destruir o inhibir el desarrollo de microorganismos patógenos y deteriorativos elaborada bajo las condiciones de la planta piloto de la universidad popular del cesar.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analizar específicamente los microorganismos que eliminan o inhiben la nisina en el producto investigado, teniendo en cuenta la (NTC 1325).
- Comparar la capacidad de conservación que tiene la nisina con las sales del ácido nítrico (nitrito de sodio).
- Determinar la cantidad de nisina necesaria para destruir o inhibir los microorganismos causantes del deterioro del producto o que puedan afectar la salud del consumidor.
- Evaluar las características fisicoquímicas según lo establecido por la normatividad colombiana; igualmente las características sensoriales del producto elaborado empleando sales curante de nitrito.

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La nisina es un conservante muy importante para uso en las carnes, especialmente en climas cálidos o en los países en desarrollo donde el acceso a una refrigeración estable puede ser limitado. La nisina inhibe la reproducción de microorganismos de descomposición como las bacterias de putrefacción del ácido láctico, y contribuyen así a prolongar la duración y a mantener la calidad del alimento. Se ha utilizado también cada vez más como intervención primaria para desactivar o inhibir la proliferación de microorganismo patógeno de los alimentos como la *listeria*, los *Estafilococos* y las *Microbacterias*. Así como las bacterias productoras de esporas como los *Bacillus* y *clostridium* con esto se logra el aumento de la inocuidad de los alimentos.

La nisina es reconocida internacionalmente como un agente antimicrobiano con una larga trayectoria de uso inocuo, actualmente está aprobada en una alta variedad de productos alimentarios como postres, lácteos, conservas de hortalizas y sopas, productos de panadería en muchos países del mundo y quesos. La eficacia de la nisina como antimicrobiano en el empleo de los alimentos se encuentra muy bien documentadas. La nisina es eficaz con las bacterias Gram (+), y también se ha demostrado su eficiencia con bacterias Gram (-) cuando se aplica con el sistema de la tecnología de barrera (aplicación simultánea de varios procesos u obstáculos) en beneficio de la inocuidad y conservación de los alimentos. La estabilidad de la nisina es óptima a un pH 3; el proceso de cocción especialmente en un pH elevado o neutro, puede dar lugar a una descomposición considerable de la nisina.

El Consejo Internacional de Aditivos Alimentarios (IFAC) en el 2014, considera que la utilización de nisina como conservante en dosis de uso hasta de 25 mg/kg se justifica tecnológicamente y debería permitirse en productos cárnicos de aves de corral y caza elaborados tratados térmicamente en piezas enteras o corte, al igual que para carne curada cocida. La carne (incluida la de ave de corral) y los productos cárnicos son alimentos microbiológicos sensibles, su elevado contenido de agua y

proteínas, la presencia de otros componentes solubles en agua y otras propiedades intrínseca proporciona un medio de ricos nutrientes favorables a la proliferación de microorganismos patógenos y de descomposición, los propios animales, el medio ambiente y las condiciones de elaboración, contribuyen en conjunto a la variedad de microflora presente en los productos elaborados a base de carnes (FAO / OMS, 2015).

En la presente investigación se pretende mirar la eficiencia e importancia que tiene la nisina como conservante natural proveniente de las bacterias ácido láctica (BAL) en un producto cárnico tipo salchicha elaborado bajo las condiciones de la planta piloto de carne de la universidad popular del cesar teniendo en cuenta además la influencia que esta nisina puede tener en las características sensoriales y fisicoquímicas.

Con lo anterior dicho se podría realizar la pregunta que a continuación se plantea ¿podría la nisina controlar el desarrollo o inhibir el crecimiento de microorganismos causante del deterioro de la salchichas y bacterias patógenas que se pueden presentar en el producto cárnico investigado sin afectar su calidad fisicoquímica y sensorial?

4. JUSTIFICACIÓN

Las bacteriocinas de las BAL y sus cepas productora pueden ser utilizadas para mejorar la calidad y conservación de los alimentos (Thomas et al, 2000; Galvez et al, 2007. Galvez et al 2008 settani y corsertti, 2008). Entre las ventajas que presentan su uso están en que son reconocidas generalmente como sustancias seguras; no son activas toxicas frente a células eucariotas; son inactivadas por encimas proteolíticas; son en general estables en amplios intervalos de pH y temperatura; presentan un modo de acción de bactericida actuando sobre la membrana citoplasmática bacteriana, lo que significa que por lo general no presentan resistencia cruzada con los antibióticos de uso clínico ya que actúan sobre Dianas celulares diferentes y sus determinantes genéticos están mayoritariamente localizados en plásmidos.

En Latinoamérica según el reporte del sistema de información de la OPS (organización panamericana de la salud), para la vigilancia transmitidas por alimentos durante los últimos años se recibieron 6,511 informes de brotes de ETA de 22 países de la región (incluyendo Cuba que reporto más del 54% de los informes totales). En general, cerca de 250mil personas se enfermaron en estos brotes y murieron 317. El 37% del total de los brotes notificados; ocurrieron en Asia, el 29% de los mismos no se realizó análisis por el laboratorio para identificar los agentes causados.

En los brotes de ETA con etiología confirmaron el 57% se atribuyeron a bacterias, el 12% correspondió a virus y el 21% toxinas marinas. El 10% restante correspondió a crisis causadas por parásitos, contaminantes químicos o toxinas de las plantas. Los productos alimenticios más comúnmente asociados a los brotes fueron: peces (22%), agua (20%) y carne de res (14%) según los datos de los brotes son agentes causantes confirmados por el laboratorio, *Salmonella* fue una de las bacterias que con más frecuencia se reportó, en 20% de los brotes. (INS-2010)

En la ciudad de Bogotá en 2010 enfermaron 2,715 personas por ETA enfermedades transmitidas por alimentos de los cuales 24 % fueron hospitalizadas y murieron 2

personas, del 28% de los brotes estudiados en muestras clínicas y el 32% se realizaron posiblemente involucrados. En los brotes donde se logró la identificación del agente causal, el 18% correspondió a *coliformes totales* y el 14% a *salmonella spp.* En éste, 14% de los análisis no identificaron ningún agente. (Instituto nacional de la salud (INS), 2010). En Colombia en el 2010, se notificaron al sistema de vigilancia por archivos planos (colectivos) 11,563 causas de ETA, involucrados en 761 brotes los alimentos más frecuentes asociados con brotes de ETA fueron: alimentos mixto, seguidos por queso, arroz con pollo, carne y sus derivados y productos de pesca y sus derivados. El lugar de consumo implicado en la ocurrencia de brotes de ETA corresponde al hogar (49%) seguido de establecimiento educativo (14%) y restaurante comercial (9%) los agentes etiológicos más prevalentes detectados en muestras biológicas en alimentos, en superficies y en manipuladores de alimento. *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *salmonella ssp* y hongos entre otros. (Instituto nacional de salud 2011).

Dentro del grupo de bacteriocinas la nisina es la más estudiada. Es un agente antimicrobiano natural utilizado ampliamente a nivel mundial para controlar el deterioro en alimentos este pequeño péptido es efectivo contra un grupo de bacterias Gram (+) tanto sobre sus células vegetativas como son sus esporas. Los embutidos cocidos son productos cárnicos de consumo frecuente en nuestra población, tales productos son susceptibles al ataque de microorganismos alterantes y patógenos Gram (+) y Gram (-). Estos crecen sin dificultad a temperatura de refrigeración y en ausencia de oxígeno, su desarrollo podría controlarse con el agregado de bacteriocinas (Palavecino et al, 2008).

El objetivo de este presente trabajo fue evaluar la sensibilidad o capacidad destructiva que tiene la nisina con la flora contaminante en embutidos y determinar la cantidad mínima que puede inhibir la flora microbiana con la adición de esta bacteriocina.

5. MARCO TEÓRICO

5.1. ANTECEDENTES

Grande Burgos M. J. et al., 2011: realizaron una revisión bibliográfica destacando la importancia que tiene las bacteriozinas y las cepas bacterianas que las produce para la conservación de los alimentos por métodos naturales (Bioconservacion) en productos cárnicos incluyendo la materia prima hasta productos elaborados en donde destacan los estudios que han utilizado bacteriozinas como nisina, pediosina y otras solas o aplicada ampliadas con otras antimicrobianas (como ácidos orgánico) o tratamientos como (calor, las altas presiones o la luz pulsada) para la activación de bacterias patógenas o alterantes. Los resultados de muchos de estos tratamientos son bastante prometedores como por ejemplo el empleo de recubrimientos protectores en salchichas.

Beristain,B.S.C et al.,2012: Realizaron una revisión bibliográfica sobre las bacteriozinas indicando su carácter antimicrobiano naturales y la aplicación que ellas tienen en los alimentos. En esta revisión definieron lo que son las bacteriozinas y el uso que actualmente se le da en la conservación de los alimentos como un conservante natural. En la presente revisión los autores presentaron un panorama general del concepto de bacteriozinas, su clasificación, actividad antimicrobiana, modo de acción y principalmente la importancia de su aplicación en la industria alimentaria.

Se hace hincapié en la importancia que tiene actualmente, estas bacteriozinas se resalta la intensión que tiene muchos investigadores en continuar ampliando la variedad de bacteriozinas y en promover su aplicación como un sustituto de los conservantes sintéticos en alimentos.

Herrero S.M.E et al., 2012: en su trabajo de grado evaluación de bacteriofagos y bacteriozinas para la eliminación de *listeria monocytogenes*, para optar el título de master universitaria en biotecnología alimentaria.

Hizo un estudio de la capacidad lítica de dos bacteriófagos FWLLm1 y FWLLm3 como posible método de biocontrol frente a las *listeria monocytogenes* con el mismo objetivo valoro el efecto antimicrobiano de dos. Bacteriozinas como la nisina y cuabulina C23 y el uso y el uso que se le dio combinándolas con los bacteriófagos procurando un efecto sinérgico.

Se obtuvo como resultado que el uso individual de los bacteriófagos al igual que las bacteriozinas produce disminución del crecimiento microbiano de dichas bacterias con respecto al cultivo control. Seguidamente se observó el crecimiento de bacterias de resistentes a los antimicrobianos. En la combinación de bacteriófagos y bacteriozinas, solo en el caso del fago FWLLm3 se observó un efecto sinérgico con ambas bacterias en particular con cuabulina C23, y en las condiciones fijadas, la inhibición de *listeria monocytogenes* es total.

Lozano R.A.G et al., 2009: en el estudio que se realizaron evaluaron y analizaron el desarrollo microbiano bajo diferentes combinaciones de conservadores, utilizaron un diseño factorial completamente aleatorio estudiando el efecto de 3 factores. 1) Cepas de *lc. Mesentroides* productos deteriorados y empresa empacadora; 2) conservador nisina (10ppm) ácido láctico (5%) ácido cítrico (5%), mezcla nisina - ácido láctico y una mezcla nisina - ácido cítrico pH 5,5 y 6, dado el nivel de pH en la salchicha empacada al vacío por triplicado se inoculo (10^4 células/ml) caldo MRS con el tratamiento indicado. Los resultados se evidenciaron que tanto la nisina como el ácido orgánico a la concentración evaluada son eficientes para controlar el desarrollo *lc. Mesentroides* en caldo de cultivo. Fue posible obtener la heterogeneidad en comportamiento que supone las diferentes sepas evaluadas. EL pH supone un efecto sobre el desarrollo en el núcleo del cultivo a un sin conservar siendo el pH 6 o el que presenta menor efecto. El tratamiento con nisina a 10 ppm sugiere una alternativa viable para el control de determinados embutido.

5.2. MARCO REFERENCIAL

Las bacteriocinas, así como las cepas bacterianas que las producen, han sido ampliamente estudiadas para la conservación de los alimentos por métodos naturales (bioconservación). En productos cárnicos (abarcando toda la gama, desde la materia prima hasta productos elaborados) se han desarrollado numerosos estudios empleando bacteriocinas como nisina, pediocinas y otras, bien solas o aplicadas con otros antimicrobianos (como ácidos orgánicos o agentes quelantes) o tratamientos (como el calor, las altas presiones o la luz pulsada) para la inactivación de bacterias patógenas o alterantes. Los resultados de muchos de estos tratamientos son bastante prometedores, como por ejemplo el empleo de bacteriocinas como recubrimientos protectores en salchichas. Las cepas de bacterias lácticas seleccionadas por su capacidad productora de bacteriocinas ofrecen buenas perspectivas como cultivos protectores, pero sobre todo como cultivos iniciadores en la elaboración de productos cárnicos fermentados, mejorando la seguridad microbiológica de los mismos. El empleo de cultivos iniciadores bacteriocinogénicos con propiedades funcionales definidas abre nuevas vías para la innovación y el desarrollo de nuevos productos cárnicos fermentados.

5.2.1. Embutidos escaldados

Los embutidos escaldados son aquellos cuya pasta es incorporada cruda, sufriendo el tratamiento térmico (cocción) y ahumado opcional, luego de ser embutidos; estos son de vital importancia agroindustrial ya que son de consumo común entre la población.

Los embutidos son preparados a partir de carne picada o no, sometidos a distintos procesos e introducidos en tripas. Pueden estar crudos o escaldados.

Los escaldados son picados más finos y sometidos a la acción del agua entre 70 y 80 grados y posteriormente ahumados o no (salchichas, butifarra). El

valor nutricional de los primeros, en general, es mayor que el de los segundos, aunque pueden variar en todos ellos el contenido en grasa. (Mauricio Algumedo Garcia, 2010).

Los embutidos escaldados se fabrican a partir de carne de vacuno, cerdo y ternera cruda y picada, grasa con inclusión de carne de cordero así como determinado despojos y viseras, la carne se somete a un curado previo antes de ser picada o después del troceado inicial.(Pince J.F 1976).

Después se añade sal, condimentos y agua, y se somete a la acción de la cutter, para conseguir una pasta unida, finalmente se embute la masa en tripas adecuadas, se ahúma en caliente y se escalda.

Según el método, el sabor de la carne mediante el empleo de especias, el modo de presentación, el grado de salazón, curación, desecación y ahumado. Una clasificación de los productos cárnicos es la siguiente:

- Embutidos crudos: chorizos y longanizas.
- Embutidos escaldados: salchichas.
- Embutidos cocidos: queso de puerco y morcilla o rellena.
- Carnes curadas: jamón, tocino y chuleta.

5.2.1.1. Salchicha

La salchicha es un producto cárnico escaldado, cocido y curado de masa homogénea, elaborado a base de carne de cerdo, vacuno, pollo u otras especies y adicionada con grasa, agua, sal, aditivo y otros ingredientes permitidos introducidos en tripas artificiales aprobadas con 45 mm. (tecnoalimentos.com 2009).

5.2.1.1.1. Características de la salchicha

La masa final de este tipo de salchicha presenta un aspecto pastoso, su armazón está formado por pequeñas fibras musculares aun intactas, los tejidos conjuntivos y las células de grasa. Según su composición la salchicha se puede calificar en Premium, seleccionada o estándar.(Montañez Catalina y Perez Irma2007).

- **Materia prima para la elaboración de salchichas**

1. Carnes

Parte muscular de los animales de abasto constituida por todos los tejidos blandos que rodean el esqueleto incluyendo nervios, y aponeurosis, y que haya sido declarada apta para el consumo humano antes y después de matanza o faenado por la inspección veterinaria oficial. Además se considera carne al diafragma, no así, los músculos del aparato iodeo, corazón, esófago y lengua.

Ingrediente principal de los embutidos es la carne que suele ser de cerdo o vacuno, aunque realmente se puede utilizar cualquier tipo de carne animal. También es bastante frecuente la utilización carne de pollo.(Montañez Catalina y Perez Irma2007).

2. Grasas

Es el tejido adiposo de los animales de abasto y sus funciones son dar sabor, aroma, color y jugosidad a los productos carnicos. La más utilizada es la grasa de cerdo. En los animales hay dos tipos de grasa que son la orgánica que encuentra en el riñón, las vísceras y el corazón; es una grasa blanda que sirve para obtener manteca. La grasa de los tejidos como la dorsal, la de la pierna y la papada, es una grasa

resistente al corte o dura, se utiliza para la elaboración producto cárnico y la obtención de la manteca. La calidad de la grasa para la industria cárnica se valora de acuerdo con su blancura, dureza, resistencia a la fusión y al enranciamiento. (Montañez Catalina y Perez Irma2007).

- **Materias primas no cárnicas**

1. Aditivos

Los aditivos alimentarios que se emplean en la elaboración de productos cárnicos deben ser inocuos para el manipulador y consumidor final.

Su aplicación debe estar regulada por normas de aplicación universal, deben desempeñar una función útil, no deben alterar el valor nutricional del alimento, y su inclusión no debe buscar “enmascarar “problemas microbiológicos, organolépticos o nutricionales del producto.

Los aditivos se pueden considerar sustancias currantes por que mejoran el poder de conservación, el aroma, el color, el sabor y la consistencia. Además, contribuyen para obtener un mayor rendimiento en peso, por su capacidad fijadora de agua. (Montañez Catalina y Perez Irma2007).

2. Nitrato y nitritos

Los nitratos y nitritos desempeñan un importante papel en el desarrollo de características esenciales en los embutidos, ya que intervienen en la aparición del color rosado característico de estos, dan un sabor y aroma especial al producto y poseen un efecto protector sobre determinados microorganismos como Clostridium botulinum. (Montañez Catalina y Perez Irma2007).

- **Principal aplicación en productos cárnicos:**

- Inhibición de microorganismos potencialmente patógenos, principalmente el *Clostridium botulinum*.
- Estabilización del color rojo de carne curada
- Desarrollo de aroma y del sabor típico de carne curada
- Efecto antioxidante. Retardan la producción de aromas indeseables en carnes curadas.
- El nitrito es más efectivo a < pH
- En comparación con otros conservantes, la utilización de nitratos y nitritos está restringida a un número limitado de alimentos (productos cárnicos, algunos quesos tipo Edam y Gouda).

Ayudan al proceso de curado de las carnes, mejoran el poder de conservación, el aroma, el color, el sabor y la consistencia. Además sirven para obtener un mayor rendimiento en peso, porque tienen una capacidad fijadora de agua. Pero lo más importante, es que el nitrato protege a las carnes del “Botulismo”, una de las peores formas de envenenamiento que conoce el hombre. Los nitratos y nitritos se usan en cantidades muy pequeñas y debe tenerse cuidado de no exceder la cantidad recomendada porque puede echar a perder sus productos. Aquí conviene aclarar que cuando el productor desee modificar la receta de elaboración, debe respetar la cantidad señalada de nitratos y nitritos. Un nombre comercial de los nitratos y nitritos es “Cura Premier”. (López V. 2008).

Efectos negativos para la salud

Entre los conservantes más polémicos destacan las sales de nitrato y nitrito. El principal efecto del nitrito es que reacciona con la hemoglobina formando metahemoglobina. Los nitritos pasan por el torrente sanguíneo fijándose a la hemoglobina de la sangre la cual reduce a la metahemoglobina que inhibe el transporte de oxígeno. Esta enfermedad se caracteriza por dificultad respiratoria, que en ocasiones termina en asfixia.

Los más propensos en sufrir esta intoxicación son los niños menores de un año cuando la concentración normal de metahemoglobina se eleva a 10% se presenta como primera manifestación clínica cianosis. Concentraciones superiores al 30 o 40% producen signos de falta de oxígeno que puede llegar al estado de coma. Para los adultos es peligroso porque al reaccionar los nitritos con proteínas o derivados de ellas se llegan a formar nitrosaminas, compuestos asociados a una acción cancerígena (García et al., 1994, citado por Poppe, 2008). 2003).

5.2.2. CONSERVANTES NATURALES

Es un conservante alimentario natural de alta eficiencia, seguro sin toxinas y efecto secundarios, la nisina puede inhibir la mayoría de bacterias gran-positivas, sobre todo tiene gran efecto de inhibición contra bacterias gram-positivas con *bacillus* tales como *bacillus subtilis* y *bacillus stearothermophilus*. También la nisina puede inhibir el crecimiento de algunas bacterias gram-positivas tales como *salmonella*, *basilo de colon* y *psedomonas*. Actualmente siendo como el antiséptico, la nisina se aplica ampliamente a la industria alimentaria, puede bajar la temperatura de esterilización, reducir el tiempo de esterilización y la fuga de nutrición, aumentar la calidad de alimentos y alargar el tiempo de conservación. La nisina se usa para antisepsia y conservación de productos lácteos, carnes,

comidas en lata, productos de proteína vegetal (incluidos productos de soja), cervezas, vinos, productos alcohólicos.

1. Sal (NaCl)

La cantidad de sal utilizada en la elaboración de embutidos varía entre el 1 y 1.7%. Esta sal adicionada desempeña las funciones de dar sabor al producto, actuar como conservante, solubilizar las proteínas y aumentar la capacidad de retención del agua de las proteínas. La sal retarda el crecimiento microbiano pero favorece el enranciamiento de las grasas. (Montañez Catalina y Perez Irma2007).

2. Fosfatos (polifosfato P205)

Su principal función es la retención de agua de los productos, al contribuir en la solubilización de las proteínas cárnicas, lo que le ofrece una estructura elástica y agradable al producto terminado. Otras funciones de los fosfatos son: Emulsifican la grasa, disminuyen las pérdidas de proteínas durante la cocción y reducen el encogimiento.(Montañez Catalina y Perez Irma2007).

3. Ácido Ascórbico

Se describe el ácido ascórbico como vitamina C que actúa como agente reductor y antioxidante, propiedad que se aprovecha para retardar la decoloración y pérdida del sabor fresco durante el almacenamiento y la distribución. Según Coretti en 1971, en pescados el ácido ascórbico tiene una ventaja frente al ascorbato de acelerar todavía más el enrojecimiento y aceleración con el nitrito.

4. Aglutinantes

Los aglutinantes son sustancias que se esponjan al incorporar agua, con lo que facilitan su capacidad fijadora; además, mejoran la cohesión de las partículas de los diferentes ingredientes. Son sustancias como la sémola de cebada y de trigo, gelatina, harina de soya y huevos. La corteza molida del tocino también tiene una acción aglutinante por su contenido de gelatina.(Trillas, 2007)

5. Agua y Hielo

El agua, líquida o sólida, es uno de los ingredientes importantes en la elaboración de productos cárnicos.

Sus funciones son:

- Ayuda a disolver la sal y demás ingredientes.
- Contribuye en la estabilidad de las emulsiones cárnicas al mantener baja temperatura de la masa.
- Disminuye costos de producción

5.2.3. CONDIMENTOS Y ESPECIAS

La adición de determinados condimentos y especias da lugar a la mayor característica distintiva de los embutidos crudos curados entre sí. Normalmente se emplean mezclas de varias especias que se pueden adicionar enteras o no. Además de impartir aromas y sabores especiales al embutido, ciertas

especies como la pimienta negra, el pimentón, el tomillo o el romero y condimentos como el ajo, tienen propiedades antioxidantes. (Montañez Catalina y Perez Irma2007).

5.2.4. EMPAQUES TRIPAS ARTIFICIALES

Las tripas artificiales son elaboradas por distintos materiales tales como el colágeno comestible, colágeno no comestible, celulosa y plástico. Las tripas o fundas no comestibles deben ser removidas del producto antes de su consumo (Amerling, 2001).

- **Ventajas de tripas artificiales**

- Largos períodos de conservación.
- Calibrado uniforme.
- Resistentes al ataque bacteriano.
- Resistentes a la rotura.
- Algunas impermeables (cero mermas).
- Otras permeables a gases y humo.
- Se pueden imprimir.
- Se pueden engrapar y usar en procesos automáticos.
- No son tóxicas.
- Algunas son comestibles (colágeno).

5.2.5. CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA

La capacidad de retención de agua (CRA) se define como la capacidad que tiene la carne para retener el agua libre durante la aplicación de fuerzas externas, tales como el corte, la trituración y el prensado. Muchas de las propiedades físicas de la carne

como el color, la textura y la firmeza de la carne cruda, así como la jugosidad y la suavidad de la carne procesada, dependen en parte de la capacidad de retención de agua. La CRA es particularmente importante en productos picados o molidos, en los cuales se ha perdido la integridad de la fibra muscular y, por lo tanto, no existe una retención física del agua libre. Las pérdidas de peso y palatabilidad son también un efecto de disminución de la CRA. En los productos procesados es importante tener una proporción adecuada de proteína/agua, tanto para fines de aceptación organoléptica como para obtener un rendimiento suficiente en el peso del producto terminado.

5.2.6. NISINA

Las bacteriocinas, así como las cepas bacterianas que las producen, han sido ampliamente estudiadas para la conservación de los alimentos por métodos naturales (bioconservación). En productos cárnicos (abarcando toda la gama, desde la materia prima hasta productos elaborados) se han desarrollado numerosos estudios empleando bacteriocinas como nisina, pediocinas y otras, bien solas o aplicadas con otros antimicrobianos (como ácidos orgánicos o agentes quelantes) o tratamientos (como el calor, las altas presiones o la luz pulsada) para la inactivación de bacterias patógenas o alterantes. Los resultados de muchos de estos tratamientos son bastante prometedores, como por ejemplo el empleo de bacteriocinas como recubrimientos protectores en salchichas. Las cepas de bacterias lácticas seleccionadas por su capacidad productora de bacteriocinas ofrecen buenas perspectivas como cultivos protectores, pero sobre todo como cultivos iniciadores en la elaboración de productos cárnicos fermentados, mejorando la seguridad microbiológica de los mismos. El empleo de cultivos iniciadores bacteriocinogénicos con propiedades funcionales definidas abre nuevas vías para la innovación y el desarrollo de nuevos productos cárnicos fermentados. (M^a José Grande Burgos, r. Lucas, M^a).

5.2.6.1. Control de bacterias patógenas y alterantes en carne cruda

Las bacteriocinas han sido ensayadas en la conservación de carne cruda, o bien en combinación con otros antimicrobianos para la descontaminación y/o inhibición del crecimiento bacteriano en carne fresca almacenada. Se han aplicado en forma de lavado, pulverización o inmersión en soluciones de bacteriocina sola o en combinación con otros agentes antimicrobianos para potenciar su actividad. Para incrementar la eficacia de los tratamientos, y también para evitar la contaminación cruzada, la carne cruda tratada ha sido congelada, envasada en diferentes condiciones atmosféricas tales como el envasado al vacío, atmósferas modificadas, o envasado activo con agentes secuestradores de O₂ o sistemas generadores de CO₂ (Coma, McMillin, 2008).

También se han utilizado métodos adicionales como la irradiación en dosis bajas, descontaminación de la superficie con luz UV o las altas presiones (Aymerich et al., 2008). Todos estos tratamientos durante el procesado actúan sobre la microbiota inicial y pueden actuar sinérgicamente con las bacteriocinas para aumentar la seguridad y vida útil del alimento. Aunque los productos de carne cruda son procesados antes de su consumo mediante tratamientos que normalmente destruyen las bacterias patógenas, éstos pueden ser una fuente considerable de contaminación cruzada e incluso en algunos casos pueden producir toxinas microbianas termoestables.

La nisina ha sido ampliamente estudiada en la conservación de carne cruda (Thomas et al., 2000).

Sin embargo, la aplicación de nisina en carne presenta algunas limitaciones derivadas de su baja solubilidad a pH próximo a neutralidad, interacción con los fosfolípidos y la inactivación por el glutatión (Thomas et al., 2000; Stergiou et al., 2006).

Sin embargo, en la descontaminación de la superficie de carne cruda los mejores resultados se obtuvieron combinando nisina junto con otros agentes antimicrobianos tales como ácidos orgánicos, quelantes, lisozima, envasado al vacío, o envasado en

atmósfera modificada, antes de la elaboración y envasado el producto, produciéndose un incremento en la inactivación de *L. monocytogenes*, *Brochothrix thermosphacta* y *Escherichia coli* O157:H7. El tratamiento de carne cruda con pediocinas. (Especialmente pediocina PA-1/Ach) también puede inhibir el crecimiento de bacterias Gram-positivas (por ejemplo, *B. thermosphacta*) y/o reducir las poblaciones de *L. monocytogenes* y *Clostr. perfringens* (Rodríguez et al, 2002; Nieto-Lozano et al., 2006).

Otras bacteriocinas tales como sakacinas, carnobacteriocinas, bifidocinas, lactocinas, lactococcinas o pentocinas muestran una actividad variada frente a bacterias patógenas o alterantes en carne o volatería crudas (Aymerich et al, 2008;. Gálvez et al, 2008.). En carne picada, la combinación de bacteriocinas junto con aceites esenciales procedentes de plantas (empleados a baja concentración para paliar el sabor demasiado intenso de algunos de ellos) está siendo considerada como una forma de aumentar la inactivación de *L. monocytogenes*, y también para inhibir a *Salmonella Enteritidis* (Solomakos et al., 2008; Govaris et al., 2010).

Una forma interesante de incrementar la efectividad de las bacteriocinas en carne cruda ha sido mediante inmovilización en sustratos (como perlas, liposomas, recubrimientos o películas). La nisina (sola o en combinaciones con ácido cítrico, EDTA y Tween 80) incorporada en una gran variedad de sustratos (tales como geles de alginato cálcico, revestimientos de agar, películas palmitoladas de alginato, cloruro, de polivinilo, polietileno de baja densidad o nylon) mostró una gran actividad inhibitoria frente a bacterias como *L. monocytogenes*, *B. thermosphacta*, *S. aureus* o *S. Typhimurium* en carne cruda refrigerada (Chen y Hoover, 2003; Aymerich et al., 2008; Gálvez et al., 2007, 2008). La combinación del almacenamiento a temperatura próxima al punto de congelación junto con el empleo de envases antimicrobianos ha demostrado ser eficaz en la mejora de la calidad microbiológica de piezas de carne, inhibiendo a BAL, *carnobacterias* y *B. thermosphacta* (Ercolini et al., 2010).

Dado que muchas BAL asociadas con productos cárnicos pueden crecer a temperaturas de refrigeración, aquellas cepas productoras de bacteriocinas carentes de efectos adversos sobre la carne pueden ser seleccionadas como

cultivos protectores para la conservación de carne cruda. En trabajos anteriores se ha demostrado la eficacia de cepas de *Lactobacillus sakei* y *Lactobacillus curvatus* productoras de bacteriocinas en la inhibición de *L. monocytogenes* o *B. thermosphacta* en productos cárnicos crudos (Castellano et al., 2008). Las cepas de *Lb. sakei* productoras de inhibidores de tipo bacteriocina retrasaron la aparición de hinchazón en los envases provocada por *Clostridium estertheticum* e inhibieron el crecimiento de *Campylobacter jejuni* en carne de vacuno (Jones et al., 2009). En carne de pollo, el cultivo protector de *L. fermentum* ACA-DC179 consiguió disminuir el crecimiento de *S. enteritidis* (Maragkoudakis et al., 2009).

La carne de vacuno fresca inoculada con *Lb. curvatus* CRL705 como cultivo protector mostró un aumento neto de los aminoácidos libres, debido a la actividad complementaria de las proteasas bacterianas sobre las proteínas sarcoplásmicas de la carne, por lo que se propuso que este cultivo protector podría contribuir a la maduración de la carne y a la vez mejorar su vida útil (Fadda et al., 2008).

5.2.6.2. Control de bacterias patógenas y alterantes en productos cárnicos cocidos

Los productos de carne cocida se comercializan como alimentos listos para consumo. Puede tratarse de piezas de carne enteras, pero lo más común es que se trate de productos elaborados mediante mezcla y picado de trozos secundarios de carne, grasa, órganos animales, o sangre con otros ingredientes, seguido por el relleno/moldeo y cocción. El proceso de cocción inactiva la microbiota natural, lo que facilita el camino para el crecimiento de microorganismos contaminantes tras la etapa de procesado.

Los valores de pH de la mayoría de los productos cárnicos cocidos son compatibles con el crecimiento de bacterias patógenas y alterantes, que pueden proliferar a temperaturas de refrigeración durante la vida útil del producto. Algunos de estos productos también pueden ser sometidos a procesos adicionales tales como corte, retirada de recubrimientos, y envasado, lo que aumenta los riesgos de

contaminación cruzada (Murphy et al., 2005). Las preparaciones de bacteriocinas como pediocina o nisina ofrecen grandes oportunidades de mercado como barreras frente a patógenos y bacterias alterantes en productos cárnicos cocidos. Los principales estudios realizados están enfocados a la adición de preparaciones de bacteriocina a las suspensiones de carne antes del proceso de calentamiento, aplicación de bacteriocinas en superficie antes del envasado, o la aplicación de películas o recubrimientos que contienen bacteriocinas. (Grande M, lucas, 2010)

Algunas cepas de BAL (sobre todo *Lactobacillus* y *Leuconostoc*) son consideradas como el principal grupo de bacterias alterantes en varios tipos de carne envasada al vacío, provocando cambios sensoriales típicos tales como agriado, producción de gas, SH₂ o limo (Korkeala et al., 1988; Björkroth y Korkeala., 1997). Estas BAL contaminan rápidamente los productos cárnicos durante su manipulación y loncheado (Lucke, 2000).

Las enterocinas A y B inhiben la producción de limo por *Lb. sakei* en lonchas de jamón de cerdo cocido envasadas a vacío, y la nisina previene la formación de limo por *Leuconostoc carnosum* (Hugas et al., 2003; Aymerich et al., 2008). Cuando las bacteriocinas anteriores y la pediocina PA-1/AcH se incorporaron mezcladas en el jamón cocido en combinación con un tratamiento por alta presión hidrostática, sólo la nisina evitó la reaparición de *L. carnosum*. El tratamiento combinado con alta presión y nisina aumentó la inactivación de *E. coli* y evitó su reaparición durante el almacenamiento (Garriga y col., 2002). La nisina también fue la bacteriocina que causó una mayor disminución de los *Estafilococos*, pero sin embargo no impidió el crecimiento de *L. monocytogenes* (mientras que enterocinas como sakacina y pediocina si lo hicieron). Estos resultados muestran la eficacia variable de las diferentes bacteriocinas dependiendo de las bacterias diana y las condiciones de procesamiento del alimento.

La eficacia de la nisina y la lacticina 3147 contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas en embutidos (tales como los de carne de cerdo, jamón cocido o salchichas bologna) aumentó en combinación con la adición de ácidos orgánicos, lisozima, y EDTA. Del mismo modo, las combinaciones de pediocina con diacetato

de sodio o lactato de sodio incrementaron la inhibición de *L. monocytogenes* en salchichas de Frankfurt o de *L. monocytogenes* y *Yersinia enterocolitica* en trozos de carne de ave cocidos almacenados en atmósfera modificada a 3,5 ° C (O'Sullivan et al., 2002; Cheny Hoover, 2003; Aymerich et al., 2008; Gálvez et al., 2008). Estos resultados facilitaron el camino para la aplicación de recubrimientos envases tratados o activados con mezclas de sustancias antimicrobianas en productos cárnicos listos para el consumo (Coma, 2008). Las películas activadas con bacteriocinas pueden ser muy apropiadas para productos cárnicos cocidos, actuando como barreras frente a la contaminación externa del producto elaborado. Entre los distintos tipos de recubrimientos comestibles que han sido ensayados en productos envasados al vacío (tales como salchichas o jamón cocido) los mejores resultados se obtuvieron para recubrimientos que contenían nisina en combinación con otros antimicrobianos durante el almacenado en frío del producto. Un estudio reciente demostró que las películas de celulosa que contienen pediocina PA-1/AcH retrasan el crecimiento de *Listeria* en el jamón cocido envasado al vacío almacenado a 12 ° C simulando temperaturas abusivas como las que pueden darse en los supermercados (Santiago-Silva et al., 2009).

La aplicación de bacteriocinas sobre la superficie del producto en combinación con tratamientos posteriores al envasado es otro aspecto de interés. La aplicación de bacteriocina seguida de la aplicación de un tratamiento térmico al producto envasado puede proporcionar una combinación eficaz para controlar a *L. monocytogenes* en productos tales como salchichas o mortadela de pavo, como en el caso de los estudios realizados con pediocina, nisina, nisina-lisozima o combinaciones de estas bacteriocinas con lactato sódico/diacetato sódico (Chen et al., 2004b; Mangalassary et al., 2008).

En salchichas, la aplicación de un baño de Nisaplina seguido por la exposición a la luz pulsada (9,4 J/cm²) redujo la población de *Listeria innocua* e inhibió el crecimiento microbiano durante el almacenamiento del producto bajo refrigeración (Uesugi y Moraru, 2009). Debido a que la aplicación de la luz pulsada está aceptada para la descontaminación de las superficies de los alimentos, el tratamiento

combinado podría ser aplicado como una etapa de post-procesamiento para reducir la contaminación superficial y aumentar la seguridad de los productos cárnicos listos para el consumo. La aplicación de tratamientos con bajas dosis de irradiación sobre salchichas previamente tratadas con pediocina o sobre carne de pavo lista para consumo envasada al vacío recubierta con una película de pectina-nisina aumentó la inactivación de *L. monocytogenes* en gran medida y redujo también la proliferación de supervivientes durante el almacenamiento (Chen et al., 2004a; Jin et al., 2009). Los resultados mostraron que el tratamiento combinado podría servir para prevenir la *listeriosis* asociada a la contaminación post-proceso de los alimentos, a la vez que se reducían las dosis de radiación y el impacto en la calidad del producto. La aplicación de películas activadas con bacteriocina en combinación con altas presiones es otra alternativa para incrementar la inactivación de los microorganismos en productos cárnicos listos para el consumo (Aymerich et al., 2008). En jamón cocido envasado en películas activadas con enterocinas, el tratamiento combinado con altas presiones redujo los recuentos de *L. monocytogenes* y también inhibió la recuperación de las listerias viables durante condiciones de abuso de temperatura (Marcos et al., 2008).

La aplicación de tratamientos combinados de nisina con altas presiones fue eficaz para lograr la ausencia de *Salmonella* en muestras de 25 g de jamón cocido loncheado almacenado en condiciones de refrigeración (Jofré et al., 2008). Las BAL productoras de bacteriocinas podrían ser utilizadas como cultivos protectores en productos cárnicos ligeramente procesados o cocidos sin llegar a alterar sus propiedades organolépticas, consiguiendo a la vez una inhibición de las BAL alterantes y de *Listeria* (Hugas et al. 1998; Lucke, 2000; Chen y Hoover, 2003; Aymerich et al., 2008; Gálvez et al., 2008).

La inoculación de cepas productoras de sakacinas, pediocinas, leucocinas, plantaricinas, enterocinas, bavaricinas y curvaticinas en productos cárnicos procesados ha demostrado ser eficaz en la inhibición del crecimiento de *Listeria* y en algunos casos la formación de limo (Aymerich et al., 1998; Hugas et al., 1998). Existen diferentes cultivos de BAL en el mercado que son utilizados como cultivos

iniciadores o bioprotectores con el objeto de mejorar la seguridad microbiológica de productos cárnicos ligeramente procesados o precocinados (Aymerich et al., 2008).

5.2.6.3. Aplicaciones en productos cárnicos fermentados

Las preparaciones de bacteriocina se pueden añadir a la masa cárnica para la inactivación de patógenos en productos cárnicos fermentados. La disminución de pH que se alcanza en embutidos en comparación con las carnes frescas puede aumentar la solubilidad de algunas bacteriocinas como la nisina, y probablemente su actividad antimicrobiana también. Las bacteriocinas como la nisina, enterocinas (CCM 4231, A, B y AS-48) o leucocinas mejoró la reducción de *L. monocytogenes* y de *S. aureus* en productos fermentados (Rodríguez et al., 2002; Chen y Hoover., 2003; Aymerich et al., 2008; Gálvez et al., 2008). El empleo de bacteriocinas puede ser una barrera interesante para la inactivación de microorganismos en embutidos ligeramente fermentados, en los que su pH más elevado y el mayor contenido en agua pueden facilitar la supervivencia y proliferación de ciertas bacterias patógenas. Las BAL juegan un papel importante en la fermentación de productos cárnicos. Por lo tanto, las cepas productoras de bacteriocinas podrían ser empleadas como cultivos iniciadores activos frente a patógenos como *Listeria monocytogenes* (Työppönen et al., 2003; Leroy et al., 2006; Aymerich et al., 2008).

Diversas cepas de *Lactobacillus* productoras de bacteriocinas (principalmente *Lb. sakei* y *Lb. curvatus*, *Lb. rhamnosus* y *Lb. plantarum*) han demostrado tener efectos inhibidores frente a *Listeria* en fermentaciones de salchichas o salami, dependiendo en gran medida de la cepa y el tipo de carne (Erkkilä et al., 2001; Leroy et al., 2005b; Dicks et al., 2004; Benkerroum et al., 2005; Todorov et al., 2007) (Tabla 1). La cepa *Lb. sakei* CTC 494 (productora de sakacina K) es un cultivo iniciador interesante con actividad frente a *Listeria*, siendo capaz de inhibir con éxito a *L. monocytogenes* en embutidos fermentados al estilo español y alemán (Aymerich et al., 2008) o reducir las poblaciones de *Listeria* en salchichas belgas, salami italiano y salami Cacciatore (Ravyst et al., 2008).

La eficacia de *Lb. Sakei* está influenciada por factores ambientales tales como ingredientes, sal, grasa, concentraciones de nitrito, nivel de acidificación y temperatura (Leroy et al., 2006). Debido a que *Lb. sakei* y *Lb. curvatus* pueden hidrolizar las proteínas musculares sarcoplásmicas y, en menor medida, las proteínas miofibrilares, pueden contribuir a la generación de péptidos pequeños y aminoácidos que contribuyen como potenciadores del sabor o como precursores directos de otros compuestos de sabor durante la maduración de los embutidos fermentados (Leroy et al., 2006).

El estudio de estos procesos podría dar lugar a nuevas aplicaciones de cultivos iniciadores de nueva generación con propiedades funcionales de interés industrial o nutricional (Leroy et al., 2006). Los *pediococos* productores de bacteriocina pueden reducir las poblaciones de *L. monocytogenes* en productos cárnicos fermentados (Amézquita y Brashears, 2002; Rodríguez et al., 2002; Aymerich et al., 2008). Los *pediococos* son preferidos como cultivos iniciadores (en lugar de los lactobacilos) en ciertos productos, por ejemplo en embutidos al estilo americano fermentados a temperaturas más altas. Las cepas productoras de Pediocina PA-1 no inhiben a bacterias que son importantes para la fermentación de los embutidos como *Estafilococos* y *micrococos* (González y Kunka, 1987). Algunas cepas de *lactococos* productoras de nisina aisladas de embutidos fermentados también se han propuesto como cultivos adjuntos para mejorar la seguridad microbiológica de los productos cárnicos fermentados elaborados en condiciones higiénicas deficientes, tales como en productos tradicionales caseros (Noonpakdee et al., 2003).

Los *enterococos* son a menudo parte de la microbiota normal en las fermentaciones de productos cárnicos y han demostrado tener actividad frente a *Listeria* y *S. aureus* en productos fermentados (Foulquié Moreno et al., 2003; Aymerich et al., 2008; Gálvez et al., 2008).

Sin embargo, su aplicación en alimentos da lugar a controversia debido a su potencial como patógenos oportunistas. En este aspecto, la cepa de *Enterococcus faecalis* CECT7121 (productora de la enterocina de amplio espectro MR99) es

interesante porque carece de factores de virulencia como los genes para producción de hemolisina y de gelatinasa y además no produce aminas biógenas (Sparo et al., 2008). Los embutidos fermentados inoculados con la cepa CECT7121 presentaron una disminución del recuento de células viables de *Staphylococcus*, *enterobacterias* y otros cocos gram-positivos al final de la fermentación y ausencia de viables de *S. aureus* y *enterobacterias* al final del proceso. Los *estafi lococos* y *micrococos* también pueden ser explotados como fuente de sustancias antibacterianas aplicables en la fermentación de embutidos.

El gen que codifica para la lisostafina (una endopeptidasa que rompe específicamente los enlaces glicina-glicina en los puentes transversales de la pared celular de *S. aureus*) se puede introducir en lactobacilos y posteriormente utilizarlos como cultivo iniciador para evitar el crecimiento de *S. aureus* en productos cárnicos (Cavadini et al., 1998). *Staphylococcus xylosus* aislado de salchicha produce una sustancia antimicrobiana que permite inhibir a *L. monocytogenes* en embutidos estilo Nápoles (Villani et al., 1997). Otra bacteria de este grupo, denominada *Kocuria varians*, produce el lantibiótico variacina (Pridmore et al., 1996), pero aún se desconocen los efectos de las cepas productoras de este péptido antimicrobiano en las fermentaciones de productos cárnicos.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1. ENFOQUES DE LA INVESTIGACIÓN

Este proyecto se realizó en la ciudad de Valledupar Departamento del Cesar, Colombia; la elaboración de salchicha perro, análisis fisicoquímicos y microbiológicos se desarrollaron en la planta piloto de carnes y en el centro de investigación para el desarrollo ingeniería (SIDI), laboratorios de microbiología respectivamente en la Universidad Popular del Cesar.

Este trabajo se enfocó en una investigación cuantitativa, ya que recoge, procesa y analiza datos cuantitativos o numéricos sobre variables previamente determinadas.

Se realizaron las respectivas pruebas de laboratorio se evaluaron y analizaron los resultados que se obtuvieron, se compararon con la normatividad nacional de Colombia, lo cual, permitió emitir un juicio al respecto.

6.2. DISEÑO EXPERIMENTAL

Se utilizó un diseño estadístico completamente al azar, con 4 tratamientos y 3 repeticiones. Para cada repetición de los tratamientos se elaborarán aproximadamente 3 Kg de producto.

6.3. DISEÑO DEL TRATAMIENTO

El diseño del tratamiento que se desarrolló para evaluar el comportamiento de las bacteriozinas y específicamente la nisina sobre microorganismos patógenos y alterantes de la salchicha tipo perro empleado como bioconservantes, comparándolas con las sales provenientes del ácido nítrico tales como el nitrito sódico en dosis normatizadas por la legislación colombiana y la FDA, teniendo en cuenta la incidencia que las diferentes dosis utilizada en la presente investigación tienen sobre las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y de aceptación tienen

sobre la salchicha tipo perro propuesta en la investigación a desarrollar; además incluye la formulación del producto, según lo siguiente:

Tabla 1. Diseño experimental.

Tratamiento	Nitrito de sodio (ppm)	Nisina (ppm)	Contenido de grasa (%)	Agua/hielo (%)	repeticiones
T0 (TESTIGO)	200	-	20	20	R1,R2,R3
T1	-	25	20	20	R1,R2,R3
T2	-	12.5	20	20	R1,R2,R3
T3	15	15	20	20	R1,R2,R3

Fuente: autores 2017

El producto elaborado con 200 ppm de nitrito de sodio sirve como tratamiento de control.

6.3.1. DISEÑO DEL EXPERIMENTO

Se utilizó un diseño estadístico con 4 tratamientos y 3 repeticiones. Para cada repetición de los tratamientos se elaboraron aproximadamente 3,0 kg de producto.

- **Modelo Estadístico Asociado al Diseño.**

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad i = 1, 2, 3, 4, \dots, t$$

$$j = 1, 2, 3, \dots, n$$

Dónde:

Y_{ij} = Variable respuesta en la j-ésima repetición del i-ésimo tratamiento

μ = Media general

τ_i = Efecto del tratamiento i.

ε_{ij} = Error aleatorio, donde $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$

En esta investigación se evaluó la incidencia fisicoquímica, microbiológica y aceptación del producto después de 30 días de almacenamiento.

6.3.2. OBTENCIÓN DE LA MUESTRA

Como materia prima principal para la elaboración de la salchicha perro se empleó el corte de la canal de bovino llamado paletero, conformado por los músculos infraespinoso y supraespinoso (paletero interno), deltoides, romboides, torácicos, redondo mayor y redondo menor, esta destazadura se obtuvo en el punto de venta de la planta de beneficio de la Cooperativa Lechera del Cesar (Coolesar), además se utilizó grasa dorsal de porcino por su dureza y consistencia, la cual se obtuvo en la plaza de mercado público de la ciudad de Valledupar; la carne magra y la grasa fueron transportadas a la planta piloto de carne de la Universidad Popular del Cesar; ambas se refrigeraron en cámara frigorífica a temperatura de 2 más o menos 1°C durante 24 horas aproximadamente y al siguiente día se acondicionaron eliminando impurezas y materiales extraños antes de ser cortadas en cubos para la elaboración de la salchichas tipo perro. El nitrito de sodio y de más aditivos e ingredientes como las especias se obtuvo en Tecna S.A. (Tecnología Alimentaria S.A, Medellín, Colombia).

• **Formulación de la salchicha perro**

Se elaboraron salchichas formuladas con 200 ppm de nitrito de sodio en el tratamiento T₀ y T₁; 0 ppm de nitrito de sodio y 25 ppm de nisina como tratamiento

T₂ 12.5 ppm de nisina; además se empleó el tratamiento T₃ utilizando 15 ppm de nitrito de sodio más 15 ppm de nisina. Todos los tratamientos contienen 20 % de grasa y 20 % de hielo como se muestra en la **Tabla 1**, del diseño experimental, y en la **Tabla 2** de formulación de salchichas tipo perro se realizaron los cálculos; para agregar los diferentes aditivos e ingredientes según los “requisitos de composición y formulación para productos cárnicos cocidos”, de la Norma Técnica Colombiana (NTC 1325, 2008).

- **Elaboración de salchicha perro**

Los procedimientos para la elaboración de la salchicha perro se seleccionarán teniendo en cuenta distintas metodologías, las cuales se adaptaron a las necesidades de esta investigación. El corte paletero o bola de brazo de la canal bovina se sacó de la cámara de refrigeración, al igual que la grasa dorsal de porcino, se pesaron, se acondicionaron y se cortaron en cubos de 3 cm con cuchillos, los demás ingredientes y aditivos como sal común, sal curante de nitrito, polifosfato, ascorbato, proteína de soya y condimentos se pesaron en una balanza marca Ohaus 1119-DO, esta operación se hizo individualmente para cada formulación y tratamiento.

Los trozos del paletero y de la grasa dorsal se sometieron a un presalado que consistió en la adición de sal común y sal curante de nitrito según cantidades establecidas en la **Tabla 2**, posteriormente estas carnes por separadas se molerán en un molino industrial para carne marca TALSA®N° 32, empleando un disco con orificios de 5 mm de diámetro.

Tabla 2. Formulaciones para la elaboración de salchichas.

INGREDIENTES Y ADITIVOS	CANTIDADES (Kg)			
	TRATAMIENTO 0 18% Agua/hielo	TRATAMIENTO 1 18% Agua/hielo	TRATAMIENTO 2 18% Agua/hielo	TRATAMIENTO 3 18% Agua/hielo
carne de res	2.700000	2.700000	2.700000	2.700000
grasa de cerdo	0,400000	0,400000	0,400000	0,400000
Sal	0,036800	0,036800	0,036800	-
sal curante	0.0103	-	-	0,00775
Ascorbato	0,0015000	0,0015000	0,0015000	0,0015000
Polifosfato	0,093000	0,093000	0,093000	0,093000
Proteína aislada de soya hidratada(1:5)	0.114000	0,114000	0,114000	0,114000
nisina	-	0,00014	0,000071	0,000085
Agua/Hielo	1,026000	1,026000	1,026000	1,026000
condimento	0,0855	0,0855	0,0855	0,0855
TOTAL	4,4671	4,4569	4,4568	4,4355

S.C.N= sal curante de nitrito

Nisina.

1). La carne magra de paletero o bola de brazo se agregó a la artesa del Cúter marca TALSA®, con capacidad de 15 Litros, junto con la carne magra se agregó la proteína aislada de soya hidratada 1:5 (una parte de proteína aislada de soya y 5 partes de agua); luego se dio inicio a la operación del cúter para la trituration y mezcla de la carne con los demás ingredientes y aditivos, estos se adicionaron en el siguiente orden:

2). Adición de parte de agua/hielo, luego los compuestos hidrosolubles como condimentos, polifosfatos y por último el ascorbato; se continuo con la operación del cúter hasta la trituration y mezcla de los ingredientes.

3). Posteriormente se adiciono el resto de agua/hielo y la grasa, se dejará emulsionar toda la grasa.

4). Por último se adiciono la nisina. El tiempo de operación del cúter fue de 12 minutos para lograr una emulsión estable. Durante toda la operación del cúter la adición fraccionada del agua /hielo permitió mantener la temperatura de la emulsión cárnica por debajo de 8 °C, esto impidió la desnaturalización de las proteínas miofibrilares, y facilito la extracción y solubilizacion de las mismas por la presencia de la sal ayudando de esta manera a mantener la carga microbiana en un bajo nivel.

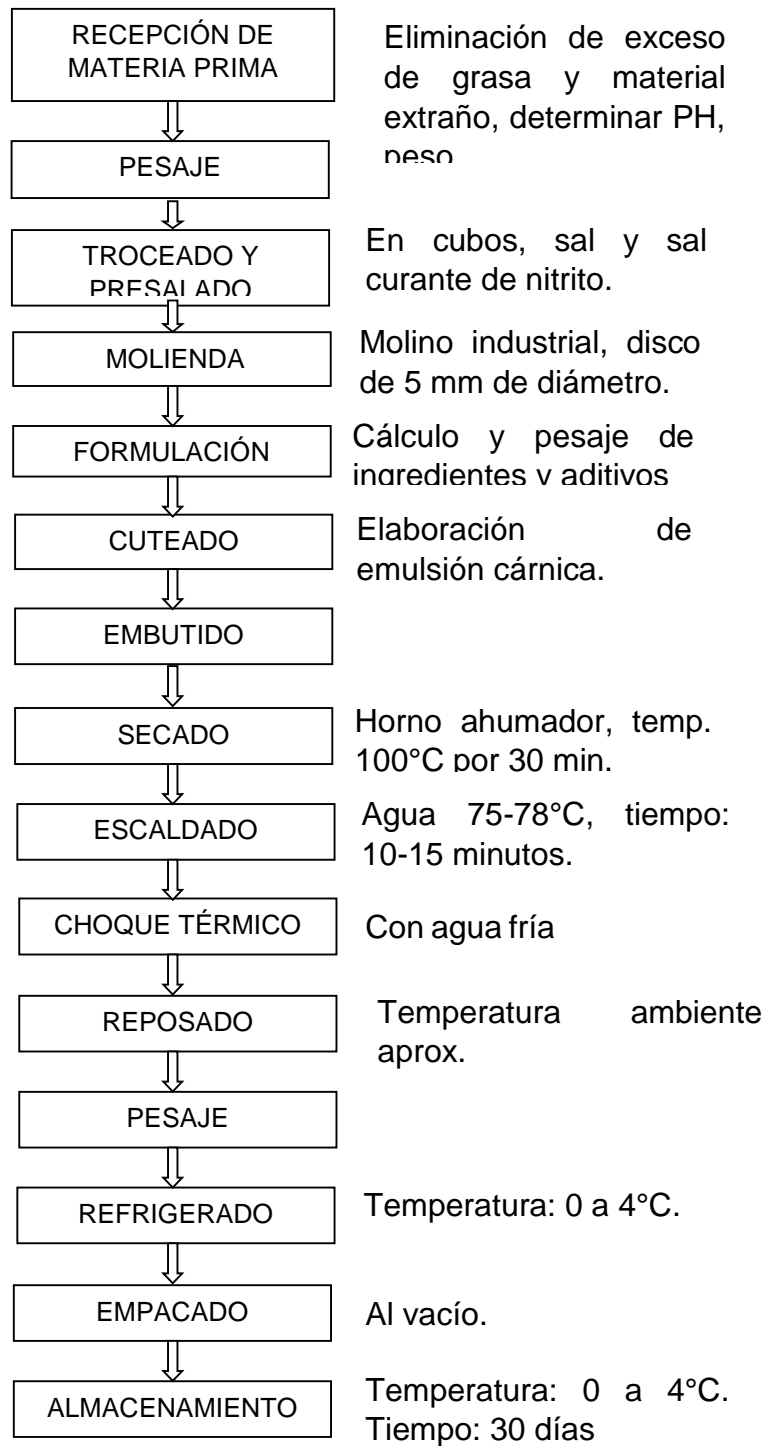
Se preparó la emulsión cárnica que se embutió utilizando una embutidora hidráulica marca TALSA® con capacidad de 20 litros, en tripas artificiales plástica calibre 24 mm (Alico S.A. Medellín Colombia), luego la salchicha se porciono de 12 cm de longitud aproximadamente y un peso de 50 g aproximadamente cada una.

Para las operaciones de pasterización del producto, la salchicha se pasaron a una ducha para escaldado con capacidad de 200 Kg de producto, la temperatura del agua al momento de introducir el producto fue de 75 - 78°C esta se midió con un termómetro de punzón con escala de temperatura de -10 a 110 °C marca Checktemp (HANNA Intruments Ltda. Inglaterra), la temperatura alcanzada en este proceso de calentamiento las proteínas que hace parte del embutido elaborado se coagularon tomando unas características especiales que la hacen única dentro de la familia de productos cárnicos. La temperatura interna del producto llego a 67 - 72°C, medida con el termómetro antes mencionado y seleccionando varias salchichas al azar e introduciéndoles el punzón del termómetro por el centro del producto hasta el punto frio o centro geométrico del mismo.

Con el propósito de bajar la temperatura con que las salchichas salieron de la pasterización y para disminuir la carga microbiana, se sumergieron en agua/hielo a 2 °C durante 3 minutos hasta alcanzar 18 °C de temperatura interna produciéndose un choque térmico en el producto elaborado. Las salchichas se refrigeraron en cámaras frigoríficas por 24 horas a una temperatura de 3°C, posteriormente se pesaron en una balanza Lexus modelo Fénix con capacidad de 20 Kg. El producto elaborado se empaco al vacío en bolsas de polietileno en una empacadora al vacío EGAR VAC (Javar Bogotá, Colombia), en presentación de 250 g rotuladas con fecha de elaboración, tratamiento y repetición. El producto se empaqueto en canastillas plásticas de rejillas y se almacenaron a temperatura de 3°C ±1°C durante los 30 días señalados para la investigación.

El flujograma de la elaboración de las salchichas se presenta en la **Figura 1**.

Figura 1. Flujograma para la elaboración salchicha



- **Análisis fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales.**

Los análisis fisicoquímicos y microbiológicos se realizaron siguiendo la norma ICONTEC 1325 quinta actualización.

El análisis sensorial se realizó mediante un examen hedonístico en la Universidad Popular del Cesar.

6.3.3. ANÁLISIS FÍSICOS

Se realizaron las pruebas de humedad, PH, proteína y grasa siguiendo la metodología basada en los métodos oficiales **AOAC**, 1990(Official Methods Of. Analysis, Association Of. Official Analytical Chemist) de los Estados Unidos. La humedad se determinó por secado en estufa hasta peso constante de la muestra. La grasa se determinó empleando aparato de extracción continua de Soxhlet. Se analizaron muestras de salchichas los días 0, 10, 20 y 30; la toma de muestra seguirá los protocolos recomendados por la norma establecida para tal fin y por normas internacionales.

- **pH**

Parámetro medido a las salchichas elaboradas en la presente investigación, para esto se empleó un pH- metro digital/mV/Temp, marca EXTECH 407128 con rango 0-14 pH, 0 – 50°C y con exactitud: 0,01 pH; 0,1°C. Se realizó el siguiente procedimiento por potenciometría según el método referenciado por Bateman, 1970. Las muestras para realizar las pruebas se tomaron los días 0, 10, 20 y 30 después de elaborado el producto y se procedió de la siguiente manera: se sacaron las salchichas de refrigeración y se dejaron reposar, se pesaron exactamente 10 g de muestra, se maceraron en un mortero, se adiciono 100 ml de agua destilada al producto macerado en un vaso de precipitado, se procedio a medir el pH de la solución introduciendo el electrodo en la muestra hasta cuando el aparato muestre un valor constante. Las pruebas se hicieron por triplicado para cada repetición de los tratamientos.

6.3.4. ANÁLISIS QUÍMICOS.

Se realizaron las pruebas de humedad, ceniza, proteína y grasa siguiendo la metodología según la **AOAC**, 1990 (Official Methods Of. Análisis, Association Of. Oficial Analytical Chemist) de los Estados Unidos. La humedad se determinó por secado en estufa hasta peso constante de la muestra. La ceniza por incineración en mufla. La proteína por método de Kjeldahl empleando matraz de Kjeldahl y destilador de vapor. La grasa se determinó empleando aparato de extracción continua de Soxhlet. Se analizaron muestras de salchichas los días 0,15, y 30, estas muestras fueron empacadas en cavas de icopor con bolsas de gel congelado para conservar la temperatura del producto y evitar así cambios en la composición del mismo y transportadas a la secretaria de salud departamental del departamento del Cesar.

6.3.5. ANÁLISIS SENSORIAL

- **Examen hedonístico de aceptación**

Este examen sirve para comprobar la aceptación del producto y se emplea, fundamentalmente en las investigaciones de mercadeo y en los test de consumidores.

Consiste en un panel de degustación, prueba hedónica con miembros no entrenados, para cada tratamiento un total de 30 personas. Los análisis se realizarán con respecto al olor, sabor, color y textura a los 20 días de estar almacenado el producto y se realizarán con 30 panelistas no entrenados en la Universidad Popular del Cesar, en el Centro de Investigación para el Desarrollo de Ingeniería (CIDI). Las salchichas a evaluar se calentarán en baño de maría hasta una temperatura de 35°C, luego se cortarán en rodajas y a cada panelista se les dará 15 g del producto por repetición de los tratamientos (T₀, T₁, T₂ y T₃) y agua destilada para el enjuague de la boca después de catar cada repetición de la salchicha, los resultados obtenidos se anotarán de acuerdo a los valores asignados a cada atributo como se muestra en la (**Tabla3**).

Tabla 3. Escala de valores para la aceptación o rechazo del producto.

CALIFICACIÓN	VALOR
Me disgusta mucho	1
Me disgusta	2
Ni me gusta ni me disgusta	3
Me gusta	4
Me gusta mucho	5

Fuente: autores 2017

6.3.6. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Tabla 4. Requisitos microbiológicos para productos cárnicos procesados cocidos.

Requisitos	N	m	M	c
Recuento de aerobios mesófilos, UFC/g	3	-	100000	1
Recuento de coliformes UFC/g	3	100	500	1
Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa positiva, UFC/g	3	<100	-	-
Recuento de esporas <i>Clostridium</i> sulfito reductor, UFC/g	3	<10	100	1
Detención de <i>Salmonella</i> , /25g	3	Ausencia	-	-
Detección de <i>Listeria Monocytógenes</i> , /25g	3	Ausencia	-	-
Recuento de <i>Scherichia Coli</i> /g	3	<10	-	-
en donde n = número de muestras que se van a examinar m = índice máximo permisible para identificar niveles de buena calidad M = índice máximo permisible para identificar niveles aceptables de calidad c = número de muestras permitidas con resultados entre m y M.				

Se analizaron las salchichas microbiológicamente teniendo en cuenta lo que propone la Norma Técnica Colombiana (NTC 1325, 2008), para productos cárnicos procesados no enlatados, la cual indica los requisitos microbiológicos para productos cárnicos procesados cocidos.

Los análisis se hicieron en el laboratorio BIOINDALAMB. El procedimiento que se empleó fue el siguiente: se analizaron muestras a los 0 y 30 días siguientes a la elaboración del producto, tiempo en el cual duro el producto almacenado, las salchichas se sacaron del cuarto de refrigeración y se trasladaron empacadas en cavas de icopor con gel congelado y transportadas al Laboratorio de Microbiología de Alimentos BIOINDALAMB en la ciudad de Valledupar donde se realizaron las siguientes pruebas microbiológicas:

1. Recuento de microorganismos mesófilos, UFC/g, se determina por el método International Commission on Microbiological Specification for Foods (**ICMSF**). Manual de técnicas de análisis para control de calidad microbiológico de alimentos para consumo humano. Recuento de microorganismos mesófilos en alimentos por siembra en placa (SPC) **INVIMA**, 1998.

2. NMP de Coliformes, /g se determinó por el método International Commission on Microbiological Specification for Foods (**ICMSF**). Manual de técnicas de análisis para control de calidad microbiológico de alimentos para consumo humano. Determinación de coliformes en alimentos por NMP, **INVIMA**, 1998.

3. NMP de Coliformes fecales, /g se determinará por el método International Commission on Microbiological Specification for Foods (**ICMSF**). Manual de técnicas de análisis para control de calidad microbiológico de alimentos para consumo humano. Determinación de coliformes fecales en alimentos por NMP, **INVIMA**, 1998.

4. Recuento de Staphylococcus aureus coagulasa positivo, UFC/g se determinará por el método International Commission on Microbiological Specification for Foods (**ICMSF**). Manual de técnicas de análisis para control de calidad microbiológico de alimentos para consumo humano. Recuento de Staphylococcus coagulasa en alimentos **INVIMA**, 1998.

5. Recuento de esporas Clostridium sulfito reductor, UFC/g, se determinará por el método International Commission on Microbiological Specification for Foods (**ICMSF**). Manual de técnicas de análisis para control de calidad microbiológico de alimentos para consumo humano. Recuento de esporas de Clostridium sulfito reductores alimentos en alimentos **INVIMA**, 1998.

6. Detección de salmonella, /25 g, se hizo la determinación de salmonella por el método RE. NF EN 6579 y NF V 08 – 052, Manual de técnicas de análisis para control de calidad microbiológico de alimentos para consumo humano. **INVIMA**, 1998.

7. Detección de listeria monocytógenes, /25 g, se emplea el método **MTA/MC – 003/R – 06**. Manual de técnicas de análisis para control de calidad microbiológico de alimentos para consumo humano. **INVIMA**, 1998.

8. Recuento de mohos y levaduras, se determinará por el método International Commission on Microbiological Specification for Foods (**ICMSF**). Manual de técnicas de análisis para control de calidad microbiológico de alimentos para consumo humano. Recuento de mohos y levaduras en alimentos por siembra en profundidad, **INVIMA**, 1998.

9. Recuento de E Coli, se empleará El método horizontal para La enumeración de Escherichia Coli B – glucoronidasa positivo - Técnica de recuento a 44°C utilizando 5 – Bromo – 4 – cloro – 3 – Indol, **INVIMA**, 1998.

6.3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se analizaron los resultados físicos, químicos, sensoriales y microbiológicos, de las distintas formulaciones de los tratamientos y para determinar si hay diferencias estadísticamente significativa entre un tratamiento y otro se empleó el análisis de varianza ANOVA, si este resultado muestra que en sus columnas el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, entonces se deducirá que sí existe una diferencia estadísticamente significativa entre un nivel de tratamiento y otro, de lo contrario se entenderá que no existe diferencia estadísticamente significativa entre un nivel de tratamiento y otro, con un nivel del 95,0% de confianza. Para determinar cuáles tratamientos presentaron diferencia estadísticamente significativa de otro, se utiliza la prueba de Múltiple Rangos por el método de Tukey. El análisis estadístico se hizo empleando el programa Statgraphics Centurión XVI.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1. RESULTADOS Y ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

7.1.1. DISCUSIÓN DE RESULTADOS PARA LOS TRATAMIENTOS Y FORMULACIÓN CON SAL CURANTE DE NITRITO Y NISINA

7.1.1.1. Determinación de los análisis microbiológicos al inicio y final del almacenamiento.

- **Recuento de aerobios mesófilos UFC/g:** La presencia de este grupo de microorganismos en alimentos es por condiciones inadecuadas de tiempo/temperatura durante su almacenamiento. Estos tipos de microorganismos y el recuento que se hace de ellos se consideran como indicador del grado de contaminación de los alimentos etapa del proceso de producción, permite también obtener información sobre la alteración inicialmente de los alimentos y su probable vida útil. El número de colonias encontradas para cada uno de los tratamientos T₀, T₁, T₂, T₃. Ver Cuadro 1. Los resultados obtenidos muestran que los aerobios mesofilos en los tratamientos T₀ (200ppm de nitrito) estuvieron dentro de los rangos solo el día 0 de la muestra, los tratamientos T₁, T₂, T₃. Se mantuvieron estables el día 0 de la muestra, el día 10 y 20 tuvieron un incremento significativo que no se encuentran dentro de los rangos permitidos por la NTC 1325 e indicado por el instituto nacional de vigilancia de medicamentos y alimentos, INVIMA. El día 30 tuvo un descenso significativo pero no se mantuvieron dentro del rango permitido.

Los aerobios mesofilos son microorganismos que viven en presencia de oxígeno a temperaturas de rango medio, un crecimiento elevado de ellos puede significar excesiva contaminación de la materia prima, deficiente manipulación y la inmediata alteración de patógenos.

El tratamiento con nisina tiene su acción microbiana directa sobre una amplia gama de organismos Gram positivos (Arguello 2003), posiblemente el crecimiento de

microorganismos aerobios en este tratamiento correspondió a los Gram negativos, donde el tratamiento nisina no tiene efecto (Frazier y Westhoff, 1985).

- **Bacillus cereus UFC/g:** La presencia de este grupo de microorganismos en alimentos es por la inadecuada calidad higiénica, refrigeración, disminución de Ph y el almacenamiento. El número de unidades formadoras de colonias de bacillus cereus, en los tratamientos T₀, T₁, T₂, T₃, ver Cuadro 1. Tuvieron el mismo comportamiento ante este microorganismo, pudo influir que estos productos se sometieron a adecuados procesos de cocción, manipulación y conservación. Por esto, todos los tratamientos se encuentran dentro de los rangos permitidos por la NTC 1325 e indicado por el instituto nacional de vigilancia de medicamentos y alimentos, **INVIMA**. Los resultados demuestran que el conservante natural nisina, tuvo el mismo efecto antimicrobiano que el conservante artificial (nitrito de sodio). Ver **Anexo K**.

- **NMP Coliformes totales/g:** La presencia de este grupo de microorganismos en alimentos es signo de mala calidad higiénica en el proceso, falta de higiene de los manipuladores, recontaminación después del proceso. El número más probable de Coliformes totales en los tratamientos T₀, T₁, T₂, T₃, ver **Cuadro 1**. Según el reporte dado por los análisis que se hicieron al producto antes y al final del almacenamiento, todos los tratamientos se encuentran dentro de los rangos permitidos por la NTC 1325 e indicado por el instituto nacional de vigilancia de medicamentos y alimentos, **INVIMA**. Por lo cual es signo de que hubo una buena calidad higiénica en el proceso, en los manipuladores y durante el tratamiento térmico, y muestra que se empleó materia prima de buena calidad higiénico-sanitaria, al igual que los demás materiales empleados en la fabricación del producto estudiado.

(Márquez & García, 2007); tampoco se observó crecimiento de Staphylococcus ni de coliformes en queso blanco tratado con nisina (Castro et al, 2009).

- **NMP Coliformes fecales/ g:** La presencia de este grupo de microorganismos en alimentos es signo de mala calidad higiénica en el proceso, contaminación del agua, falta de higiene de los manipuladores, recontaminación después del proceso. El análisis de estos microorganismos se utilizan para diferenciar los coliformes de origen

fecal (procedentes del intestino del hombre y de animales de sangre caliente) de los coliformes de otros orígenes. El número más probable de coliformes fecales en los tratamientos T₀, T₁, T₂, T₃, ver **cuadro 1**. Tuvieron el mismo comportamiento ante este microorganismo, pudo influir que hubo una buena manipulación higiénica en el producto, la buena manipulación durante el proceso de elaboración, buena calidad sanitaria. Por esto, todos los tratamientos se encuentran dentro de los rangos permitidos por la NTC 1325 e indicado por el instituto nacional de vigilancia de medicamentos y alimentos, INVIMA. Los resultados demuestran que el comportamiento sobre la acción de estos microorganismos resulta semejante utilizar un conservante natural como la Nisina, que el conservante artificial nitrito de sodio. Ver **Anexo K**

- **Recuento de Estafilococo coagulasa positiva, UFC/g:** La presencia de este grupo de microorganismos en alimentos es **la falta de higiene** durante el proceso de elaboración del alimento, deficientes prácticas higiénicas de los manipuladores, diseño inadecuado de los procesos de limpieza y desinfección o inadecuados productos utilizados durante estos procesos. El número de unidades formadoras de colonias de Estafilococos coagulasa positiva, en los tratamientos T₀, T₁, T₂, T₃, ver **Cuadro 1**, tuvieron comportamientos similares, pudo influir que los manipuladores utilizaron unas buenas prácticas de manipulación en el alimento, lo cual hizo que no hubiera una contaminación a partir de piel, boca, y fosas nasales. A demás de trabajar con los equipos bien desinfectados y una materia prima de buena calidad.

Por esto, todos los tratamientos se encuentran dentro de los rangos permitidos por la NTC 1325 e indicado por el instituto nacional de vigilancia de medicamentos y alimentos, **INVIMA**. Los resultados demuestran que la nisina tiene un efecto inhibitor respecto a los estfilococo coagulasa pudiendo predecir que es prudente el empleo de este conservante natural como remplazante parcial o total del nitito de sodio. Ver **Anexo K**

Otros autores, que han estudiado el efecto de la nisina sobre el crecimiento de estos géneros microbianos en otros alimentos, han obtenido resultados similares. La nisina inhibe el crecimiento de Staphylococcus y Salmonella en carne de cangrejo (De Lima

& Gorlach-Lira, 2005); impide el desarrollo de Staphylococcus en queso de mano preservado con este antibiótico natural.

- **Detección de Salmonella, /25 g:** La presencia de estos microorganismos en productos procesados térmicamente, indica tratamiento inadecuado o contaminación post proceso. La detección de salmonella, en los tratamientos T₀, T₁, T₂, T₃, ver **Cuadro 1**, tuvieron comportamiento similares, pudo influir que en el proceso térmico hubo un tratamiento adecuado por lo que no presento una contaminación durante y posterior al almacenamiento. Por lo cual, todos los tratamientos se encuentran dentro de los rangos permitidos por la NTC 1325 e indicado por el instituto nacional de vigilancia de medicamentos y alimentos, INVIMA. Los resultados demuestran que el conservante artificial (nitrito de sodio), puede ser reemplazado por el conservante natural como la Nisina, ya que este es inocuo al ser humano. Ver **Anexo K**.

(Maldonado & Llanca, 2007). En el queso “telita” tratado con nisina, no se detectó Salmonella ni L. monocytogenes, y las cantidades de Staphylococcus presentes fueron significativamente menores que en el control no tratado

En general se puede decir que en el periodo de conservación de la salchicha, se identificó una carga microbiana ascendente en el tiempo de aerobios mesófilos, tanto en el control como en los tres tratamientos, siendo las salchichas elaboradas con 15 ppm de Nisina los que presentan una mayor carga bacteriana, importante resaltar que el recuento de heterótrofos o aerobios mesófilos superaron los límites máximos permitidos por la NTC 1325, (2008). Ver **Cuadro 1**.

Tabla 5. Resultados de los análisis microbiológicos.

Parámetro	Limite	Día	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	Norma
Recuento de aerobios mesófilos, UFC/g	<1E ⁵	0	1E ⁴	4,5E ⁵	4,5E ⁵	4,5E ⁵	100.000 UFC/g (NTC 1325)
			9E ³	4,8E ⁵	4,4E ⁵	4,7E ⁵	
		10	1,4E ³	7,1E ⁵	6,1E ⁶	6,9E ⁵	
			1,3E ³	6,9E ⁵	6E ⁶	6,6E ⁵	
		20	3E ⁵	8,8E ⁵	8,4E ⁵	9E ⁶	
			3,6E ⁴	8,4E ⁵	7,7E ⁵	8,3E ⁵	
30	5E ⁵	4E ⁶	4E ⁶	5E ⁶			
		4,4E ⁴	6,6E ⁵	5,5E ⁵	5,4E ⁵		
NMP Coliformes totales /g	100-500	0	<3	<3	<3	<3	100-500/g (NTC 1325)
		10	<3	<3	<3	<3	
		20	<3	<3	<3	<3	
		30	<3	<3	<3	<3	
NMP Coliformes fecales /g	<3/g	0	<3	<3	<3	<3	< 3/g (NTC 1325)
		10	<3	<3	<3	<3	
		20	<3	<3	<3	<3	
		30	<3	<3	<3	<3	
Recuento de Estafylococo coagulasa positiva, UFC/g	<100	0	<100	<100	<100	<100	<100 UFC/g (NTC 1325)
		10	<100	<100	<100	<100	
		20	<100	<100	<100	<100	
		30	<100	<100	<100	<100	
Bacillus cereus UFC/g	<100	0	<100	<100	<100	<100	<100 UFC/g (NTC 1325)
		10	<100	<100	<100	<100	
		20	<100	<100	<100	<100	
		30	<100	<100	<100	<100	
Detección de Salmonella, /25 g	Ausencia	0	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	AUSENCIA 25/g (NTC 1325)
		10	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	
		20	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	
		30	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	

7.2. RESULTADOS Y ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS

Tabla 6. Análisis estadístico de los tratamientos de salchicha con Sal Curante de Nitritos y nisina.

Variables	T ₀ (200 ppm S.C.N)	T ₁ (25ppm Nisina)	T ₂ (12.5ppm nisina)	T ₃ 15ppm/ S.C.N/ 15ppm nisina
Humedad (%)	74,41 ± 0.41 ^a	75,99± 0.41 ^{ab}	73,30 ± 0.41 ^{ac}	71,94± 0.41 ^c
Ceniza (%)	22,88 ± 1.47 ^a	24,81 ± 1.47 ^a	23,72 ± 1.47 ^a	22,04 ± 1.47 ^a
Proteína (%)	12,70 ± 0.02 ^a	12,20 ± 0.02 ^b	12,64 ± 0.02 ^{ac}	12,15 ± 0.02 ^{bd}
Grasa (%)	8,94 ± 0.03 ^a	8,55 ± 0.03 ^b	8,5 ± 0.03 ^{bc}	8,40 ± 0.03 ^{cd}
pH	6,69 ± 0.01 ^a	6,76± 0.01 ^b	6,81 ± 0.01 ^c	6,78 ± 0.01 ^{bc}

a, b, c, d superíndice con distintas letras entre los tratamientos difieren estadísticamente a un nivel de confianza del 95%.

S.C. N= sal curante de nitrito

nisina

T₀ = 200 ppm S.C.N

T₁ = 25 ppm NISINA

T₂ = 12,5 ppm NISINA

T₃ = 15 ppm NISINA y 15 ppm S.C.N

7.2.1. DISCUSIÓN DE RESULTADOS PARA LOS TRATAMIENTOS CON FORMULACIÓN SAL CURANTE DE NITRITOS Y NISINA.

- **Determinación de Humedad**

Tabla 7. ANOVA para Humedad por Tratamientos

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	106,198	3	35,3994	16,77	0,0000
Intra grupos	92,8722	44	2,11073		
Total (Corr.)	199,07	47			

El tratamiento T₁, correspondiente a las salchichas formuladas con 25 ppm nisina fue el de mayor porcentaje de humedad con 75,99%, ver **Tabla 5**, este tratamiento tuvo diferencia estadísticamente significativa entre las medias de humedad de los tratamientos T₀ y T₃ con valor de 74,41% y 71,94%, respectivamente, con un nivel de confianza del 95%; le sigue el tratamiento T₂ de las salchichas formuladas con 12,5 ppm nisina con 73,30% de humedad. Ver **Anexo A**, Los mayores porcentajes de humedad de las salchichas elaboradas en estos tratamientos T₁. La norma (NTC 1325, 2008) para productos cárnicos cocidos en cuanto a porcentaje de humedad más grasa, indica que éstos deben estar en unos niveles máximos de 86% para productos Premium; 88% para Seleccionada y 90% para productos Estándar.

La suma de los resultados obtenidos en cada uno de los tratamientos de la presente investigación, para las salchichas formuladas con sal curante de nitrito y nisina fueron: T₀= 83,35%, T₁= 84,54%, T₂=81,8% y T₃=80,34%, valores que se encuentran dentro de la normatividad exigida. Los menores porcentajes de humedad son los tratamientos T₂ y T₃, con 73,30% y 71,94% respectivamente, posiblemente tienen incidencia en que el tratamiento T₁ (75,99% H) es 25 ppm de nisina, podemos concluir que la materia prima utilizada originalmente pudo tener una humedad distinta la cual refleja en el producto terminado ya que puedo haber un contenido acuoso mayor.

Algunos autores encontraron resultados similares en sus trabajos de investigación en salchichas los cuales muestran diferencias significativas con un nivel de confianza del 95% en humedad para tratamientos con cuatro formulaciones utilizando carne de bovino y cerdo, con dos condimentaciones básicas, el cual el contenido de humedad varió entre 55,84 y 62,71%. (Suarez y col 2011).

- **Determinación de Cenizas**

Tabla 8. ANOVA para ceniza por tratamientos

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	50,5917	3	16,8639	0,65	0,5901
Intra grupos	1149,85	44	26,1329		
Total (Corr.)	1200,44	47			

El tratamiento T₁ de las salchichas formuladas con 25ppm de nisina presentó el mayor valor en cenizas con 24,81% sin embargo no tuvo diferencia estadísticamente con los otros tratamientos con un nivel del 95% de confianza ver **Anexo B**, le sigue el tratamiento T₂ con 23,72%, T₀ con 22,88%, y T₃ con 22,04% la falta de diferencia estadística en cenizas de estos tratamientos pueden estar relacionados con que se utilizó la misma formulación empleando los mismos ingredientes en la formulación los cuales debieron aportar cantidades parecidas de minerales ver **Tabla 2**, los cuales pudieron haber permitido que la cantidad de minerales presentes en el producto final se encontraran en concentraciones similares. Las cenizas representan el contenido en minerales del alimento; en general, las cenizas suponen menos del 5% de la materia seca de los alimentos, (Peña Alvarez, 2012).

- **Determinación de proteínas**

Tabla 9. ANOVA para proteína por tratamientos

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	3,01292	3	1,00431	110,60	0,0000
Intra grupos	0,39955	44	0,00908068		
Total (Corr.)	3,41247	47			

El tratamiento T₀ de las salchichas elaboradas con 200 ppm de sal curante de nitrito fue el que presentó un mayor porcentaje de proteína con 12,70%, este resultado difiere estadísticamente con un 95% de nivel de confianza con los tratamientos T₂, T₁ y T₃ con contenido proteico de 12,64%, 12,20% y 12,15% respectivamente, ver **Anexo c**. El tratamiento T₂ con 12,5 ppm de nisina con una media en proteína de 12,64% es el segundo mayor valor entre los tratamientos, tiene diferencia significativa con 95% de confianza con el T₁ y T₃ de las salchichas fabricadas con 25 ppm nisina y 15 ppm de nisina y 15 ppm de sal curante de nitrito respectivamente, Si se tienen en cuenta que para las cuatro formulas empleadas, la cantidad de carne magra son las mismas en cada caso, esperando de esta manera que no se presentaría diferencia en el contenido proteico al final de la producción de las salchichas o pudo haber tenido incidencia el procedimiento utilizado en los análisis para determinar el porcentaje de proteína, también pudo influir los cortes o destazaduras utilizadas para la formulación de los productos cárnicos elaborados pudieron haber tenido diferencias en el contenido de proteína, lo que pudo verse reflejado en el producto final. En la **Tabla 5**. La norma técnica colombiana (NTC 1235, 2008), exige un contenido mínimo en porcentaje de proteína en productos cárnicos cocidos entre 14, 12 y 10% en fracción de masa, para las diferentes calidades de estos productos (Premium, Seleccionada y Estándar), los resultados obtenidos en esta investigación están muy cerca de los valores para productos seleccionada (12%). Estos contenidos proteicos del producto final contribuyeron posiblemente a la buena emulsificación de la grasa y a una buena retención de agua (Kramlich, 2004). El contenido proteico

influye positiva y fundamentalmente en la “mordida”, capacidad de retención de humedad y en las mermas originadas durante la cocción del producto, (Gartz, 2008).

- **Determinación de grasa**

Tabla 10. ANOVA para Grasa por tratamientos

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	2,05645	3	0,685483	47,08	0,0000
Intra grupos	0,64065	44	0,0145602		
Total (Corr.)	2,6971	47			

El tratamiento con el mayor porcentaje de grasa fue el T₀ con una media de 8,94% de las salchichas elaboradas con 200ppm de sal curante de nitritos este tratamiento tiene diferencia estadísticamente significativa con un nivel del 95% de confianza con el tratamiento T₁. Ver **Anexo D**, Seguidamente sigue los tratamientos T₃Y T₂, con un valor de 8,55% de grasa estos dos tratamientos no mostraron diferencia significativa entre ellos con 95% de confianza. El que presento menor porcentaje de grasa fue el tratamiento T₂ con un valor de 8,5% de las salchichas fabricadas con 12,5 ppm de nisina. Los parámetros establecidos en la normatividad legal colombiana exige un nivel menor del 28% de contenido graso en productos cárnicos cocidos, observando las medias de la prueba de Tukey dada en la **Tabla 5**, los valores obtenidos en esta investigación se encuentran muy por debajo de dichos parámetros, afectando posiblemente características como jugosidad y consistencia de las salchichas pero posiblemente contribuyendo positivamente a la estabilidad de la emulsión cárnica.

Resultados similares reportan investigaciones de autores los cuales encontraron diferencia significativa en un nivel del 95% de confianza, en las salchichas Bratwurst, elaborada bajo cuatro formulaciones utilizando carne de bovino, cerdo y dos condimentaciones básicas, con valores que varían entre 8,46% y 12,81%, (Suarez, y col. 2011).

- **Determinación de Ph**

Tabla 11. ANOVA para pH por tratamientos

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0,0899562	3	0,0299854	15,98	0,0000
Intra grupos	0,0825417	44	0,00187595		
Total (Corr.)	0,172498	47			

Tabla 12. Promedios de pH de tratamientos y formulaciones durante el almacenamiento de las salchichas.

pH	T ₀ (200 ppm S.C.N)	T ₁ (25ppm Nisina)	T ₂ (12.5ppm S. C. N)	T ₃ 15ppm/15ppm S. C. N/nisina
DÍA 0	6.6	6,7	6,7	6.7
DÍA 10	6.7	6.8	6.8	6.8
DÍA 20	6.7	6.7	6.8	6.7
DÍA 30	6.7	6.7	6.8	6.7

S.C. N= sal curante de nitrito

Nisina.

El tratamiento con el mayor porcentaje de pH fue el T₂ con una media de 6,81% de las salchichas elaboradas con 12,5 ppm de nisina este tratamiento si tiene diferencia estadísticamente significativa con un nivel del 95% de confianza 8 con el tratamiento T₁ con 6,76%. Seguidamente sigue el tratamiento T₀, con un valor de 6,69% de acidez. Ver **Anexo D.**

Según (gibbs, 1987; klaenhammer, 1988; daeschel, 1989; caplice y fitzgerald, 1999). Las bacterias ácido lácticas además de producir una caída en los niveles de pH, favorecen la preservación de alimentos mediante la producción de sustancias inhibidoras más allá de los ácidos láctico, acético, alcohol y dióxido de carbono, incluyendo etanol, reuterina, dipéptidos cíclicos e hidroxiacidos de cadena corta, diacetil, peróxido de hidrógeno, benzoato y antibióticos, además de las ya mencionadas bacteriocinas.

En general los productos mostraron estabilidad durante el almacenamiento ya que en ese tiempo no hubo aumento ni disminución brusca que se pudiera pensar que el producto sufriera deterioro alguno causado por microorganismos productores de ácidos causantes del deterioro. Seguidos el tratamiento T₀ con 200 ppm de sal curante de nitrito con valor de 6.69, presentando menor pH los de tratamientos T₁ con 25 ppm de nisina y T₃ con 15 ppm de sal curante de nitrito y 15 ppm de nisina, con valores de 6,76 y 6.78, aunque en los últimos no se encontró diferencia significativa entre ellos. Los resultados de las medias de los tratamientos se muestran en la **Tabla 5**. La poca variación del pH durante la vida de anaquel **Tabla 11** del producto almacenado indica un buen control en el crecimiento de microorganismos productores de ácidos en especial de ácido láctico y por ende la inocuidad de la salchicha elaborada, siendo esto una muestra de la calidad de la materia prima empleada, los controles de higiene durante el proceso productivo y del buen manejo de la temperatura durante el periodo de almacenamiento. Esta afirmación la corrobora los resultados de los análisis microbiológicos mostrados en el **Cuadro 1**.

Algunos investigadores en el análisis y comportamiento de las salchichas durante el almacenamiento encontraron resultados similares a los de la presente investigación, en cuanto a la estabilidad del producto durante su vida útil con pH de 6,4. (Hilvay, Gómez. L. S. et al 2015.).

7.3. RESULTADOS Y ANÁLISIS SENSORIALES

7.3.1. DISCUSIÓN DE RESULTADOS PARA TRATAMIENTOS Y FORMULACIÓN CON SAL CURANTE DE NITRITO Y NISINA

Tabla 13. Análisis estadístico por tratamientos de las salchichas

Variables	T ₀ (200 ppm S.C.N)	T ₁ (25ppm Nisina)	T ₂ (12.5ppm nisina)	T ₃ 15ppm/15ppm S. C. N/ nisina
Sabor	3,66± 0,22 ^a	3,83± 0,22 ^a	3,83± 0,22 ^a	4,08± 0,22 ^a
Color	3,25± 0,22 ^a	3,33± 0,22 ^a	3,33± 0,22 ^a	3,91± 0,22 ^a
Olor	3,33± 0,24 ^a	3,41± 0,24 ^a	3,50± 0,24 ^a	3,58± 0,24 ^a
Textura	3,50± 0,18 ^a	3,75± 0,18 ^a	3,91± 0,18 ^a	4,00± 0,18 ^a

^{a, b} superíndice con distintas letras entre los tratamientos difieren estadísticamente a un nivel de confianza del 95%

S.C. N= sal curante de nitrito

Nisina

T₀ = 200 ppm S.C.N

T₁ = 25ppm NISINA

T₂ = 12.5 ppm NISINA

T₃ = 15 ppm S.C.N y 15 NISINA

Figura 2. Prueba de aceptación de los salchichas con el tratamiento T₀

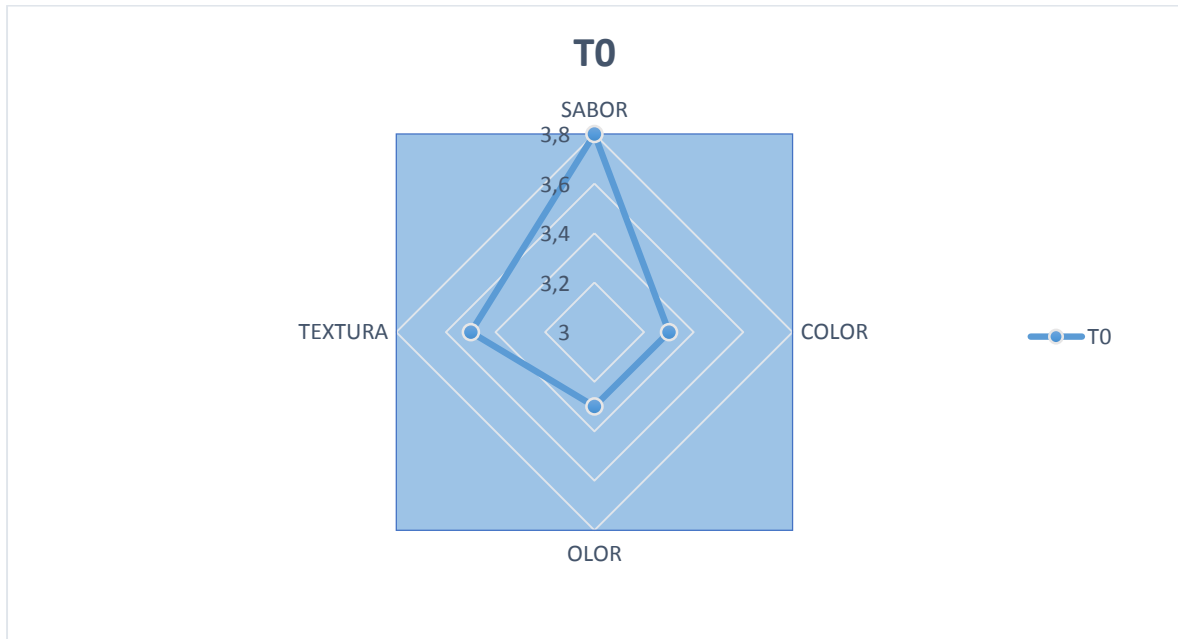


Figura 3. Prueba de aceptación de los salchichas con el tratamiento T₁

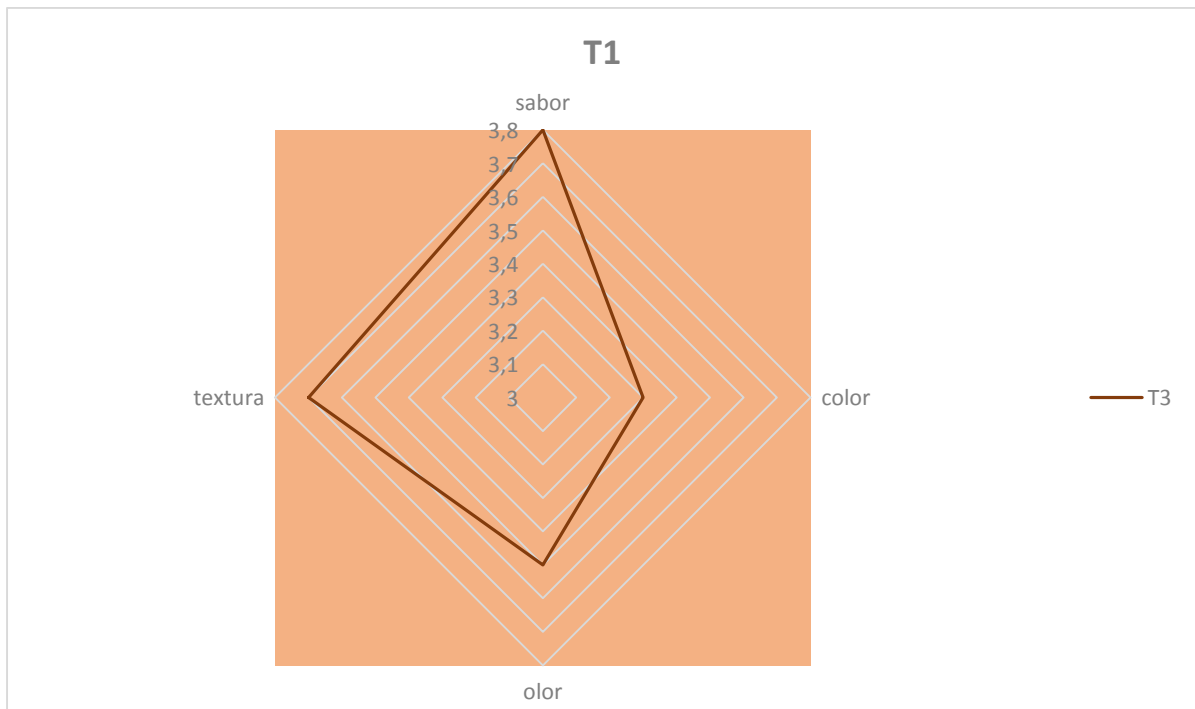


Figura 4. Prueba de aceptación de las salchichas con el tratamiento T₂

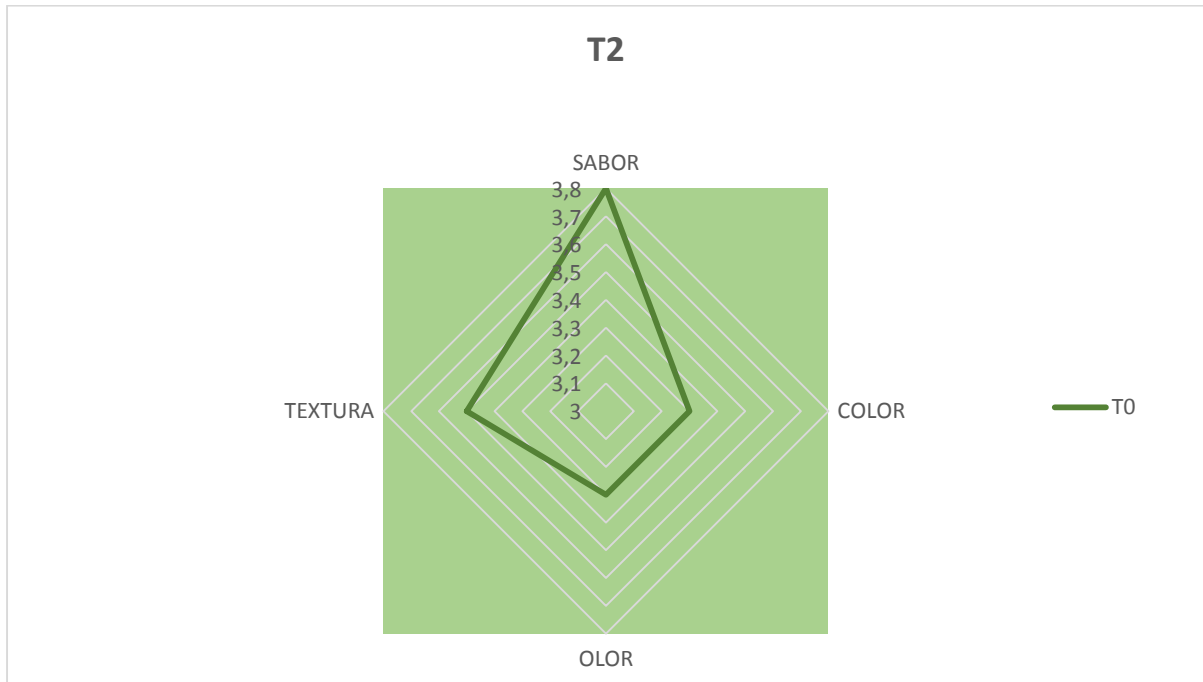
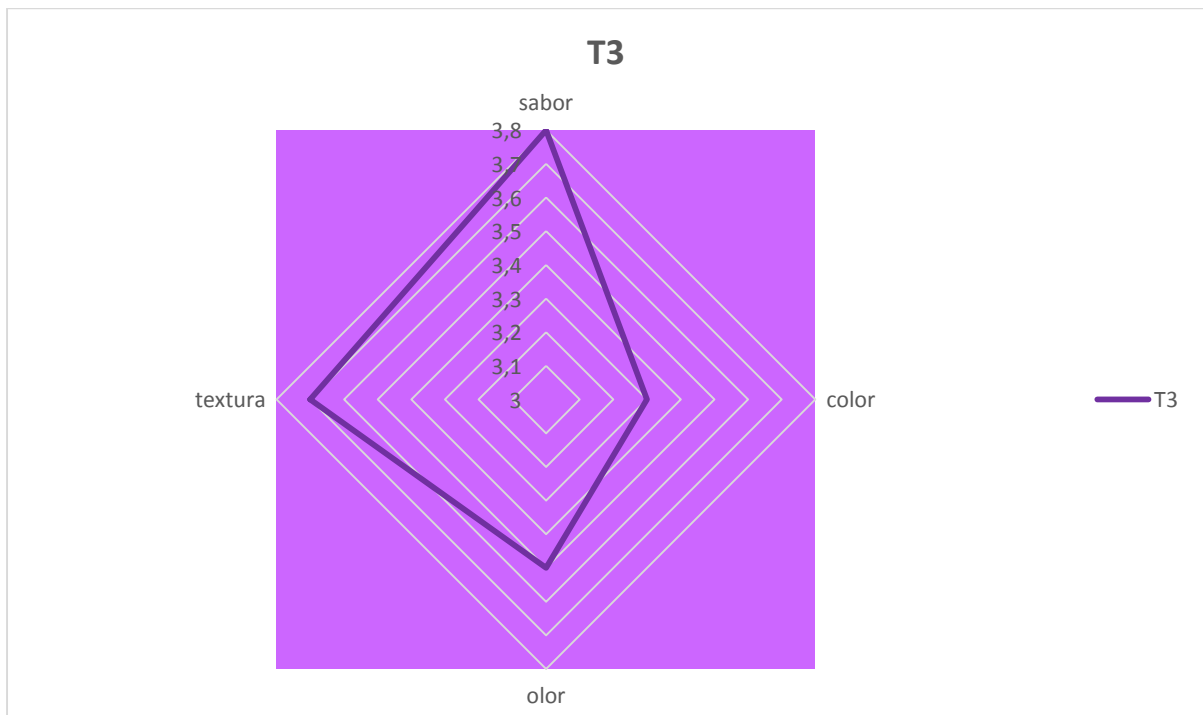


Figura 5. Prueba de aceptación de los salchichas con el tratamiento T₃



- **Determinación del sabor**

Tabla 14. ANOVA para sabor por tratamientos

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1,0625	3	0,354167	0,58	0,6319
Intra grupos	26,9167	44	0,611742		
Total (Corr.)	27,9792	47			

La calificación más alta dada para el sabor, corresponde al tratamiento T₃ 15 ppm de sal curante de nitrito y 15 de nisina con valor de 4.08 Ver **Tabla 12** y **Figura 2**, este tratamiento no tienen diferencia estadísticamente significativa con el tratamiento T₀ ver **Anexo F**. Seguido del tratamiento T₂ y T₁ con 12,5 y 15 ppm de nisina, T₀ con 200 ppm de sal curante de nitrito, no hay diferencia estadísticamente significativa con un nivel del 95% de confianza ver **Anexo D**. el tratamiento T₃ fue el más aceptado por los panelistas con 15 ppm de sal curante de nitrito y 15 de nisina con valor de 4.08, esto quiere decir que la nisina no afecta el sabor característico de la salchicha elaborada con nitrito de sodio. Estos resultados se asemejan a los de (Aníbal Concha 2008) donde las bacterias ácido lácticas (BAL) proporcionan sabor, textura e incrementan el valor nutricional de los alimentos como es el caso de productos fermentados tales como yogurt, quesos madurados, productos cárnicos y también en algunas hortalizas

- **Determinación del olor**

Tabla 15. ANOVA para olor por tratamientos

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	0,416667	3	0,138889	0,19	0,8999
Intra grupos	31,5	44	0,715909		
Total (Corr.)	31,9167	47			

El tratamiento T₃ 15 ppm de sal curante de nitrito y 15 ppm de nisina presenta mayor valor de 3,58 seguido del tratamiento T₂, T₁ y T₀ con valores de 3,5, 3,41 y 3,33 respectivamente. No presento diferencias significativas ver **Anexo G**, el tratamiento con más aceptación por los panelistas fue el T₃ 15 ppm de sal curante de nitrito y 15 ppm de nisina, el curado juega un papel muy importante en el aroma de los embutidos, se debe a una reacción del nitrito con determinados componentes del músculo. El origen podría ser la acción densaminante que ejerce el ácido nitroso sobre los aminoácidos. El aroma específico del curado e originan, por reacciones del nitrito con las proteínas cárnicas hidrosolubles y en los componentes dializables de la carne también se han encontrado compuestos carbonílicos en la carne curada. Actualmente aún se desconoce que sustancias son las que producen, específicamente, el aroma del curado.

Estos resultados se compararon con los de (Moreno, 2012). Donde al utilizar la nisina en la carne de pollo no se encontraron diferencias en el olor y el color, pero sí en la textura, el sabor y la aceptabilidad.

- **Determinación de Color**

Tabla 16. ANOVA para color por tratamientos

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	3,41667	3	1,13889	1,89	0,1450
Intra grupos	26,5	44	0,602273		
Total (Corr.)	29,9167	47			

La calificación más alta dada para el color, corresponde al tratamiento T₃ 15 ppm de sal curante de nitrito y 15 de nisina con valor de ,391 Ver **Tabla 12** y **Figura 2**, este tratamiento no tiene diferencia estadísticamente significativa con el tratamiento con ninguno de los tratamientos ver **Anexo F**. Seguido del tratamiento T₂ y T₁ con 12,5 y 15 ppm de nisina con valor de 3,33 T₀ 200 ppm de sal curante de nitrito, con valor de

3,25. **Anexo H.** Como se puede ver este tratamiento fue el que presentó menor aceptación; debido a que presento un color rojo demasiado intenso a una salchicha que contenga sales del ácido nítrico (nitratos o nitritos de sodio y potasio, las reacciones bioquímicas sucedido entre el nitrito y algunas sustancias componentes de la carne permiten finalmente llegar hasta el NO compuesto este que es la pigmentación de la carne y se une a la mioglobina para formar la coloración característica de los productos curados y es precisamente este color que resulta ser muy parecido al de la carne original. y este puede ser el motivo por el cual está salchicha se evaluó con una calificación inferior al resto de los productos de los tratamientos T₁, T₂, y T₃. A diferencia del T₃ 15 ppm de sal curante de nitrito y 15 de nisina con valor de 3,91 que presento la mayor aceptación con un color característico de la salchichas, se puede decir que la nisina no influye en el color rojo intenso de una salchicha con sal curante de nitrito.

- **Determinación de textura.**

Tabla 17. ANOVA para textura por tratamientos

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1,75	3	0,583333	1,41	0,2517
Intra grupos	18,1667	44	0,412879		
Total (Corr.)	19,9167	47			

Para la textura la mejor calificación dada por los panelistas correspondió al tratamiento T₃ 15 ppm de sal curante de nitrito y 15 ppm de nisina con una calificación de 4.0, este no presenta diferencia significativa ver **Anexo I**, con los demás, seguido de T₂ con valor 3.91, los valores inferiores son los tratamientos T₁ y T₀ con valores de 3,75y 3,5 respectivamente. Esto posiblemente se debió a que en todos los tratamientos se utilizó la misma formulación e igual cantidad de ingredientes que ayudan en la textura tales como: la grasa, la carne, la sal común, los polifosfatos, agua/hielo. Por lo tanto se puede inferir que a pesar de no haber diferencia

estadísticamente significativa el tratamiento T₃ con 15 ppm de sal curante de nitrito y 15 ppm de nisina fue el de mayor aceptación por los panelistas, quizás esto se debe a que la nisina aumenta las propiedades organolépticas del alimento como el sabor y la textura, estos resultados se asemejan a los de los investigadores (Villarreal,2006). En salchichas, el tratamiento conservante con nisina no causó variaciones significativas en el color, sabor y apariencia Tampoco se produjeron alteraciones en el sabor del queso “telita” elaborado con nisina con respecto al control (Sangronis & García, 2007). Sin embargo, en hamburguesas, el empleo de nisina redujo los valores de textura y sabor a rangos intermedios, aunque los mantuvo dentro de los límites aceptables (Gómez et al,2013). Al utilizarla en la carne de pollo no se encontraron diferencias en el olor y el color, pero sí en la textura, el sabor y la aceptabilidad (Moreno, 2012).

En general se puede decir que en el análisis de las pruebas sensoriales el tratamiento T₃ resalta la aceptación por panelistas, no encontraron diferencia entre la nisina y el nitrito, se resalta que hubo una mezcla de nisina con nitrito por lo que presenta un sinergismo entre los dos conservantes. Que influye positivamente en el paladar de los panelistas.

8. CONCLUSIONES

El uso de la Nisina como conservante, es responsable de la inhibición de Coliformes Totales y fecales, y el aumento progresivo de Aerobios Mesófilos, consiguiéndose mejores resultados el Tratamiento T₀ con 200 ppm de sal curante de nitrito al día 0 de la muestra, a medida que aumentan el tiempo de almacenamiento del producto incrementa la carga microbiana. El recuento de aerobios mesofilos es un indicador de salubridad de los alimentos.

Según la consistencia mostrada por las salchichas elaboradas con Nisina, se puede afirmar que esta puede ser empleada para elaborar productos embutidos cocidos y/o escaldados que tengan buena calidad en cuanto a textura, consistencia al corte y facilidad para eliminar el empaque en el cual fue embutido.

La adición de Nisina no tiene influencia negativa en la vida de anaquel en los productos elaborados ya que estos se comportaron en forma estable durante el tiempo de almacenamiento.

La aceptación que tuvo la salchicha elaborada con Nisina es similares a los productos que comúnmente se comercializan en el mercado en cuanto a su apariencia, textura, sabor y olor.

El buen uso de las cantidades de proteínas extrañas o no cárnicas en los productos embutidos permite cumplir con las exigencias de la Legislación Nacional en cuanto al porcentaje de proteína, humedad, grasa.

La inocuidad de estos productos va a depender de una adecuada temperatura de almacenamiento por lo tanto la vida útil de ellos en parte está determinada por las condiciones empleadas en el almacenamiento.

Al aplicar la Nisina actúan como conservador, evitando la rápida proliferación de microorganismos excepto los aerobios mesofilos, que no se mantuvieron dentro del rango permitido.

9. RECOMENDACIONES

Los resultados obtenidos por esta investigación permiten plantear las siguientes recomendaciones que coadyuven a la utilización de ingredientes no tradicionales en la industria cárnica, bien sea en forma individual o combinada con otros de uso común, teniendo en cuenta estas apreciaciones se puede recomendar:

- Aumentar la cantidad de Nisina en cada uno de los tratamientos, para obtener un mejor resultado en la inhibición de los microorganismos Aerobios mesofilos.
- Se debe sensibilizar a los clientes sobre la importancia y las bondades del consumo de productos cárnicos que cuentan con la presencia de la Nisina resaltando que es un conservante natural.
- A las empresas deben utilizar la Nisina en los productos cárnicos cocidos, debido a que este tiene un comportamiento igual al utilizar el conservante artificial (sal curante de nitrito), en los microorganismos Coliformes fecales, estafilococos coagulasa positiva, salmonella, esporas Clostridium sulfito reductor.
- Incorporar de manera permanente las investigaciones que propendan por las mejoras en la formulaciones para la fabricación de los productos cárnicos embutidos al igual que considerar la posibilidad de emplear esencias y otros conservantes naturales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amezquita A, Brashears MM** (2002) Competitive inhibition of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat products by lactic acid bacteria. *J Food Prot* 65:316-325.
- Arias Muñoz Claudia Elena** (2012). Innovación y desarrollo Tecnas S.A. Medellín-Colombia.
- Bibbins-Domingo K, Chertow GM, Coxson PG et al.** (2010) Projected effect of dietary salt reductions on future cardiovascular disease. *New England Journal of Medicine*.
- Coma V** (2008) Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products. *Meat Sci* 78:90–103.
- Corral Sara, flores Mónica.** (2013). Efecto de la reducción de sal en la calidad de los embutidos crudos curados. Instituto de agroquímica y tecnología de los alimentos (IATA-CSIC) Universidad politécnica de valencia.
- Dane** (2015). Análisis del sector cárnico Colombia.
- Elliott P.** (2007) Sodium intakes around the world. Background document prepared for the Forum and Technical meeting on Reducing Salt Intake in Populations.
- Foulquié Moreno MR, Rea MC, Cogan TM et al.,** (2003) Applicability of a bacteriocin-producing *Enterococcus faecium* as a co-culture in Cheddar cheese manufacture. *Int J Food Microbiol* 81: 73-84.
- Gálvez A, Abriouel H, López RL et al.,** (2007) Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *Int J Food Microbiol* 120:51-70
- García, Cabrera Edwin** (2009). Embutidos. Escuela de ingeniería Agroindustrial Universidad del valle del cauca – Cali.
- Gonzalez CF, Kunka BS** (1987) Plasmid-associated bacteriocin production and sucrose fermentation in *Pediococcus acidilactici*. *Appl Environ Microbiol* 53:2534-2538.
- Grande maria , r. lucas, maria. c. lópez aguayo, r. pérez pulido, a. gálvez1** (2011) BIOCONSERVACIÓN DE ALIMENTOS CÁRNICOS

Guía nutricional de carne FEDERACION ESPAÑOLA nutrición, Gaspar M. Teresa.

Huerta-Abrego, L, et al. (2011). Incorporación en salchichas tipo Frankfurt de mezclas de proteínas *Phaseolus lunatus L.* con diferentes almidones. Revista de la Facultad de Ingeniería Química, n° 48. Universidad Autónoma de Yucatán.

Hughes, CH. C (1994). Guía de aditivos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España.

Hussain, M.A. y Basahy, A. (1998). Nutrient composition and aminoacid patterns of caupea (*Vigna unguiculata*(L) walp, fabaceae), grown in the gizan area of Saubi Arabia. International journal of foods Sciences and nutritional. 49 (2): 117-24.

Instituto Colombiano de Bienestar Familiar I.C.B.F (2005). Encuesta nacional de la situación nutricional en Colombia. Bogotá, Colombia

Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA). (1994) Manual Técnico de Análisis para Control de Calidad Microbiológico de Alimentos para Consumo Humano. Bogotá, Colombia.

Instituto Colombiano De Normas Técnicas (2008). Norma 1325. Productos cárnicos elaborados procesados, Quinta actualización.

Jiménez colmenares. F, y Carballo, Santa olay. J (2015) Principio básico de elaboración de embutidos; Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación. Madrid- España.

Leroy F, Lievens K, De Vuyst L (2005) Interactions of meat-associated bacteriocin-producing Lactobacilli with *Listeria innocua* under stringent sausage fermentation conditions. J Food Prot 68:2078-2084.

Lücke FK (2000) Utilization of microbes to process and preserve meat. Meat Sci 56:105-115.

Maragkoudakis et al., 2009). Propiedades funcionales de nuevas bacterias protectoras de ácido láctico y aplicación en carne de pollo crudo contra *Listeria monocytogenes* y *Salmonella enteritidis*.

Marie, Joanne 2014 Guía de proveedores de la industria de alimento contenido de sodio de productos cárnicos.

- Murray CJ, Lauer JA, Hutubessy RC et al.**, (2003) Effectiveness and costs of interventions to lower systolic blood pressure and cholesterol: a global and regional analysis on reduction of cardiovascular-disease risk.
- Nieto-Lozano JC, Reguera-Useros JI, Peláez-Martínez MC et al** (2006) Effect of a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici* against *Listeria monocytogenes* and *Clostridium perfringens* on Spanish raw meat. *Meat Sci* 72:57-61.
- OMS. Global health risks** (2009): Mortality and burden of disease attributable to selected major risks. Geneva, World Health Organization (WHO).
- OMS. Preventing chronic disease** (2005): a vital investment Geneva, World Health Organization.
- O'Sullivan L, Ross RP, Hill C** (2002) Potential of bacteriocin-producing lactic acid bacteria for improvements in food safety and quality. *Biochimie* 84:593-604.
- (Peña Alvarez, 2012)** parámetros fisicoquímicos durante el almacenamiento de salchichas elaboradas a partir de tilapia roja (*Oreochromis* sp.)
- Pérez, L.A** (2012) Productos cárnicos o salsamentarías.
- Rodríguez JM, Martínez MI, Kok J** (2002) Pediocin PA-1, a wide-spectrum bacteriocin from lactic acid bacteria. *Crit Rev Food Sci Nutr* 42:91-121.
- Solomakos N, Govaris A, Koidis P et al** (2008) The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin, and their combination against *Listeria monocytogenes* in minced beef during refrigerated storage. *Food Microbiol* 25:120-127.
- Tinoco, Gabriel** (2016) Elaboración de embutido: aspectos bioquímicos y tecnológicos universidad Anáhuac – México.
- Thomas LV, Clarkson MR, Delves-Broughton J** (2000) Nisin. In: A, S, Naidu, ed., pp. 463-524. *Natural Food Antimicrobial Systems*. CRC-Press, FL.
- Trillas: SEP, 2007 (reimp. 2008)**. pag. 13 -24...Manuales para educación agropecuaria. Industrias rurales.
- Montañez Catalina y Perez Irma** 2007 elaboración y evaluación de una salchicha tipo frankfurt con sustitución de harina de trigo por harina de quinua desaponificada (*Chenopodium quinoa*, wild)

ANEXOS

Anexo A. Prueba de múltiples rangos para Humedad por tratamientos

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

TRATAMIENTOS	Casos	Media	Grupos Homogéneos
T3	12	71,9417	X
T2	12	73,3033	XX
T0	12	74,4133	XX
T1	12	75,9967	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
T0 - T1		-1,58333	1,58376
T0 - T2		1,11	1,58376
T0 - T3	*	2,47167	1,58376
T1 - T2	*	2,69333	1,58376
T1 - T3	*	4,055	1,58376
T2 - T3		1,36167	1,58376

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 3 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Anexo B. Prueba de múltiple rango Tukey para Cenizas

Pruebas de múltiple rangos para ceniza por tratamientos

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

TRATAMIENTOS	Casos	Media	Grupos Homogéneos
T3	12	22,0442	X
T0	12	22,8833	X
T2	12	23,7217	X
T1	12	24,8183	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
T0 - T1		-1,935	5,57272
T0 - T2		-0,838333	5,57272
T0 - T3		0,839167	5,57272
T1 - T2		1,09667	5,57272
T1 - T3		2,77417	5,57272
T2 - T3		1,6775	5,57272

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Anexo C. Prueba de múltiple rango Tukey para proteína

Pruebas de múltiple rangos para proteína por tratamientos

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

TRATAMIENTOS	Casos	Media	Grupos Homogéneos
T3	12	12,1525	X
T1	12	12,2033	X
T2	12	12,6417	X
T0	12	12,7092	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
T0 - T1	*	0,505833	0,10388
T0 - T2		0,0675	0,10388
T0 - T3	*	0,556667	0,10388
T1 - T2	*	-0,438333	0,10388
T1 - T3		0,0508333	0,10388
T2 - T3	*	0,489167	0,10388

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 4 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 2 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Anexo D. Prueba de múltiple rango Tukey para GRASA

Pruebas de múltiple rangos para grasa por tratamientos

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

TRATAMIENTOS	Casos	Media	Grupos Homogéneos
T3	12	8,40667	X
T2	12	8,5	XX
T1	12	8,55417	X
T0	12	8,94917	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
T0 - T1	*	0,395	0,13154
T0 - T2	*	0,449167	0,13154
T0 - T3	*	0,5425	0,13154
T1 - T2		0,0541667	0,13154
T1 - T3	*	0,1475	0,13154
T2 - T3		0,0933333	0,13154

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 4 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Anexo E. Prueba de múltiple rango Tukey para pH

Pruebas de Múltiple Rangos para pH por tratamientos

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

TRATAMIENTOS	Casos	Media	Grupos Homogéneos
T0	12	6,69583	X
T1	12	6,76083	X
T3	12	6,78417	XX
T2	12	6,81333	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
T0 - T1	*	-0,065	0,0472154
T0 - T2	*	-0,1175	0,0472154
T0 - T3	*	-0,0883333	0,0472154
T1 - T2	*	-0,0525	0,0472154
T1 - T3		-0,0233333	0,0472154
T2 - T3		0,0291667	0,0472154

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 4 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Anexo F. Prueba de múltiple rango Tukey para Sabor

Pruebas de múltiple rangos para sabor por tratamientos

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

TRATAMIENTOS	Casos	Media	Grupos Homogéneos
T0	12	3,66667	X
T2	12	3,83333	X
T3	12	3,83333	X
T1	12	4,08333	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
T0 - T1		-0,416667	0,852624
T0 - T2		-0,166667	0,852624
T0 - T3		-0,166667	0,852624
T1 - T2		0,25	0,852624
T1 - T3		0,25	0,852624
T2 - T3		0	0,852624

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Anexo G. Prueba de múltiple rango Tukey para Olor

Pruebas de múltiple rangos para olor por tratamientos

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

TRATAMIENTOS	Casos	Media	Grupos Homogéneos
T2	12	3,33333	X
T0	12	3,41667	X
T3	12	3,5	X
T1	12	3,58333	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
T0 - T1		-0,166667	0,922364
T0 - T2		0,0833333	0,922364
T0 - T3		-0,0833333	0,922364
T1 - T2		0,25	0,922364
T1 - T3		0,0833333	0,922364
T2 - T3		-0,166667	0,922364

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Anexo H. Prueba de múltiple rango Tukey para Color

Pruebas de múltiple rangos para color por tratamientos

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

TRATAMIENTOS	Casos	Media	Grupos Homogéneos
T1	12	3,25	X
T2	12	3,33333	X
T3	12	3,33333	X
T0	12	3,91667	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
T0 - T1		0,666667	0,845999
T0 - T2		0,583333	0,845999
T0 - T3		0,583333	0,845999
T1 - T2		-0,0833333	0,845999
T1 - T3		-0,0833333	0,845999
T2 - T3		0	0,845999

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Anexo I. Prueba de múltiple rango Tukey para Textura

Pruebas de múltiple rangos para textura por tratamientos

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

TRATAMIENTOS	Casos	Media	Grupos Homogéneos
T2	12	3,5	X
T3	12	3,75	X
T1	12	3,91667	X
T0	12	4,0	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
T0 - T1		0,0833333	0,700462
T0 - T2		0,5	0,700462
T0 - T3		0,25	0,700462
T1 - T2		0,416667	0,700462
T1 - T3		0,166667	0,700462
T2 - T3		-0,25	0,700462

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. No hay diferencias estadísticamente significativas entre cualquier par de medias, con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se ha identificado un grupo homogéneo, según la alineación de las X's en columna. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.



S.A. de C.V

NISINA

Antimicrobiano natural producido por fermentación de cepas de *Lactococcus lactis subsp. lactis*.

El compuesto activo de la **Nisina** es precisamente la Nisina.

CARACTERÍSTICAS

Actividad Nisina: Nisina
mín. 1,000 ui por Mg. Vehículo:
Cloruro

sódico 50%

Descripción: Polvo de color crema a blanco oscuro, micronizado y secado por pulverización mezclado con cloruro sódico micronizado.

Solubilidad: Alta solubilidad en agua y en la mayoría de solventes orgánicos.

Humedad: No superior al 3% (w/w).

Valor de pH: En suspensión de agua al 10% 3.10 a 3.60.

- La Nisina es un polipéptido producido por la fermentación de varias cepas de *Lactococcus lactis subsp. lactis*; presenta actividad como un conservador natural para los alimentos con una alta eficiencia y no es tóxico.

- La Nisina es eficaz contra una amplia gama de bacterias Gram positivas, particularmente contra las que producen esporas resistentes al calor. Inhibe ciertas cepas de patógenos en los alimentos, tales

como *Clostridium spp.*, *Clostridium botulinum*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus hemolyticus*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus stearothermophilus* y otros. **La Nisina no tiene ningún efecto contra bacterias Gram-negativas, levaduras ni mohos.**

- La Nisina es utilizada en numerosos procesos térmicos en alimentos, aplicaciones para enlatados, queso ricota, huevo líquido, leche pasteurizada y saborizadas, bebidas, quesos procesados, otros derivados lácteos, productos fermentados, productos cárnicos, sopas instantáneas, alimentos de origen vegetal, etc.

- El uso de la Nisina como conservador alimenticio puede reducir las temperaturas de tratamiento térmico así como reducir el tiempo de estos tratamientos, de tal forma que permite un ahorro en los consumos de energía en los procesos, mejora el valor nutricional, la apariencia, el sabor y la textura de los alimentos, además de incrementar de manera significativa la vida de anaquel del producto.

Áreas de aplicación:

- Productos lácteos: Quesos fundidos y de reproceso, quesos frescos directamente acidificados, postres lácteos pasteurizados, yoghurts, leches re combinadas y con aromas y sabores
- Productos de huevo líquido pasteurizado
- Aderezos y aliños con valor de pH bajo
- Conservas
- Sopas instantáneas
- Productos cárnicos
- Zumos de frutas pasteurizados
- Procesos de fermentación y productos fermentados como la cerveza

Nivel de Aplicación:

La Nisina es utilizada en gran variedad de productos alimenticios, ya sea solo o en combinación de otros conservadores (ejemplo ácido benzóico o ácido sórbico).

Por su buena solubilidad en medios acuosos puede previamente quedar suspendido

en solución de agua pasteurizada o leche y aplicado posteriormente en el alimento tratado térmicamente. También puede dosificarse en forma directa como un polvo seco, en aquellos alimentos que por su naturaleza así lo permitan.

En cuanto a los niveles de dosificación sugeridos, típicamente comprenden rangos de **10 a 500 mg por kilogramo o litro** de alimento. Esto es sólo una guía, por lo que la dosis exacta dependerá de la naturaleza del alimento, de las condiciones de elaboración, de la carga microbiológica y de los requerimientos de la vida de anaquel.

Almacenamiento:

Puede almacenarse a temperatura ambiente. Es estable por dos años a partir de la fecha de elaboración cuando se almacena en el envase original en condiciones secas, alejado de la luz directa y a una temperatura de 4 ° 25°C.

Anexo K. Resultados de Análisis microbiológicos y resultados de pruebas Físicoquímicas Proteína - Grasa

REPORTE DE ENSAYO No 1307_R1

ODS No.	1307_R1
Códigos:	0917-1307

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

CLIENTE:	ESTUDIANTES INGENIERIA AGROINDUSTRIAL			NIT/C.C.	11081806992/1079938209
CONTACTO/CARGO:	JENIS KARINA MORON PERTUZ, LAURA MARCELA MONTENEGRO BORJA	DIRECCIÓN:	UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR		
DEPARTAMENTO:	CESAR	MUNICIPIO:	VALLEDUPAR	TELÉFONO:	3014413236

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

CÓDIGO	NATURALEZA DE LA MUESTRA	IDENTIFICACIÓN	LUGAR DE MUESTREO	MUESTRA TOMADA POR		Cliente		
				FECHA DE MUESTREO	HORA:	2017-09-22	08:00 am	
0917-1307	SALCHICHA	DIFERENTES TRATAMIENTO DE SALCHICHA	PLANTA UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR	FECHA DE INGRESO MUESTRA	2017-09-22	HORA:	08:30 am	
				FECHA INICIO DE ENSAYOS	2017-09-22			
				FECHA FINALIZ. DE ENSAYO	2017-09-22			
				FECHA DE REPORTE	2017-09-22			

N.A. No aplica

N.I: Información no suministrada

FISICO-QUÍMICOS



MICROBIOLÓGICOS



III. RESULTADOS

ENSAYOS	UNID.	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	TÉCNICA	MÉTODO
		0917-1307-1 12,5 ppm Nisina	0917-1307-2 15 ppm Nisina	0917-1307-3 25ppm Nisina	0917-1307-4 200ppm Nitrato		
Proteína	%	12,70	12,06	12,10	12,77	Kjedhal	AOAC 2001.11
Grasa	%	8,25	8,44	8,55	9,0	Gravimetría	AOAC 960.39
<i>Aerobios mesófilos</i>	UFC/g	450 X10 ⁴	450 X10 ⁴	450 X10 ⁴	100 X10 ²	Petrifilm	AOAC 121403
<i>Bacillus cereus</i>	UFC/g	<100	<100	<100	<100	Recuento en placa	AOAC 980.31
<i>Coliformes Totales</i>	NPM/g	<3	<3	<3	<3	NPM	NPM
<i>Coliformes fecales</i>	NPM/g	<3	<3	<3	<3	NPM	NPM
<i>Salmonella</i>	Aus/Pre	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	Aus/Pres	ISO:6579:2002
<i>Staphylococcus aureus coagulasa positiva</i>	UFC/g	<100	<100	<100	<100	Pretrifilm	AOAC 2003.11

Observaciones.

Nota: Los resultados sólo están relacionados con las muestras analizadas. Es válido únicamente con firmas y en original. Este informe de resultados no deberá reproducirse parcial ni totalmente sin la aprobación por escrito del Laboratorio. LABORATORIOS BIOINDALAMAB se compromete a mantener la confidencialidad de los resultados de los ensayos.

PEDRO JOSE FRAGOSO C.

Bacteriologo MSc. PhD.
Director Técnico

REPORTE DE ENSAYO
No 1307_R2

ODS No.	1307_R2
Códigos:	0917-1307

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

CLIENTE:	ESTUDIANTES INGENIERIA AGROINDUSTRIAL			NIT/C.C.	11081806992/1079938209
CONTACTO/CARGO:	JENIS KARINA MORON PERTUZ, LAURA MARCELA MONTENEGRO BORJA	DIRECCIÓN:	UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR		
DEPARTAMENTO:	CESAR	MUNICIPIO:	VALLEDUPAR	TELÉFONO:	3014413236

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

CÓDIGO	NATURALEZA DE LA MUESTRA	IDENTIFICACIÓN	LUGAR DE MUESTREO	MUESTRA TOMADA POR	Cliente		
				FECHA DE MUESTREO	2017-09-22	HORA:	08:00 am
0917-1307	SALCHICHA	DIFERENTES TRATAMIENTO DE SALCHICHA	PLANTA UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR	FECHA DE INGRESO MUESTRA	2017-09-22	HORA:	08:30 am
				FECHA INICIO DE ENSAYOS	2017-09-22		
				FECHA FINALIZ. DE ENSAYO	2017-09-22		
				FECHA DE REPORTE	2017-09-22		

N.A. No aplica

N.I: Información no suministrada

FISICO-QUÍMICOS



MICROBIOLÓGICOS



III. RESULTADOS

ENSAYOS	UNID.	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	TÉCNICA	MÉTODO
		0917-1307-1 12,5 ppm Nisina	0917-1307-2 15 ppm Nisina	0917-1307-3 25ppm Nisina	0917-1307-4 200ppm Nitrate		
Proteína	%	12,80	12,11	12,20	12,85	Kjedhal	AOAC 2001.11
Grasa	%	8,36	8,39	8,67	8,90	Gravimetría	AOAC 960.39
<i>Aerobios mesófilos</i>	UFC/g	440 X10 ⁴	470 X10 ⁴	480 X10 ⁴	90 X10 ²	Petrefilm	AOAC 121403
<i>Bacillus cereus</i>	UFC/g	<100	<100	<100	<100	Recuento en placa	AOAC 980.31
<i>Coliformes Totales</i>	NPM/g	<3	<3	<3	<3	NPM	NPM
<i>Coliformes fecales</i>	NPM/g	<3	<3	<3	<3	NPM	NPM
<i>Salmonella</i>	Aus/Pre	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	Aus/Pres	ISO:6579:2002
<i>Staphylococcus aureus coagulasa positiva</i>	UFC/g	<100	<100	<100	<100	Pretrifilm	AOAC 2003.11

Observaciones.

Nota: Los resultados sólo están relacionados con las muestras analizadas. Es válido únicamente con firmas y en original. Este informe de resultados no deberá reproducirse parcial ni totalmente sin la aprobación por escrito del Laboratorio. LABORATORIOS BIOINDALAMAB se compromete a mantener la confidencialidad de los resultados de los ensayos.

PEDRO JOSE FRAGOSO C.
Bacteriologo MSc. PhD.
Director Técnico

REPORTE DE ENSAYO
No 1311_R1

ODS No.	1311_R1
Códigos:	1017-1311

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

CLIENTE:	ESTUDIANTES INGENIERIA AGROINDUSTRIAL	NIT/C.C.	11081806992/1079938209
CONTACTO/CARGO:	JENIS KARINA MORON PERTUZ, LAURA MARCELA MONTENEGRO BORJA	DIRECCIÓN:	UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR
DEPARTAMENTO:	CESAR	MUNICIPIO:	VALLEDUPAR
		TELÉFONO:	3014413236

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

CÓDIGO	NATURALEZA DE LA MUESTRA	IDENTIFICACIÓN	LUGAR DE MUESTREO	MUESTRA TOMADA POR		Cliente	
				FECHA DE MUESTREO	HORA:	2017-10-02	08:00 am
1017-1311	SALCHICHA	DIFERENTES TRATAMIENTO DE SALCHICHA	PLANTA UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR	FECHA DE INGRESO MUESTRA	2017-10-02	HORA:	08:30 am
				FECHA INICIO DE ENSAYOS	2017-10-02		
				FECHA FINALIZ. DE ENSAYO	2017-10-10		
				FECHA DE REPORTE	2017-10-10		

N.A. No aplica

N.I. Información no suministrada

FISICO-QUÍMICOS



MICROBIOLÓGICOS



III. RESULTADOS

ENSAYOS	UNID.	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	TÉCNICA	MÉTODO
		1017-1311-1 12,5 ppm Nisina	1017-1311-2 15 ppm Nisina	1017-1311-3 25ppm Nisina	1017-1311-4 200ppm Nitrate		
Proteína	%	12,65	12,09	12,15	12,68	Kjedhal	AOAC 2001.11
Grasa	%	8,60	8,55	8,70	9,10	Gravimetría	AOAC 960.39
<i>Aerobios mesófilos</i>	UFC/g	610 X10 ⁴	690 X10 ⁴	710 X10 ⁴	140 X10 ²	Petrifilm	AOAC 121403
<i>Bacillus cereus</i>	UFC/g	<100	<100	<100	<100	Recuento en placa	AOAC 980.31
<i>Coliformes Totales</i>	NPM/g	<3	<3	<3	<3	NPM	NPM
<i>Coliformes fecales</i>	NPM/g	<3	<3	<3	<3	NPM	NPM
<i>Salmonella</i>	Aus/Pre	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	Aus/Pres	ISO:6579:2002
<i>Staphylococcus aureus coagulasa positiva</i>	UFC/g	<100	<100	<100	<100	Pretrifilm	AOAC 2003.11

Observaciones.

Nota: Los resultados sólo están relacionados con las muestras analizadas. Es válido únicamente con firmas y en original. Este informe de resultados no deberá reproducirse parcial ni totalmente sin la aprobación por escrito del Laboratorio. LABORATORIOS BIOINDALAMAB se compromete a mantener la confidencialidad de los resultados de los ensayos.

PEDRO JOSE FRAGOSO C.

Bacteriólogo MSc. PhD.

Director Técnico

REPORTE DE ENSAYO
No 1311_R2

ODS No.	1311_R2
Códigos:	1017-1311

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

CLIENTE:	ESTUDIANTES INGENIERIA AGROINDUSTRIAL			NIT/C.C.	11081806992/1079938209
CONTACTO/CARGO:	JENIS KARINA MORON PERTUZ, LAURA MARCELA MONTENEGRO BORJA	DIRECCIÓN:	UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR		
DEPARTAMENTO:	CESAR	MUNICIPIO:	VALLEDUPAR	TELÉFONO:	3014413236

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

CÓDIGO	NATURALEZA DE LA MUESTRA	IDENTIFICACIÓN	LUGAR DE MUESTREO	MUESTRA TOMADA POR			Cliente	
				FECHA DE MUESTREO	HORA:		2017-10-02	08:00 am
1017-1311	SALCHICHA	DIFERENTES TRATAMIENTO DE SALCHICHA	PLANTA UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR	FECHA DE INGRESO MUESTRA	2017-10-02	HORA:	08:30 am	
				FECHA INICIO DE ENSAYOS	2017-10-02			
				FECHA FINALIZ. DE ENSAYO	2017-10-10			
				FECHA DE REPORTE	2017-10-10			

N.A. No aplica

N.I: Información no suministrada

FISICO-QUÍMICOS



MICROBIOLÓGICOS



III. RESULTADOS

ENSAYOS	UNID.	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	TÉCNICA	MÉTODO
		1017-1311-1 12,5 ppm Nisina	1017-1311-2 15 ppm Nisina	1017-1311-3 25ppm Nisina	1017-1311-4 200ppm Nitrito		
Proteína	%	12,50	12,18	12,27	12,71	Kjedhal	AOAC 2001.11
Grasa	%	8,51	8,47	8,54	9,05	Gravimetría	AOAC 960.39
<i>Aerobios mesófilos</i>	UFC/g	600 X10 ⁴	660 X10 ⁴	690 X10 ⁴	130 X10 ²	Petrifilm	AOAC 121403
<i>Bacillus cereus</i>	UFC/g	<100	<100	<100	<100	Recuento en placa	AOAC 980.31
<i>Coliformes Totales</i>	NPM/g	<3	<3	<3	<3	NPM	NPM
<i>Coliformes fecales</i>	NPM/g	<3	<3	<3	<3	NPM	NPM
<i>Salmonella</i>	Aus/Pre	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	Aus/Pres	ISO:6579:2002
<i>Staphylococcus aureus coagulasa positiva</i>	UFC/g	<100	<100	<100	<100	Pretrifilm	AOAC 2003.11

Observaciones.

Nota: Los resultados sólo están relacionados con las muestras analizadas. Es válido únicamente con firmas y en original. Este informe de resultados no deberá reproducirse parcial ni totalmente sin la aprobación por escrito del Laboratorio. LABORATORIOS BIOINDALAMAB se compromete a mantener la confidencialidad de los resultados de los ensayos.

PEDRO JOSE FRAGOSO C.

*Bacteriólogo MSc. PhD.
Director Técnico*

REPORTE DE ENSAYO

No 1326_R1

ODS No.	1326_R1
Códigos:	1017-1326

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

CLIENTE:	ESTUDIANTES INGENIERIA AGROINDUSTRIAL			NIT/C.C.	11081806992/1079938209
CONTACTO/CARGO:	JENIS KARINA MORON PERTUZ,/LAURA MARCELA MONTENEGRO BORJA	DIRECCIÓN:	UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR		
DEPARTAMENTO:	CESAR	MUNICIPIO:	VALLEDUPAR	TELÉFONO:	3014413236

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

CÓDIGO	NATURALEZA DE LA MUESTRA	IDENTIFICACIÓN	LUGAR DE MUESTREO	MUESTRA TOMADA POR		Cliente		
				FECHA DE MUESTREO	2017-10-12	HORA:	08:00 am	
1017-1326	SALCHICHA	DIFERENTES TRATAMIENTO DE SALCHICHA	PLANTA UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR	FECHA DE INGRESO MUESTRA	2017-10-12	HORA:	08:30 am	
				FECHA INICIO DE ENSAYOS	2017-10-12			
				FECHA FINALIZ. DE ENSAYO	2017-10-20			
				FECHA DE REPORTE	2017-10-20			

N.A. No aplica

N.I: Información no suministrada

FISICO-QUÍMICOS



MICROBIOLÓGICOS



III. RESULTADOS

ENSAYOS	UNID.	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	TÉCNICA	MÉTODO
		1017-1326-1 12,5 ppm Nisina	1017-1326-2 15 ppm Nisina	1017-1326-3 25ppm Nisina	1017-1326-4 200ppm Nitrato		
Proteína	%	12,72	12,00	12,12	12,80	Kjedhal	AOAC 2001.11
Grasa	%	8,66	8,44	8,67	9,05	Gravimetría	AOAC 960.39
<i>Aerobios mesófilos</i>	UFC/g	840 X10 ⁴	900 X10 ⁴	880 X10 ⁴	300 X10 ³	Petrifilm	AOAC 121403
<i>Bacillus cereus</i>	UFC/g	<100	<100	<100	<100	Recuento en placa	AOAC 980.31
<i>Coliformes</i>	NPM/g	<3	<3	<3	<3	NPM	NPM
<i>Coliformes fecales</i>	NPM/g	<3	<3	<3	<3	NPM	NPM
<i>Salmonella</i>	Aus/Pr	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	Aus/Pres	ISO:6579:2002
<i>Staphylococcus aureus coagulasa positiva</i>	UFC/g	<100	<100	<100	<100	Pretrifilm	AOAC 2003.11

Observaciones.

Nota: Los resultados sólo están relacionados con las muestras analizadas. Es válido únicamente con firmas y en original. Este informe de resultados no deberá reproducirse parcial ni totalmente sin la aprobación por escrito del Laboratorio. LABORATORIOS BIOINDALAMAB se compromete a mantener la confidencialidad de los resultados de los ensayos.

PEDRO JOSE FRAGOSO C.

Bacteriólogo MSc. PhD.

Director Técnico

REPORTE DE ENSAYO
No 1326_R2

ODS No.	1326_R2
Códigos:	1017-1326

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

CLIENTE:	ESTUDIANTES INGENIERIA AGROINDUSTRIAL			NIT/C.C.	11081806992/1079938209
CONTACTO/CARGO:	JENIS KARINA MORON PERTUZ, LAURA MARCELA MONTENEGRO BORJA	DIRECCIÓN:	UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR		
DEPARTAMENTO:	CESAR	MUNICIPIO:	VALLEDUPAR	TELÉFONO:	3014413236

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

CÓDIGO	NATURALEZA DE LA MUESTRA	IDENTIFICACIÓN	LUGAR DE MUESTREO	MUESTRA TOMADA POR		Cliente		
				FECHA DE MUESTREO	HORA	2017-10-12	08:00 am	
1017-1326	SALCHICHA	DIFERENTES TRATAMIENTO DE SALCHICHA	PLANTA UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR	FECHA DE INGRESO MUESTRA	2017-10-12	HORA:	08:30 am	
				FECHA INICIO DE ENSAYOS	2017-10-12			
				FECHA FINALIZ. DE ENSAYO	2017-10-20			
				FECHA DE REPORTE	2017-10-20			

N.A. No aplica

N.I: Información no suministrada

FISICO-QUÍMICOS



MICROBIOLÓGICOS



III. RESULTADOS

ENSAYOS	UNID.	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	TÉCNICA	MÉTODO
		1017-1326-1 12,5 ppm Nisina	1017-1326-2 15 ppm Nisina	1017-1326-3 25ppm Nisina	1017-1326-4 200ppm Nitrate		
Proteína	%	12,60	12,14	12,20	12,72	Kjedhal	AOAC 2001.11
Grasa	%	8,71	8,35	8,58	8,90	Gravimetría	AOAC 960.39
Aerobios	UFC/g	770 X10 ⁴	830 X10 ⁴	840 X10 ⁴	360 X10 ³	Petrifilm	AOAC 121403
<i>Bacillus cereus</i>	UFC/g	<100	<100	<100	<100	Recuento en placa	AOAC 980.31
<i>Coliformes</i>	NPM/g	<3	<3	<3	<3	NPM	NPM
<i>Coliformes fecales</i>	NPM/g	<3	<3	<3	<3	NPM	NPM
<i>Salmonella</i>	Aus/Pr	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	Aus/Pres	ISO:6579:2002
<i>Staphylococcus aureus coagulasa positiva</i>	UFC/g	<100	<100	<100	<100	Pretrifilm	AOAC 2003.11

Observaciones.

Nota: Los resultados sólo están relacionados con las muestras analizadas. Es válido únicamente con firmas y en original. Este informe de resultados no deberá reproducirse parcial ni totalmente sin la aprobación por escrito del Laboratorio. LABORATORIOS BIOINDALAMAB se compromete a mantener la confidencialidad de los resultados de los ensayos.

PEDRO JOSE FRAGOSO C.

*Bacteriólogo MSc. PhD.
Director Técnico*

REPORTE DE ENSAYO
No 1333_R1

ODS No.	1333_R1
Códigos:	1017-1333

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

CLIENTE:	ESTUDIANTES INGENIERIA AGROINDUSTRIAL			NIT/C.C.	11081806992/1079938209
CONTACTO/CARGO:	JENIS KARINA MORON PERTUZ, LAURA MARCELA MONTENEGRO BORJA	DIRECCIÓN:	UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR		
DEPARTAMENTO:	CESAR	MUNICIPIO:	VALLEDUPAR	TELÉFONO:	3014413236

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

CÓDIGO	NATURALEZA DE LA MUESTRA	IDENTIFICACIÓN	LUGAR DE MUESTREO	MUESTRA TOMADA POR		Cliente	
				FECHA DE MUESTREO	FECHA DE INGRESO MUESTRA	2017-10-22	HORA:
1017-1333	SALCHICHA	DIFERENTES TRATAMIENTO DE SALCHICHA	PLANTA UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR	2017-10-22	2017-10-22	HORA:	08:30 am
				FECHA INICIO DE ENSAYOS		2017-10-22	
				FECHA FINALIZ. DE ENSAYO		2017-10-30	
				FECHA DE REPORTE		2017-10-30	

N.A. No aplica

N.I. Información no suministrada

FISICO-QUÍMICOS



MICROBIOLÓGICOS



III. RESULTADOS

ENSAYOS	UNID.	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	TÉCNICA	MÉTODO
		1017-1326-1 12,5 ppm Nisina	1017-1326-2 15 ppm Nisina	1017-1326-3 25ppm Nisina	1017-1326-4 200ppm Nitrato		
Proteína	%	12,68	12,35	12,27	12,60	Kjedhal	AOAC 2001.11
Grasa	%	8,50	8,28	8,33	8,7	Gravimetría	AOAC 960.39
Aerobios mesófilos	UFC/g	40 X10 ⁵	50 X10 ⁵	40 X10 ⁵	500 X10 ³	Petrfilm	AOAC 121403
Bacillus cereus	UFC/g	<100	<100	<100	<100	Recuento en placa	AOAC 980.31
Coliformes	NPM/g	<3	<3	<3	<3	NPM	NPM
Coliformes fecales	NPM/g	<3	<3	<3	<3	NPM	NPM
Salmonella	Aus/Pr	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	Aus/Pres	ISO:6579:2002
Staphylococcus aureus coagulasa positiva	UFC/g	<100	<100	<100	<100	Pretrifilm	AOAC 2003.11

Observaciones.

Nota: Los resultados sólo están relacionados con las muestras analizadas. Es válido únicamente con firmas y en original. Este informe de resultados no deberá reproducirse parcial ni totalmente sin la aprobación por escrito del Laboratorio. LABORATORIOS BIOINDALAMAB se compromete a mantener la confidencialidad de los resultados de los ensayos.

PEDRO JOSE FRAGOSO C.

Bacteriólogo MSc. PhD.
Director Técnico

REPORTE DE ENSAYO
No 1333_R2

ODS No.	1333_R2
Códigos:	1017-1333

I. INFORMACIÓN DEL SOLICITANTE

CLIENTE:	ESTUDIANTES INGENIERIA AGROINDUSTRIAL			NIT/C.C.	11081806992/1079938209
CONTACTO/CARGO:	JENIS KARINA MORON PERTUZ, LAURA MARCELA MONTENEGRO BORJA	DIRECCIÓN:	UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR		
DEPARTAMENTO:	CESAR	MUNICIPIO:	VALLEDUPAR	TELÉFONO:	3014413236

II. INFORMACIÓN DE LA MUESTRA

CÓDIGO	NATURALEZA DE LA MUESTRA	IDENTIFICACIÓN	LUGAR DE MUESTREO	MUESTRA TOMADA POR		Cliente		
				FECHA DE MUESTREO	HORA:	2017-10-22	08:00 am	
1017-1333	SALCHICHA	DIFERENTES TRATAMIENTO DE SALCHICHA	PLANTA UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR	FECHA DE INGRESO MUESTRA	2017-10-22	HORA:	08:30 am	
				FECHA INICIO DE ENSAYOS	2017-10-22			
				FECHA FINALIZ. DE ENSAYO	2017-10-30			
				FECHA DE REPORTE	2017-10-30			

N.A. No aplica

N.I: Información no suministrada

FISICO-QUÍMICOS



MICROBIOLÓGICOS



III. RESULTADOS

ENSAYOS	UNID.	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	CÓDIGO DE LA MUESTRA	TÉCNICA	MÉTODO
		1017-1326-1 12,5 ppm Nisina	1017-1326-2 15 ppm Nisina	1017-1326-3 25ppm Nisina	1017-1326-4 200ppm Nitrito		
Proteína	%	12,49	12,30	12,32	12,55	Kjedhal	AOAC 2001.11
Grasa	%	8,42	8,34	8,40	8,9	Gravimetría	AOAC 960.39
<i>Aerobios mesófilos</i>	UFC/g	55 X10 ⁵	54 X10 ⁵	66 X10 ⁵	440 X10 ³	Petrefilm	AOAC 121403
<i>Bacillus cereus</i>	UFC/g	<100	<100	<100	<100	Recuento en placa	AOAC 980.31
<i>Coliformes</i>	NPM/g	<3	<3	<3	<3	NPM	NPM
<i>Coliformes</i>	NPM/g	<3	<3	<3	<3	NPM	NPM
<i>Salmonella</i>	Aus/Pr	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	AUSENCIA	Aus/Pres	ISO:6579:2002
<i>Staphylococcus aureus coagulasa positiva</i>	UFC/g	<100	<100	<100	<100	Pretrifilm	AOAC 2003.11

Observaciones.

Nota: Los resultados sólo están relacionados con las muestras analizadas. Es válido únicamente con firmas y en original. Este informe de resultados no deberá reproducirse parcial ni totalmente sin la aprobación por escrito del Laboratorio. LABORATORIOS BIOINDALAMAB se compromete a mantener la confidencialidad de los resultados de los ensayos.

PEDRO JOSE FRAGOSO C.

Bacteriólogo MSc. PhD.

Director Técnico

Anexo L. Resultado de análisis sensorial

T ₀	SABOR	4	4	4	3	3	4	3	4	4	4	3	4	4	3	3	4	4	4	5	2	5	4	4	4	4
	OLOR	4	4	3	4	3	3	2	4	4	4	3	3	4	3	4	4	2	4	4	4	5	3	3	4	3
	COLOR	3	4	4	4	4	5	4	4	4	4	2	5	4	5	3	5	4	4	4	4	5	4	5	5	4
	TEXTURA	4	4	4	4	3	4	4	4	5	5	3	4	4	4	4	5	2	4	4	4	4	4	3	4	4
T ₁	SABOR	4	5	3	4	4	3	4	5	4	4	4	5	3	4	2	4	4	4	4	3	3	2	3	5	5
	OLOR	4	4	4	5	2	2	3	3	2	4	5	5	3	2	4	4	2	4	4	5	4	3	4	3	4
	COLOR	4	4	3	4	3	3	3	4	2	3	4	2	4	1	4	2	3	4	4	2	3	3	3	3	3
	TEXTURA	4	4	4	4	4	3	3	5	4	3	4	5	4	4	2	4	4	4	4	2	3	4	4	5	3
T ₂	SABOR	4	5	4	3	3	5	3	2	5	4	5	3	4	3	4	3	4	4	4	3	3	2	2	4	5
	OLOR	4	4	4	3	3	4	3	3	2	3	4	3	3	1	4	3	3	4	4	2	4	1	4	4	3
	COLOR	3	4	3	3	3	4	4	3	3	3	5	2	4	1	4	2	4	4	4	2	5	3	3	4	5
	TEXTURA	4	4	4	4	2	4	3	2	4	4	3	4	3	2	4	4	4	4	4	3	2	3	4	5	5
T ₃	SABOR	3	4	4	3	3	4	3	3	5	5	5	4	2	3	5	3	4	4	2	5	3	4	4	5	5
	OLOR	3	4	5	4	2	3	3	4	3	4	4	3	3	5	3	3	3	4	3	4	5	3	4	4	4
	COLOR	3	4	3	3	3	3	4	4	3	3	5	2	4	2	3	2	3	4	1	2	3	3	3	4	3
	TEXTURA	3	4	4	4	3	4	3	4	4	4	4	4	4	2	3	4	4	4	4	1	4	3	4	2	5
PANELISTAS	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	

USO DE LA NISINA

UTILIZACIÓN DE LA NISINA COMO CONSERVANTE DE LA SALCHICHA TIPO PERRO BAJO CONDICIONES DE LA PLANTA PILOTO DE LA UNIVERSIDAD POPULAR DEL CESAR.

Montenegro Borja Laura; Morón Pertuz Jenis

Universidad popular del cesar.

ABSTRACT

Sausages were prepared, manufactured and analyzed with bovine meat using nitrite and nisin curing salt, having as a general objective "use of nisin as a preservative of the dog-like sausage under the conditions of the pilot plant of the popular university of Cesar" . A completely randomized design was used with four treatments and three repetitions per treatment; the control treatment T0 was made with 100% nitrite curing salt, the treatment T1 with 100% Nisin, the treatment T2 100% nisin, and the treatment T3 with 50% Nisin and 50% nitrite; the statistical analyzes were done with the Statgraphics Centurión XVI program, with a confidence level of 95%.

RESUMEN

Se formularon, fabricaron y analizaron salchichas con carne de bovino empleando sal curante de nitrito y nisina, teniendo como objetivo general "utilización de la nisina como conservante de la salchicha tipo perro bajo condiciones de la planta piloto de la universidad popular del cesar". Se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos y tres repeticiones por tratamiento; el tratamiento testigo T0 se hizo con 100% de sal curante de nitrito, el tratamiento T1 con 100% de Nisina, el tratamiento T2 100% nisina, y el tratamiento T3 con 50% de Nisina y 50% de nitrito; los análisis estadísticos fueron hechos con el programa Statgraphics Centurión XVI, con un nivel de confianza del 95%.

1. INTRODUCCIÓN

Existe últimamente una importante tendencia por parte de los consumidores de preferir y reclamar alimentos naturales con poco procesamiento y sin uso de conservantes sintéticos o no naturales. Siguiendo esta tendencia se ha tenido como resultado el interés y la apuesta en práctica de planificar y desarrollar alimentos con conservantes naturales que no sean nocivos para la salud del consumidor que cumplen con parámetros de óptima calidad y que tengan la aceptación de las normas vigentes de cada país para poder conseguir la seguridad microbiológica en el proceso de elaboración, comercialización y consumo por presentar alto espectro de efectividad contra los microorganismos patógenos y deteriorativos.

La industria alimentaria ha desarrollado la aplicación de bacteriozinas producto del metabolismo secundario de algunas bacterias ácido lácticas (BAL) en la conservación de los alimentos. Las bacteriozinas se pueden definir como péptido de origen proteínico que a bajas concentraciones presentan inhibiciones microbiológicas efectivas (Beshkova y frengova, 2012). Algunas BAL productoras de bacteriozinas han sido

aisladas de alimentos como la carne y los productos lácteos, además se utilizan en la fermentación de algunos alimentos como iniciadores de los procesos fermentativos. Las BAL y/o bacteriozinas pueden ser utilizadas como conservadores biológicos puro que en algunos procedimientos podrían reemplazar a los conservadores sintéticos.

Muchas bacteriozinas son efectivas contra microorganismo patógeno que pueden generar enfermedades transmitidas por

alimentos, *listeria Monocytogenes*, *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli* y *Salmonella spp*, (wa, et al, 2004, jeevaratnam et al, 2005), sin embargo, solo la nisina ha sido aprobada legalmente por su uso en alimento por la administración de alimentos y cosméticos, FDA (por sus siglas en inglés) en la categoría generalmente como seguras GRAS (por su sigla en inglés).

Debido a las razones expuestas anteriormente las bacteriocinas se han convertido en los últimos 25 o 30 años en un campo importante de estudio e investigación, por esta razón en el presente trabajo de investigación se pretende dar a conocer la acción y efectiva que puede tener la nisina sobre algunos microorganismos patógenos y deteriorativos que puede estar presente en un producto cárnico como la salchicha y que ayuda a aumentar la vida útil del producto elaborado y a la vez velar por la salud de los consumidores teniendo en cuenta la capacidad de conservación que puede tener la nisina sobre los productos cárnicos.

El objetivo propuesto en la presente investigación fue, el de evaluar microbiológica, fisicoquímica y sensorialmente un producto cárnico tipo salchicha con adición Nisina, almacenadas a temperatura de refrigeración durante treinta

(30) días y compararlas con salchichas elaboradas con sal curante de nitrito.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Enfoque de la investigación.

Este proyecto se realizó en la ciudad de Valledupar Departamento del Cesar, Colombia; la elaboración de salchicha perro, análisis fisicoquímicos y microbiológicos se desarrollaron en la planta piloto de carnes y en el centro de investigación para el desarrollo ingeniería (DIDI), laboratorios de microbiología respectivamente en la Universidad Popular del Cesar.

Este trabajo se enfocó tanto en investigación cuantitativa como cualitativa ya que se estudiaron los aspectos microbiológicos y organolépticos del producto como color, olor, sabor, textura y vida útil; se recolectaron, procesaron y se analizaron datos cuantitativos o numéricos sobre variables previamente determinadas.

Los resultados que se obtuvieron, se compararon con la normatividad nacional para tener un marco de referencia.

2.2. Diseño experimental.

2.2.1. Diseño del tratamiento

El diseño del tratamiento que se desarrolló para evaluar el comportamiento de las

bacteriozinas y específicamente la nisina sobre microorganismos patógenos y alterantes de la salchicha tipo perro empleado como bioconservantes, comparándolas con las sales provenientes del ácido nítrico tales como el nitrito sódico en dosis normatizadas por la legislación colombiana y la FDA, teniendo en cuenta la incidencia que las diferentes dosis utilizada en la presente investigación tienen sobre las propiedades fisicoquímicas, microbiológicas y de aceptación tienen sobre la salchicha tipo perro propuesta en la investigación a desarrollar; además incluye la formulación del producto, según lo siguiente:

Tabla 1. Diseño experimental.

Fuente: Autores 2016

2.2.3. Diseño del experimento:

Se utilizó un diseño estadístico con 4 tratamientos y 3 repeticiones. Para cada repetición de los tratamientos se elaboraron aproximadamente 4 Kg de producto.

2.2.4. Obtención de la muestra.

Como materia prima principal para la elaboración de la salchicha perro se empleó el corte de la canal de bovino llamado paletero, conformado por los músculos infraespinoso y supraespinoso (paletero interno), deltoides, romboides, torácicos, redondo mayor y redondo menor, esta

destazadura se obtuvo en el punto de venta de la planta de beneficio de la Cooperativa Lechera del Cesar (Coolesar), además se utilizó grasa dorsal de porcino por su dureza y consistencia, la cual se obtuvo en la plaza de mercado público de la ciudad de Valledupar; la carne magra y la grasa fueron transportadas a la planta piloto de carne de la Universidad Popular del Cesar; ambas se refrigeraron en cámara frigorífica a temperatura de 2 más o menos 1°C durante 24 horas aproximadamente y al siguiente día se acondicionaron eliminando impurezas y materiales extraños antes de ser cortadas en cubos para la elaboración de la salchichas tipo perro. El nitrito de sodio y de más aditivos e ingredientes como las especias se

Tratamiento	Nitrito de sodio (ppm)	Nisina (ppm)	Contenido de grasa (%)	Agua/hielo (%)	repeticiones
T0 (TESTIGO)	200	-	20	20	R1,R2,R3
T1	-	25	20	20	R1,R2,R3
T2	-	12.5	20	20	R1,R2,R3
T3	15	15	20	20	R1,R2,R3

obtuvo en Tecna S.A. (Tecnología Alimentaria S.A, Medellín, Colombia). La Nisina, fue suministrada por la compañía dōTERRA ubicada en los Estados Unidos (USA), el producto llegó a Colombia por medio de la empresa de envíos Servientrega, con su respectiva ficha técnica. Condimentos y aditivos se adquirieron en

Tecna S.A. (Tecnología Alimentaria S.A, Medellín, Colombia).

2.2.5. Formulación de la salchicha.

Se elaboraron salchichas formuladas con 200 ppm de nitrito de sodio como tratamiento T₀ y T₁; 0 y 25 ppm de nisina como tratamiento T₂ 12.5 ppm de nisina; además se empleó el tratamiento T₃ utilizando 15 ppm de nitrito de sodio más 15 ppm de nisina. Todos los tratamiento contienen 20 % de grasa y 20 % de hielo como se muestra en la **Tabla 1**, del diseño experimental, y en la **Tabla 2** de formulación de salchichas tipo perro se realizaron los cálculos; para agregar los diferentes aditivos e ingredientes según los “requisitos de composición y formulación para productos cárnicos cocidos”, de la Norma Técnica Colombiana (NTC 1325, 2008).

2.2.6. Elaboración de salchicha.

Los procedimientos para la elaboración de la salchicha perro se seleccionarán teniendo en cuenta distintas metodologías, las cuales se adaptaron a las necesidades de esta investigación. El corte paletero o bola de brazo de la canal bovina se sacó de la cámara de refrigeración, al igual que la grasa dorsal de porcino, se pesaron, se acondicionaron y se cortaron en cubos de 3 cm con cuchillos, los demás ingredientes y

aditivos como sal común, sal curante de nitrito, polifosfato, ascorbato, proteína de soya y condimentos se pesaron en una balanza marca Ohaus 1119-DO, esta operación se hizo individualmente para cada formulación y tratamiento.

Los trozos del paletero y de la grasa dorsal se sometieron a un presalado que consistió en la adición de sal común y sal curante de nitrito según cantidades establecidas en la **Tabla 2**, posteriormente estas carnes por separadas se molerán en un molino industrial para carne marca TALSA[®]N° 32, empleando un disco con orificios de 5 mm de diámetro.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. resultados de análisis microbiológicos.

En la Tabla 8. Se muestran los resultados obtenidos en los diferentes análisis microbiológicos realizados a los distintos tratamientos. Las salchichas analizadas de las formulaciones con Sal curante de nitrito y Nisina fueron de comportamiento estable durante la conservación, excepto los aerobios mesofilos La presencia de este grupo de microorganismos en alimentos es por condiciones inadecuadas de tiempo/temperatura durante su almacenamiento. Estos tipos de microorganismos y el recuento que se hace

de ellos se consideran como indicador del grado de contaminación de los alimentos etapa del proceso de producción, permite también obtener información sobre la alteración inicialmente de los alimentos y su probable vida útil. El número de colonias encontradas para cada uno de los tratamientos T₀, T₁, T₂, T₃. Ver **Cuadro 1**. Los resultados obtenidos muestran que los aerobios mesofilos en los tratamientos T₀ (200ppm de nitrito) estuvieron dentro de los rangos solo el día 0 de la muestra, los tratamientos T₁, T₂, T₃. Se mantuvieron estables el día 0 de la muestra, el día 10 y 20 tuvieron un incremento significativo que no se encuentran dentro de los rangos permitidos por la NTC 1325 e indicado por el instituto nacional de vigilancia de medicamentos y alimentos, **INVIMA**. El día 30 tuvo un descenso significativo pero no se mantuvieron dentro del rango permitido. Los aerobios mesofilos son microorganismos que viven en presencia de oxígeno a temperaturas de rango medio, un crecimiento elevado de ellos puede significar excesiva contaminación de la materia prima, deficiente manipulación y la inmediata alteración de patógenos.

El tratamiento con nisina tiene su acción microbiana directa sobre una amplia gama de organismos Gram positivos (Arguello 2003), posiblemente el crecimiento de microorganismos aerobios en este tratamiento correspondió a los Gram

negativos, donde el tratamiento nisina no tiene efecto (Frazier y Westhoff, 1985).

3.2. RESULTADOS Y ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS:

3.2.1. Determinación de Humedad.

El tratamiento T₁, fue el de mayor porcentaje de humedad con 75,99%, este tratamiento tuvo diferencia estadísticamente significativa entre las medias de humedad de los tratamientos T₀ y T₃ con valor de 74,41% y 71,94%, respectivamente, con un nivel de confianza del 95%. Los mayores porcentajes de humedad de las salchichas elaboradas en estos tratamientos se deben a una buena textura, mejor consistencia al corte, una buena mordida y un excelente pelado o eliminación del empaque. Los menores porcentajes de humedad son los tratamientos T₂ y T₃, con 73,30% y 71,94% respectivamente. Algunos autores encontraron resultados similares en sus trabajos de investigación En salchichas los cuales muestran diferencias significativa con un nivel de confianza del 95% en humedad para tratamientos con cuatro formulaciones utilizando carne de bovino y cerdo, con dos condimentaciones básicas, el cual el contenido de humedad vario entre 55,84 y 62,71. (Suarez, y col. (2011).

3.1.2. Determinación de Cenizas.

El tratamiento T₁ presentó el mayor valor en cenizas con 24,81% sin embargo no tuvo diferencia estadísticamente con los otros tratamientos con un nivel del 95% de confianza, la falta de diferencia estadística en cenizas de estos tratamientos pueden estar relacionados con que se utilizó la misma formulación empleando los mismos ingredientes en la formulación los cuales debieron aportar cantidades parecidas de minerales, los cuales podrían haber permitido que la cantidad de minerales presentes en el producto final se encuentren en concentraciones similares. Las cenizas representan el contenido en minerales del alimento; en general, las cenizas suponen menos del 5% de la materia seca de los alimentos, (Peña Álvarez, C. A. 2012). Otros resultados obtenidos fueron similares a los de esta investigación, logrados por (Peña Córdoba, R. E. et al 2012). Los cuales obtuvieron en la elaboración de salchicha con adición de proteína aislada de soya y harina de frijol caupí valores de ceniza que varían entre 2,90% y 4,11%.

3.1.3. Determinación de proteínas.

El tratamiento T₀ de las salchichas elaboradas con 200 ppm de sal curante de nitrito fue el que presentó un mayor porcentaje de proteína con 12,70%, este resultado difiere estadísticamente con un 95% de nivel de confianza con los tratamientos T₂, T₁ y T₃ con contenido

proteico de 12,64%, 12,20% y 12,15% respectivamente, ver **Anexo c.** El tratamiento T₂ con 12,5 ppm de nisina con una media en proteína de 12,64% es el segundo mayor valor entre los tratamientos, tiene diferencia significativa con 95% de confianza con el T₁ y T₃ de las salchichas fabricadas con 25 ppm nisina y 15 ppm de nisina y 15 ppm de sal curante de nitrito respectivamente, Si se tienen en cuenta que para las cuatro formulas empleadas, la cantidad de carne magra son las mismas en cada caso, esperando de esta manera que no se presentaría diferencia en el contenido proteico al final de la producción de las salchichas o pudo haber tenido incidencia el procedimiento utilizado en los análisis para determinar el porcentaje de proteína, también pudo influir los cortes o destazaduras utilizadas para la formulación de los productos cárnicos elaborados pudieron haber tenido diferencias en el contenido de proteína, lo que pudo verse reflejado en el producto final. La norma técnica colombiana (NTC 1235, 2008), exige un contenido mínimo en porcentaje de proteína en productos cárnicos cocidos entre 14, 12 y 10% en fracción de masa, para las diferentes calidades de estos productos (Premium, Seleccionada y Estándar), los resultados obtenidos en esta investigación están muy cerca de los valores para productos seleccionada (12%). Estos contenidos proteicos del producto

final contribuyeron posiblemente a la buena emulsificación de la grasa y a una buena retención de agua (Kramlich, 2004). El contenido proteico influye positiva y fundamentalmente en la “mordida”, capacidad de retención de humedad y en las mermas originadas durante la cocción del producto, (Gartz, 2008).

3.1.4. Determinación de grasa.

El tratamiento con el mayor porcentaje de grasa fue el T₀ con una media de 8,94% de las salchichas elaboradas con 200ppm de sal curante de nitritos este tratamiento tiene diferencia estadísticamente significativa con un nivel del 95% de confianza con el tratamiento T₁. Seguidamente sigue los tratamientos T₃ Y T₂, con un valor de 8,55% de grasa estos dos tratamientos no mostraron diferencia significativa entre ellos con 95% de confianza. El que presento menor porcentaje de grasa fue el tratamiento T₂ con un valor de 8,5% de las salchichas fabricadas con 12,5 ppm de nisina. Los parámetros establecidos en la normatividad legal colombiana exige un nivel menor del 28% de contenido graso en productos cárnicos cocidos, observando las medias de la prueba de Tukey.

Los valores obtenidos en esta investigación se encuentran muy por debajo de dichos parámetros, afectando posiblemente características como jugosidad y consistencia de las salchichas pero

posiblemente contribuyendo positivamente a la estabilidad de la emulsión cárnica.

Resultados similares reportan investigaciones de autores los cuales encontraron diferencia significativa en un nivel del 95% de confianza, en las salchichas Bratwurst, elaborada bajo cuatro formulaciones utilizando carne de bovino, cerdo y dos condimentaciones básicas, con valores que varían entre 8,46% y 12,81%, (Suarez, y col. 2011).

3.1.5. Determinación de pH

El tratamiento con el mayor porcentaje de pH fue el T₂ con una media de 6,81% de las salchichas elaboradas con 12,5 ppm de nisina este tratamiento si tiene diferencia estadísticamente significativa con un nivel del 95% de confianza 8 con el tratamiento T₁ con 6,76%. Seguidamente sigue el tratamiento T₀, con un valor de 6,69% de acidez. Ver **Anexo D**, Según (gibbs, 1987; klaenhammer, 1988; daeschel, 1989; caplice y fitzgerald, 1999).

Las bacterias ácido lácticas además de producir una caída en los niveles de pH, favorecen la preservación de alimentos mediante la producción de sustancias inhibitoras más allá de los ácidos láctico, acético, alcohol y dióxido de carbono, incluyendo etanol, reuterina, dipéptidos cíclicos e hidroxiacidos de cadena corta, diacetil, peróxido de hidrógeno, benzoato y

antibióticos, además de las ya mencionadas bacteriocinas.

En general los productos mostraron estabilidad durante el almacenamiento ya que en ese tiempo no hubo aumento ni disminución brusca que se pudiera pensar que el producto sufriera deterioro alguno causado por microorganismos productores de ácidos causantes del deterioro. Seguidos el tratamiento T₀ con 200 ppm de sal curante de nitrito con valor de 6.69, presentando menor pH los de tratamientos T₁ con 25 ppm de nisina y T₃ con 15 ppm de sal curante de nitrito y 15 ppm de nisina, con valores de 6,76 y 6.78, aunque en los últimos no se encontró diferencia significativa entre ellos. La poca variación del pH durante la vida de anaquel del producto almacenado indica un buen control en el crecimiento de microorganismos productores de ácidos en especial de ácido láctico y por ende la inocuidad de la salchicha elaborada, siendo esto una muestra de la calidad de la materia prima empleada, los controles de higiene durante el proceso productivo y del buen manejo de la temperatura durante el periodo de almacenamiento.

Algunos investigadores en el análisis y comportamiento de las salchichas durante el almacenamiento encontraron resultados similares a los de la presente investigación, en cuanto a la estabilidad del producto

durante su vida útil con pH de 6,4. (Hilvay, Gómez. L. S. et al 2015.).

3.2 RESULTADOS DE ANÁLISIS SENSORIALES.

Los resultados de los análisis sensoriales presentaron una buena aceptación en cuanto a sabor, olor, color, textura.

3.2.1. Determinación del sabor.

La calificación más alta dada para el sabor, corresponde al tratamiento T₃ 15 ppm de sal curante de nitrito y 15 de nisina con valor de 4.08, este tratamiento no tienen diferencia estadísticamente significativa con el tratamiento T₀. Seguido del tratamiento T₂ y T₁ con 12,5 y 15 ppm de nisina, T₀ con 200 ppm de sal curante de nitrito, no hay diferencia estadísticamente significativa con un nivel del 95% de confianza, El tratamiento T₃ fue el más aceptado por los panelistas con 15 ppm de sal curante de nitrito y 15 de nisina con valor de 4.08, esto quiere decir que la nisina no afecta el sabor característico de la salchicha elaborada con nitrito de sodio. Estos resultados se asemejan a los de (Aníbal Concha 2008) donde las bacterias ácido lácticas (BAL) proporcionan sabor, textura e incrementan el valor nutricional de los alimentos como es el caso de productos fermentados tales como yogurt, quesos madurados, productos cárnicos y también en algunas hortalizas.

3.2.2. Determinación del olor.

El tratamiento T₃ 15 ppm de sal curante de nitrito y 15 ppm de nisina presenta mayor valor de 3,58 seguido del tratamiento T₂, T₁ y T₀ con valores de 3,5, 3,41 y 3,33 respectivamente. No presento diferencias significativas, el tratamiento con más aceptación por los panelistas fue el T₃ 15 ppm de sal curante de nitrito y 15 ppm de nisina, el curado juega un papel muy importante en el aroma de los embutidos, se debe a una reacción del nitrito con determinados componentes del músculo. El origen podría ser la acción densaminante que ejerce el ácido nitroso sobre los aminoácidos. El aroma específico del curado e originan, por reacciones del nitrito con las proteínas cárnicas hidrosolubles y en los componentes dializables de la carne también se han encontrado compuestos carbonílicos en la carne curada. Actualmente aún se desconoce que sustancias son las que producen, específicamente, el aroma el curado.

Estos resultados se compararon con los de (Moreno, 2012). Donde al utilizar la nisina en la carne de pollo no se encontraron diferencias en el olor y el color, pero sí en la textura, el sabor y la aceptabilidad.

3.2.2. Determinación de Color.

La calificación más alta dada para el color, corresponde al tratamiento T₃ 15 ppm de sal curante de nitrito y 15 de nisina con valor de 3,91, este tratamiento no tiene diferencia estadísticamente significativa con el tratamiento con ninguno de los tratamientos. Seguido del tratamiento T₂ y T₁ con 12,5 y 15 ppm de nisina con valor de 3,33 T₀ 200 ppm de sal curante de nitrito, con valor de 3,25. Como se puede ver este tratamiento fue el que presentó menor aceptación; debido a que presentó un color rojo demasiado intenso a una salchicha que contenga sales del ácido nítrico (nitratos o nitritos de sodio y potasio, las reacciones bioquímicas sucedido entre el nitrito y algunas sustancias componentes de la carne permiten finalmente llegar hasta el NO compuesto este que es la pigmentación de la carne y se une a la mioglobina para formar la coloración característica de los productos curados y es precisamente este color que resulta ser muy parecido al de la carne original. y este puede ser el motivo por el cual está salchicha se evaluó con una calificación inferior al resto de los productos de los tratamientos T₁, T₂, y T₃. A diferencia del T₃ 15 ppm de sal curante de nitrito y 15 de nisina con valor de 3,91 que presentó la mayor aceptación con un color característico de la salchichas, se puede decir que la nisina no influye en el color rojo intenso de una salchicha con sal curante de nitrito.

3.2.3. *Determinación de textura.*

Para la textura la mejor calificación dada por los panelistas correspondió al tratamiento T₃ 15 ppm de sal curante de nitrito y 15 ppm de nisina con una calificación de 4.0, este no presenta diferencia significativa, con los demás, seguido de T₂ con valor 3.91, los valores inferiores son los tratamientos T₁ y T₀ con valores de 3,75y 3,5 respectivamente. Esto posiblemente se debió a que en todos los tratamientos se utilizó la misma formulación e igual cantidad de ingredientes que ayudan en la textura tales como: la grasa, la carne, la sal común, los polifosfatos, agua/hielo. Por lo tanto se puede inferir que a pesar de no haber diferencia estadísticamente significativa el tratamiento T₃ con 15 ppm de sal curante de nitrito y 15 ppm de nisina fue el de mayor aceptación por los panelistas, quizás esto se debe a que la nisina aumenta las propiedades organolépticas del alimento como el sabor y la textura, estos resultados se asemejan a los de los investigadores (Villarroel,2006). En salchichas, el tratamiento conservante con nisina no causó variaciones significativas en el color, sabor y apariencia Tampoco se produjeron alteraciones en el sabor del queso “telita” elaborado con nisina con respecto al control (Sangronis & García, 2007). Sin embargo,

en hamburguesas, el empleo de nisina redujo los valores de textura y sabor a rangos intermedios, aunque los mantuvo dentro de los límites aceptables (Gómez et al,2013). Al utilizarla en la carne de pollo no se encontraron diferencias en el olor y el color, pero sí en la textura, el sabor y la aceptabilidad (Moreno, 2012).

4. *CONCLUSIONES*

El uso de la Nisina como conservante, es responsable de la inhibición de Coliformes Totales y fecales, y el aumento progresivo de Aerobios Mesófilos, consiguiéndose mejores resultados el Tratamiento T₀ con 200 ppm de sal curante de nitrito al día 0 de la muestra, a medida que aumentan el tiempo de almacenamiento del producto incrementa la carga microbiana. El recuento de aerobios mesofilos es un indicador de salubridad de los alimentos.

Según la consistencia mostrada por las salchichas elaboradas con Nisina, se puede afirmar que esta puede ser empleada para elaborar productos embutidos cocidos y/o escaldados que tengan buena calidad en cuanto a la mordida, consistencia al corte y facilidad para eliminar el empaque en el cual fue embutido.

La adición de Nisina no tiene influencia negativa en la vida de anaquel en los productos elaborados ya que estos se

comportaron en forma estable durante el tiempo de almacenamiento.

La aceptación que tuvo la salchicha elaborada con Nisina es similares a los productos que comúnmente se comercializan en el mercado en cuanto a su apariencia, textura, sabor y olor.

El buen uso de las cantidades de proteínas extrañas o no cárnicas en los productos embutidos permite cumplir con las exigencias de la Legislación Nacional en cuanto al porcentaje de proteína, humedad, grasa.

La inocuidad de estos productos va a depender de una adecuada temperatura de almacenamiento por lo tanto la vida útil de ellos en parte está determinada por las condiciones empleadas en el almacenamiento.

Al aplicar la Nisina actúan como conservador, evitando la rápida proliferación de microorganismos excepto los aerobios mesofilos, que no se mantuvieron dentro del rango permitido.

5. BIBLIOGRAFÍA

• **Amezquita A, Brashears MM** (2002) Competitive inhibition of *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat meat products by lactic acid bacteria. *J Food Prot* 65:316-325.

• **Arias Muñoz Claudia Elena** (2012). Innovación y desarrollo Tecnas S.A. Medellín- Colombia.

• **Bibbins-Domingo K, Chertow GM, Coxson PG et al.** (2010) Projected effect of dietary salt reductions on future cardiovascular disease. *New England Journal of Medicine*.

• **Coma V** (2008) Bioactive packaging technologies for extended shelf life of meat-based products. *Meat Sci* 78:90–103.

• **Corral Sara, flores Mónica.** (2013). Efecto de la reducción de sal en la calidad de los embutidos crudos curados. Instituto de agroquímica y tecnología de los alimentos (IATA-CSIC) Universidad politécnica de valencia.

• **Dane** (2015). Análisis del sector cárnico Colombia.

• **Elliott P.** (2007) Sodium intakes around the world. Background document prepared for the Forum and Technical meeting on Reducing Salt Intake in Populations.

• **Foulquié Moreno MR, Rea MC, Cogan TM et al.,** (2003) Applicability of a bacteriocin-producing *Enterococcus faecium* as a co-culture in Cheddar cheese manufacture. *Int J Food Microbiol* 81: 73-84.

• **Gálvez A, Abriouel H, López RL et al.,** (2007) Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *Int J Food Microbiol* 120:51-70

• **García, Cabrera Edwin** (2009).
Embutidos. Escuela de ingeniería
Agroindustrial Universidad del valle del
cauca – Cali.

• **Gonzalez CF, Kunka BS** (1987)
Plasmid-associated bacteriocin production

and sucrose fermentation in *Pediococcus*
acidilactici. *Appl Environ Microbiol*
53:2534-2538.