

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA

EN ALIMENTOS



**“Efecto del empleo de microorganismos probióticos
(*Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium animalis* spp.
lactis) en la elaboración de un producto cárnico
madurado tipo salami”**

Trabajo de Investigación de Graduación. Modalidad: Trabajo Estructurado de Manera Independiente (TEMI). Presentado como requisito previo a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos

Autor: Víctor Javier Rodríguez Cruz

Tutor: Ing. M. Sc. Danilo Morales

AMBATO – ECUADOR

2011

APROBACIÓN DEL TUTOR

En mi calidad de tutor del Trabajo Estructurado de Manera Independiente (TEMI) sobre el tema: “**EFFECTO DEL EMPLEO DE MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS** (*Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*) **EN LA ELABORACIÓN DE UN PRODUCTO CÁRNICO MADURADO TIPO SALAMI**” desarrollado por el señor Víctor Javier Rodríguez Cruz, alumno de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, considero que el mencionado trabajo de investigación reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometido a la evaluación del jurado examinador que el H. Consejo Directivo designe.

Ambato, Junio de 2011

Ing. M. Sc. Danilo Morales

TUTOR

DECLARACIÓN, AUTENTICIDAD Y RESPONSABILIDAD

Yo, Víctor Javier Rodríguez Cruz declaro que:

El presente trabajo de investigación: **“EFECTO DEL EMPLEO DE MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS (*Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*) EN LA ELABORACIÓN DE UN PRODUCTO CÁRNICO MADURADO TIPO SALAMI”** es absolutamente original, auténtico y personal, en tal virtud, el contenido y efectos académicos que se desprenden del mismo son de exclusiva responsabilidad del autor.

Ambato, Junio de 2011

Víctor Rodríguez
C.I. 180428750-4

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los miembros del Tribunal de Grado aprueban el presente Trabajo de Graduación de acuerdo a las disposiciones emitidas por la Universidad Técnica de Ambato.

Ambato, Julio de 2011

Para constancia firman:

Ing. Rommel Rivera
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Diego Salazar
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. mario paredes p. M.Sc.
MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DEDICATORIA

*A mis padres, Víctor y Estela,
que con su ejemplo, esfuerzo, paciencia,
apoyo y entrega desinteresada
me han ayudado a alcanzar las metas
que me he propuesto.*

*A mis hermanos,
Luis, Paulina, Viviana y María José,
compañeros incansables en este camino,
cuya compañía me da fuerza
y alegra mi vida día tras día.*

*A mis sobrinos, Juan José y Guadalupe,
luces de esperanza.*

Víctor Javier

AGRADECIMIENTO

A Dios, por haberme dado la alegría de la vida y la sabiduría para cumplir esta etapa.

A mis padres y hermanos, por su comprensión y apoyo fundamental e importante para la realización de este sueño.

A la Universidad Técnica de Ambato, alma mater que abrió sus puertas a mi búsqueda de conocimientos. A la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. A mis profesores, quienes compartieron generosamente su conocimiento y en especial al Ing. Danilo Morales e Ing. Diego Salazar por brindarme la ayuda necesaria para cumplir con éxito esta investigación.

A mis amigos(as), a quienes aprecio, valoro y admiro por estar junto a mí y permitirme caminar a su lado, cumpliendo las metas que nos hemos propuesto.

Y a todas aquellas personas, que de una u otra forma me brindan su apoyo.

Víctor Javier

ÍNDICE GENERAL

PÁGINAS PRELIMINARES

Página de título	i
Aprobación del tutor	ii
Declaración, autenticidad y responsabilidad	iii
Aprobación del tribunal de grado.....	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice general.....	vii
Índice de tablas	xi
Índice de cuadros	xi
Índice de gráficos	xii
Índice de anexos	xii
▪ Anexo A: Datos experimentales	xii
▪ Anexo B: Resultados	xiii
▪ Anexo C: Gráficos.....	xv
▪ Anexo D: Fotografías.....	xviii
▪ Anexo E: Métodos	xix
Resumen ejecutivo.....	xx
Introducción.....	xxii

CAPITULO I: EL PROBLEMA

1.1. Tema de investigación.....	1
1.2. Planteamiento del problema.....	1
1.2.1. Contextualización	1
▪ Contextualización macro	1
▪ Contextualización meso.....	3
▪ Contextualización micro.....	5
1.2.2. Análisis crítico	8
1.2.3. Prognosis	9
1.2.4. Formulación del problema.....	10
1.2.5. Interrogantes de estudio.....	10
1.2.6. Delimitación.....	11

1.3. Justificación	11
1.4. Objetivos	13
1.4.1. Objetivo general	13
1.4.2. Objetivos específicos	13

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes investigativos	14
2.2. Fundamentación filosófica	15
2.3. Fundamentación legal	15
2.4. Categorías fundamentales	17
2.4.1. Conceptualización	17
▪ Red de inclusiones conceptuales	17
▪ Lluvia de ideas	18
2.4.2. Diagrama de flujo para la elaboración de salami	19
2.4.3. Proceso de producción de salami	20
▪ Componentes del salami	20
▪ Elaboración del salami	22
2.4.4. Productos cárnicos madurados	25
▪ Maduración de los embutidos crudos	26
▪ Proceso de curado	26
▪ Enrojecimiento con nitrato y/o nitrito	27
2.4.5. Microorganismos starters	28
▪ Microorganismos probióticos	30
2.4.6. Alimento funcional	34
2.4.7. Vida útil de productos cárnicos madurados	35
2.4.8. Defectos en los embutidos madurados	37
2.4.9. Análisis fisicoquímicos	40
▪ pH y acidez	40
▪ Actividad de agua (a_w)	40
▪ Pérdida de peso	41
2.4.10. Microbiología del producto cárnico madurado	42
▪ Identificación del crecimiento y desarrollo de los microorganismos starters	42
▪ Calidad microbiológica	44
▪ Mohos de superficie	45

▪ Crecimiento de los microorganismos de los cultivos starters.....	37
▪ Crecimiento	46
▪ Crecimiento exponencial	46
2.5. Hipótesis.....	48
2.6. Señalamiento de variables	48

CAPITULO III: METODOLOGÍA

3.1. Enfoque	49
3.2. Modalidad básica de la investigación	49
3.3. Nivel o tipo de la investigación	50
3.4. Población o muestra.....	50
3.5. Operacionalización de variables.....	56
▪ Variable dependiente	56
▪ Variable independiente	57
3.6. Recolección de la información.....	58
3.7. Procesamiento de la información	58

CAPITULO IV: ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. Análisis de resultados.....	59
4.1.1. Elaboración y período de maduración de salami	59
▪ Inoculación	59
▪ Embutido	59
▪ Estufaje.....	60
▪ Secado	60
▪ Ahumado	60
▪ Almacenamiento.....	61
4.2. Interpretación de resultados	61
4.2.1. Propiedades fisicoquímicas.....	61
▪ Pérdida de peso	61
▪ pH.....	62
▪ Acidez titulable (% ácido láctico)	63
▪ Actividad de agua (a_w).....	64

4.2.2. Análisis microbiológico	65
▪ Cultivos starters	65
▪ Siembras microbiológicas	66
▪ Calidad microbiológica	67
▪ Mohos de superficie	70
4.2.3. Pruebas de análisis sensorial	71
▪ Color	71
▪ Olor	72
▪ Sabor	72
▪ Textura	73
▪ Aceptabilidad	74
4.2.4. Mejor tratamiento	75
▪ Análisis sensorial	75
▪ Pérdida de peso	75
▪ Análisis de costos	76
▪ Decisión	77
4.2.5. Alimento funcional	77
4.2.6. Estabilidad durante el tiempo	79
▪ Calidad microbiológica	79
▪ Tiempo de vida útil	79
▪ pH y acidez	80
4.2.7. Modelo matemático que describe el crecimiento de los microorganismos de los cultivos starters	81
4.2.8. Análisis proximal del salami	82
4.2.9. Balance de proceso	83
4.3. Verificación de la hipótesis	84

CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones	86
5.2. Recomendaciones	89

CAPITULO VI: PROPUESTA

6.1. Datos informativos	90
6.2. Antecedentes de la propuesta	90

6.3. Justificación	92
6.4. Objetivos	93
6.4.1. Objetivo general	93
6.4.2. Objetivos específicos	93
6.5. Análisis de factibilidad	94
6.6. Fundamentación.....	94
6.7. Metodología modelo operativo	95
6.7.1. Materiales y equipos	95
6.7.2. Tecnología de elaboración	97
6.8. Administración.....	100
6.9. Previsión de la evaluación.....	101

CAPITULO VII: MATERIALES DE REFERENCIA

7.1. Bibliografía	102
7.2. Linkgrafía.....	103
7.3. Anexos	107

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Microorganismos usados en elaboración de embutidos madurados.....	29
Tabla 2. Microorganismos considerados como probióticos.....	31
Tabla 3. Combinación entre variables y niveles.....	53
Tabla 4. Formulación para la elaboración de salami.....	54
Tabla 5. Distribución de las muestras para los catadores según el diseño de bloques incompleto para nueve tratamientos.....	55
Tabla 6. Administración de la propuesta	100
Tabla 7. Previsión de la evaluación	101

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Variable Independiente: Aplicación de Microorganismos probióticos como cultivos starters en la elaboración de salami	56
---	----

Cuadro 2. Variable Dependiente: Potenciación de las características organolépticas del salami	57
Cuadro 3. Modelo Operativo (Plan de acción)	99

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Árbol de Problemas de “Efecto del empleo de m/o probióticos en la elaboración de un producto cárnico madurado tipo salami”	7
Gráfico 2. Diagrama de flujo para la elaboración de salami	41
Gráfico 3. Red de inclusiones conceptuales.....	17
Gráfico 4. Lluvia de ideas	18

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: DATOS EXPERIMENTALES

Anexo 1. Hoja de catación del producto final (Salami)
Tabla A1. Pesos (Kg) registrados de las muestras de salami
Tabla A2. Valores de pH registrados en las muestra de salami
Tabla A3. Cantidad (ml) de NaOH 0.1 N empleados en la titulación en las muestra de salami
Tabla A4. Valores de a_w registrados en las muestra de salami
Tabla A5. Número de colonias de m/o starters registradas de las siembras microbiológicas en las muestra de salami
Tabla A6. Valoración en el salami mediante catación: Atributo Color
Tabla A7. Valoración en el salami mediante catación: Atributo Olor
Tabla A8. Valoración en el salami mediante catación: Atributo Sabor
Tabla A9. Valoración en el salami mediante catación: Atributo Textura
Tabla A10. Valoración en el salami mediante catación: Atributo Aceptabilidad
Tabla A11. Valores de temperatura (T) y humedad relativa (HR) registrados durante el estufaje y secado

ANEXO B: RESULTADOS

- Tabla B1.** Porcentajes de pérdida de peso de muestras de salami
- Tabla B2.** Promedio de los porcentajes de pérdida de peso determinados para las muestra de salami
- Tabla B3.** Promedio de los valores de pH registrados en muestras de salami
- Tabla B4.** Valores de acidez (% ácido láctico) determinados en muestras de salami
- Tabla B5.** Valores promedio de acidez (% ácido láctico) determinados en muestras de salami
- Tabla B6.** Promedios de los valores de a_w de los tratamientos de salami
- Tabla B7.** ufc/g determinadas de las siembras microbiologías en muestra de salami
- Tabla B8.** Promedio de las ufc/g determinadas de las siembras microbiologías en las muestra de salami
- Tabla B9.** Promedio de la valoración mediante catación: Atributo Color
- Tabla B10.** Promedio de la valoración mediante catación: Atributo Olor
- Tabla B11.** Promedio de la valoración mediante catación: Atributo Sabor
- Tabla B12.** Promedio de la valoración mediante catación: Atributo Textura
- Tabla B13.** Promedio de la valoración mediante catación: Atributo Aceptabilidad
- Tabla B14.** Análisis de varianza para los valores de pH
- Tabla B15.** Medias aritméticas de las pruebas experimentales (Prueba de Tukey) para el Factor A: Tipo de Microorganismo. Análisis de pH.
- Tabla B16.** Medias aritméticas de las pruebas experimentales (Prueba de Tukey) para el Factor B: Concentración del cultivo. Análisis de pH.
- Tabla B17.** Análisis de varianza para los valores de acidez
- Tabla B18.** Medias aritméticas de las pruebas experimentales (Prueba de Tukey) para el Factor A: Tipo de Microorganismo. Análisis de acidez.

- Tabla B19.** Medias aritméticas de las pruebas experimentales (Prueba de Tukey) para el Factor B: Concentración del cultivo. Análisis de acidez.
- Tabla B20.** Análisis de varianza para los valores de a_w
- Tabla B21.** Análisis de varianza para los valores de ufc/g
- Tabla B22.** Medias aritméticas de las pruebas experimentales (Prueba de Tukey) para el Factor A: Tipo de Microorganismo. Análisis de ufc/g
- Tabla B23.** Medias aritméticas de las pruebas experimentales (Prueba de Tukey) para el Factor B: Concentración del cultivo. Análisis de ufc/g
- Tabla B24.** Análisis de varianza para el Atributo Color
- Tabla B25.** Análisis de varianza para el Atributo Olor
- Tabla B26.** Análisis de varianza para el Atributo Sabor
- Tabla B27.** Análisis de varianza para el Atributo Textura
- Tabla B28.** Análisis de varianza para el Atributo Aceptabilidad
- Tabla B29.** Resultados microbiológicos. Identificación de *Staphylococcus aureus*
- Tabla B30.** Resultados microbiológicos. Identificación de *Clostridium perfringens*
- Tabla B31.** Resultados microbiológicos. Identificación de *Salmonella*
- Tabla B32.** Resultados microbiológicos. Identificación de Coliformes totales/*Escherichia coli*
- Tabla B33.** Materiales directos e indirectos
- Tabla B34.** Equipos y utensilios (Tratamientos a_2b_0 y a_2b_1)
- Tabla B35.** Suministros (Tratamientos a_2b_0 y a_2b_1)
- Tabla B36.** Personal (Tratamientos a_2b_0 y a_2b_1)
- Tabla B37.** Inversión estimada para el procesamiento de Salami
- Tabla B38.** Valores de ufc/g obtenidos del análisis microbiológico del cultivo starter (45 días de almacenamiento) – Dilución 10^{-3}

- Tabla B39.** Resultados microbiológicos. Calidad microbiológica (45 días de almacenamiento)
- Tabla B40.** Valores de pH, cantidad de NaOH y acidez durante el período de almacenamiento (45 días)
- Tabla B41.** Valores obtenidos para realizar el modelo matemático para definir el crecimiento del cultivo starter **Tratamiento a₂b₀:**
Bifidobacterium animalis spp. *lactis* – **0.01 g/Kg**
- Tabla B42.** Análisis proximal del salami **Tratamiento a₂b₀:** *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* – **0.01 g/Kg**
- Gráfico B1.** Balance de materiales para la elaboración del salami
Tratamiento a₂b₀: *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* – **0.01 g/Kg**
- Tabla B43.** Variación de los valores de porcentaje de pérdida de peso durante el período de almacenamiento para salami utilizados para la determinación de vida útil **Tratamiento a₂b₀:**
Bifidobacterium animalis spp. *lactis* – **0.01 g/Kg**

ANEXO C: GRÁFICOS

- Gráfico C1.** Variación de pérdida de peso (%) en las muestras de salami empleando microorganismo starter específico: *Lactobacillus plantarum*
- Gráfico C2.** Variación de pérdida de peso (%) en las muestras de salami empleando microorganismo starter probiótico: *Lactobacillus rhamnosus*
- Gráfico C3.** Variación de pérdida de peso (%) en las muestras de salami empleando microorganismo starter probiótico: *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*
- Gráfico C4.** Variación de pérdida de peso (%) en las muestras de salami empleando microorganismos starter probiótico **Tratamiento a₂b₀:** *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* – **0.01 g/Kg**

- Gráfico C5.** Variación de pH en las muestras de salami empleando microorganismos starter específico: *Lactobacillus plantarum*
- Gráfico C6.** Variación de pH en las muestras de salami empleando microorganismos starter probiótico: *Lactobacillus rhamnosus*
- Gráfico C7.** Variación de pH en las muestras de salami empleando microorganismos starter probiótico: *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*
- Gráfico C8.** Variación de pH en las muestras de salami empleando microorganismos starter probiótico **Tratamiento a₂b₀:** *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* – **0.01 g/Kg**
- Gráfico C9.** Variación de acidez (% ácido láctico) en las muestras de salami empleando microorganismos starter específico: *Lactobacillus plantarum*
- Gráfico C10.** Variación de acidez (% ácido láctico) en las muestras de salami empleando microorganismos starter probiótico: *Lactobacillus rhamnosus*
- Gráfico C11.** Variación de acidez (% ácido láctico) en las muestras de salami empleando microorganismos starter probiótico: *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*
- Gráfico C12.** Variación de acidez (% ácido láctico) en las muestras de salami empleando microorganismos starter probiótico **Tratamiento a₂b₀:** *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* – **0.01 g/Kg**
- Gráfico C13.** Variación de a_w en las muestras de salami empleando microorganismos starter específico: *Lactobacillus plantarum*
- Gráfico C14.** Variación de a_w en las muestras de salami empleando microorganismos starter probiótico
- Gráfico C15.** Variación de a_w en las muestras de salami empleando microorganismos starter probiótico: *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*

- Gráfico C16.** Variación de a_w en las muestras de salami empleando microorganismos starter probiótico **Tratamiento a_2b_0 :**
Bifidobacterium animalis spp. *lactis* – **0.01 g/Kg**
- Gráfico C17.** ufc/g determinadas de las siembras microbiológicas de las muestra de salami empleando el microorganismos starter específico: *Lactobacillus plantarum*
- Gráfico C18.** ufc/g determinadas de las siembras microbiológicas de las muestra de salami empleando el microorganismos starter probiótico:
Lactobacillus rhamnosus
- Gráfico C19.** ufc/g determinadas de las siembras microbiológicas de las muestra de salami empleando el microorganismos starter probiótico:
Bifidobacterium animalis spp. *lactis*
- Gráfico C20.** ufc/g determinadas de las siembras microbiológicas en las muestra
- Gráfico C21.** ufc/g determinadas de las siembras microbiológicas en las muestra de salami – Logaritmo en base dos (\log_2)**Tratamiento a_2b_0 :**
Bifidobacterium animalis spp. *lactis*– **0.01 g/Kg**
- Gráfico C22.** Regresión lineal para la determinación de un modelo matemático para el desarrollo microbiano – Tiempo: 0 a 2 días **Tratamiento a_2b_0 :**
Bifidobacterium animalis spp. *lactis* – **0.01 g/Kg**
- Gráfico C23.** Regresión lineal para la determinación de un modelo matemático para el desarrollo microbiano – Tiempo: 5 a 25 días **Tratamiento a_2b_0 :**
Bifidobacterium animalis spp. *lactis* – **0.01 g/Kg**
- Gráfico C24.** Promedio de las valoraciones del salami por catación: Atributo Color
- Gráfico C25.** Promedio de las valoraciones del salami por catación: Atributo Olor
- Gráfico C26.** Promedio de las valoraciones del salami por catación: Atributo Sabor
- Gráfico C27.** Promedio de las valoraciones del salami por catación: Atributo Textura
- Gráfico C28.** Promedio de las valoraciones del salami por catación: Atributo Aceptabilidad
- Gráfico C29.** Variación de los valores de porcentaje de pérdida de peso durante el período de almacenamiento para salami utilizados para la determinación de vida útil **Tratamiento a_2b_0 :** *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* – **0.01 g/K**

ANEXO D: FOTOGRAFÍAS

Fotografía D1. Balanza

Fotografía D2. Molino de carne

Fotografía D3. Embutidora

Fotografía D4. Horno

Fotografía D5. Cámara de maduración

Fotografía D6. Estufaje t = 0h

Fotografía D7. Estufaje t = 24h

Fotografía D11. Maduración

Fotografía D12. Secado

Fotografía D14. Mohos en la superficie del salami

Fotografía D15. Final del proceso de elaboración

Fotografía D16. Medidor de temperatura y %HR

Fotografía D17. Medidor de actividad de agua

Fotografía D16. Medición de Acidez

Fotografía D17. Medición de pH

Fotografía D18. Prueba de Análisis Sensorial

Fotografía D19. Catadores

Fotografía D20. Rojo curado - Producto terminado

Fotografía D21. Siembras microbiológicas

Fotografía D22. Colonias de m/o en Agar Rogosa

Fotografía D23. *Lactobacillus plantarum* (400x)

Fotografía D24. *Lactobacillus rhamnosus* (1000x)

Fotografía D25. *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* (400x)

Fotografía D26. *Aspergillus* sp. (400x)

Fotografía D27. *Penicillium* sp. (400x)

ANEXO E: MÉTODOS

ANEXO E1: Determinación del porcentaje de pérdida de peso

ANEXO E2: Determinación de acidez titulable expresado como porcentaje de ácido láctico

ANEXO E3: Determinación del valor de actividad de agua

ANEXO E4: Análisis microbiológico de los cultivos starters

ANEXO E5: Análisis microbiológico de *Staphylococcus aureus*

ANEXO E6: Análisis microbiológico de *Clostridium perfringens*

ANEXO E7: Análisis microbiológico de *Salmonella*

ANEXO E8: Análisis microbiológico de Coliformes totales

ANEXO E9: Análisis proximal del mejor tratamiento **Tratamiento a₂b₀:**
Bifidobacterium animalis spp. *lactis* – 0.01 g/Kg

ANEXO E10: Ficha técnica *Lactobacillus plantarum*

ANEXO E11: Ficha técnica *Lactobacillus rhamnosus*

ANEXO E12: Ficha técnica *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*

RESUMEN EJECUTIVO

Los productos cárnicos madurados, a través del tiempo, han mantenido su aceptación en el mercado, es por eso que su innovación representa un cambio favorable para su consumo. Mediante la incorporación de cultivos starters en el proceso de elaboración se mejoran muchos aspectos tanto tecnológicos como organolépticos. Siendo los cultivos starters principalmente bacterias ácido lácticas, los microorganismos probióticos se pueden utilizar para la elaboración de embutidos fermentados, principalmente salami. Es por eso que se ensayó el uso de dos tipos de microorganismos probióticos (*Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*) y de un microorganismo específico (*Lactobacillus plantarum*) empleados en diferentes concentraciones 0.01, 0.05 y 0.15 g/Kg.

Empleando un diseño experimental AxB se obtuvo nueve tratamientos a analizarse, combinando tipo de microorganismo y concentración. Se utilizó la tecnología adecuada (Salazar, 2008), para la elaboración de salami, controlando valores de temperatura y humedad relativa durante los procesos de estufaje, maduración y secado.

Durante el proceso de elaboración se realizaron mediciones de valores de pérdida de peso, pH, acidez, actividad de agua y crecimiento bacteriano para los microorganismos de los cultivos starters como para la identificación de bacterias patógenas.

Mediante pruebas de análisis sensorial, comparación entre los valores de pérdida de peso y de costos se estableció el mejor tratamiento de los empleados para el estudio. De estos análisis se identificó que el tratamiento que conjuga al *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* como cultivo starter en una concentración de 0.01 g/Kg es el mejor tratamiento.

Pruebas microbiológicas al final de la elaboración y durante el período de almacenamiento del salami (en refrigeración), mostraron la presencia de microorganismos probióticos en un nivel aceptable, propuesto como un mínimo de 10^6 ufc/g, estableciéndose al producto elaborado como un alimento probiótico, que podría generar beneficios en el organismo de quien lo consume, mediante la recolonización del sistema digestivo por parte de los microorganismos probióticos.

En cuanto al análisis económico realizado se obtuvo que el precio de venta del mejor tratamiento establecido (*Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* - 0.01 g/Kg) es de \$17.73 por kilogramo de producto y en una presentación de 250 g su costo es de \$4.43, precio que puede establecerse en el mercado en comparación con productos similares existentes.

De igual forma se realizó el análisis proximal del salami, determinándose valores altos de proteína (32,74%) y grasa (29,32%) indicando un alto valor nutritivo del producto. Por lo que su consumo, además de ayudar al sistema digestivo e inmunológico con la adición de microorganismos probióticos, puede ayudar a mantener una dieta balanceada, por la incorporación de componentes básicos para mantener una buena salud, como son la proteína y grasa.

Valores agregados, que harían al producto llamativo para el consumidor estableciendo nuevos hábitos alimenticios al contar con alimentos que no solo proporcionen los nutrientes necesarios para mantener una dieta balanceada, sino también que generen beneficios en la salud de quien los consume.

INTRODUCCIÓN

El método de elaboración de salami se remonta muchos siglos atrás cuando se estudiaban métodos para prolongar y conservar de mejor manera los alimentos, especialmente la carne. Es así que al salami se lo define como un embutido curado y madurado. El curado consiste, esencialmente, en agregar a la carne una mezcla de sales (cloruros, nitratos y nitritos) que, además de prolongar su conservación, le dan un sabor característico. Y la maduración se da en cámaras especiales, donde la humedad relativa es menor que la del embutido, para reducir su humedad, y con la acción de los microorganismos (presentes o adicionados) desarrollar y modificar las características organolépticas características del salami.

La carne, que es el constituyente principal del salami, ocupa un lugar privilegiado frente a otros alimentos de origen animal como la leche, el queso, los huevos y el pescado. La carne es ante todo una valiosa fuente de proteínas, además que posee una notable cantidad de lípidos, minerales y vitaminas. Cabe añadir una relativa importancia como fuente de energía.

Originalmente los embutidos madurados fueron elaborados sin adición de cultivos starters. Hoy en día, se agregan cultivos starters para mejorar la consistencia y control de la maduración. Entre los principales microorganismos utilizados como cultivos se encuentran las bacterias ácido lácticas. La presencia de estas bacterias hacen que durante el proceso de maduración se produzca ácido láctico y otras sustancias, como bacteriocinas, mismas que impiden el desarrollo de microorganismos patógenos, los que de estar presentes en el producto causarían serios daños a la salud de los consumidores.

Los probióticos, que son principalmente bacterias ácido lácticas propias de la microbiota intestinal de los seres humanos, son utilizados en cultivos starter y pueden ser utilizados para la elaboración de embutidos madurados. Al igual que los cultivos starters específicos para salami, los probióticos tendrán similares o mejores acciones sobre la carne, obteniéndose un producto de características sensoriales aceptables para el consumidor.

Los probióticos son microorganismos que actualmente tienen un amplio estudio, fundamentalmente por su acción benéfica en la salud de quien los consume. Si bien en nuestro medio no se ha dado un gran desarrollo en este campo, se puede encontrar en el mercado, empresas que promocionan, en especial leches fermentadas que contienen microorganismos probióticos resaltando los beneficios al ser consumidos.

El empleo de microorganismos probióticos en cultivos starters propone una innovación en la tecnología de elaboración, principalmente en el proceso de fermentación y maduración, donde se desarrollan las características propias del salami y condiciones que impedirán el desarrollo de microorganismos patógenos.

Los embutidos madurados no requieren de cocción para su consumo, ya que tienen un proceso de fermentación y maduración. El salami es uno de los productos con larga vida de anaquel y estable microbiológicamente en condiciones normales, es decir a temperatura de 15 – 16° C, en un ambiente con un porcentaje de humedad relativa de 75 – 80% y con un valor de actividad de agua en un rango aproximado de 0.82 a 0.86.

De igual forma las características organolépticas finales del producto son decisivas para la incorporación al mercado del salami elaborado a partir de la fermentación de microorganismos probióticos añadidos.

CAPITULO I

EL PROBLEMA

1.1. TEMA DE INVESTIGACIÓN

“EFECTO DEL EMPLEO DE MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS (*Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*) EN LA ELABORACIÓN DE UN PRODUCTO CÁRNICO MADURADO TIPO SALAMI”

1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.2.1. CONTEXTUALIZACIÓN

- **Contextualización Macro**

La fermentación parece que se desarrolló como un sistema para potenciar la producción de carnes desecadas, siendo el secado la primera forma de deshidratación. El primer uso de la fermentación se pierde en las brumas de la antigüedad, pero el proceso se cree que se originó en china hace 2000 años. El uso de sal y nitrato llegarían muchos años más tarde. En Europa, la elaboración de embutidos fermentados primero se desarrolló alrededor del mediterráneo, luego se extendió al norte y al oeste y a Estados Unidos con los emigrantes de Europa central (Varnam *et al.*, 1998).

Tradicionalmente la elaboración de embutidos ha sido meramente empírica, ya que no se conocía la relación entre la actividad microbiana, y los cambios, fundamentalmente sensoriales, que se desarrollaban en el producto durante el curado (Schiffner, 1996).

A nivel mundial, de la producción total de carne, aproximadamente el 75% es utilizado en la elaboración de productos derivados de la carne (embutidos). De este porcentaje, el 49% se destina para la elaboración de productos de charcutería y el resto para salazones; de este último el 4% corresponde a la producción de embutidos secos madurados tipo salami (Durand, 2002).

En Europa para la elaboración de embutidos fermentados se empleaban métodos tradicionales de trabajo intensivo, pero en Estados Unidos con el desarrollo de una industria cárnica a gran escala determinó un alto nivel de automatización. Es así que por la década de los 40's se hicieron los primeros intentos para establecer las bases científicas del proceso de fermentación, siguiendo el desarrollo de cultivos starters (Varnam *et al.*, 1998).

Los cultivos starters o iniciadores están constituidos por microorganismos y se añaden para mejorar la consistencia y el control de la maduración. Actualmente, existen muchas especies de microorganismos utilizados como cultivos starters y que en muchos casos se los utiliza en una acción específica, como mejorar el aroma, sabor o la textura (Schiffner, 1978).

Entre estos cultivos iniciadores están los microorganismos probióticos, de cuyo metabolismo se puede encontrar la producción de ácidos orgánicos, principalmente ácido láctico indispensable para el descenso de pH, que influye directamente en la elaboración de ciertos productos (Varnam *et al.*, 1998).

Los probióticos son microorganismos (utilizados como cultivos starters) que cuando son ingeridos en cantidades suficientes, tienen efectos beneficiosos sobre la salud, lo que va más allá de los efectos nutricionales convencionales de un alimento (Cevallos, 2006).

A la hora de adquirir los alimentos, el consumidor no los selecciona simplemente con el único deseo de satisfacer sus necesidades primarias, sino

que busca alimentos con un valor añadido: más apetitosos, más frescos, más naturales, de mejor color o textura, más nutritivos, en definitiva, más sanos. Esto indica que se ha introducido un nuevo concepto, el de alimento saludable, con una gran acogida y con una demanda cada vez mayor por parte del consumidor, también muy bien aprovechado y desarrollado por parte de la industria alimentaria (Varela, 2006).

En las últimas décadas el mercado de los alimentos saludables ha crecido notablemente a nivel global. Tanto en Asia como en Europa, el crecimiento anual de ésta industria fue del 20% entre 2002 y 2007. Dentro de esta gama de alimentos se destacan, con cerca del 65% de participación en el mercado mundial, aquellos con un contenido probiótico, los cuales contienen microorganismos bacterianos de tipo ácido lácticos (Taranto, 2005).

El mercado se ha dirigido a elaboración de productos lácteos fermentados con probióticos, como el yogurt, mantequilla, quesos y leches fermentadas. Sin embargo, existen una gran cantidad de productos que no son lácteos y son fermentados; dentro de los cuales están el salami, pepperoni, salchichón, entre otros.

▪ **Contextualización Meso**

La elaboración de embutidos crudos y de larga conservación es una de las facetas más difíciles de la fabricación de productos cárnicos. Por otra parte, los artículos citados se cuentan entre los más solicitados por el público consumidor. Un apetitoso repertorio de embutidos crudos acredita a cualquier industria especializada en estos artículos y constituye un estímulo para que sean adquiridos por el público (Durand, 2002).

La elaboración de embutidos madurados en América Latina no es de gran realce. Los principales lugares donde se elaboran embutidos madurados están

ubicados en la parte sur de Sudamérica, principalmente en localidades de Argentina y Chile, y en menor instancia en otros países de la región. La elaboración de embutidos madurados está dada por empresas privadas, donde se fabrican productos cárnicos, entre los cuales podemos encontrar los embutidos semi-secos y secos.

Para la elaboración de embutidos madurados se utiliza bacterias ácido lácticas como *Lactobacillus*, *Micrococcus* y *Pediococcus*. Estos organismos fermentan los azúcares simples como la glucosa, hasta ácido láctico en un período muy corto de tiempo, a veces en 6 – 8 horas. El pH final se controla con el contenido del azúcar (Schiffner, 1996).

Para obtener un buen embutido crudo es importante el proceso fermentativo o de maduración subsiguiente, con la fase de desecación a la conclusión de esta última. Como consecuencia del descenso de pH y de la disminución de la actividad de agua (a_w), adquiere el embutido su capacidad de conservación, toda vez que las bacterias responsables de la descomposición son incapaces de multiplicarse con bajos valores de pH y a_w . Pero con el descenso del pH y con la desecación, el embutido adquiere también la deseable consistencia. En el transcurso de la maduración y fermentación, los procesos químicos y enzimáticos, producidos por los microorganismos starters, generan el agradable aroma y sabor característico del embutido crudo (Durand, 2002).

La demanda del mercado ha impulsado en los últimos años una nueva línea de alimentos funcionales probióticos, productos alimenticios que, además de su valor nutritivo intrínseco, ayudan a mantener el estado de salud general del organismo y a la vez pueden tener un efecto benéfico adicional, terapéutico o preventivo en el consumidor (Taranto, 2005).

Si bien se han realizado investigaciones y desarrollo de muchos alimentos funcionales con probióticos, en América Latina se ha visto un gran interés en el

desarrollo de yogures funcionales (leches fermentadas) debido a la facilidad que tienen los microorganismos probióticos, como los *Lactobacillus*, para desarrollarse en este medio.

- **Contextualización Micro**

En el país la fabricación de embutidos tiene más de 85 años de procesamiento, existen criaderos y granjas especializadas para el tratamiento de cerdos, reses y aves, que se usan como materia prima para la fabricación de embutidos (Diario El Financiero, 2007). Empresas como Juris, La Ibérica, La Europea, La Suiza, Plumrose, Don Diego, La Andaluza, La Ibérica y la Sociedad de Salinas de Bolívar, son las principales productoras de alimentos cárnicos, donde se elaboran embutidos madurados y entre ellos se encuentra el salami.

La industria de embutidos en Ecuador mueve alrededor de US\$120 millones al año, sector donde el 60% de la industria lo conforman las empresas formales, mientras que un 40% es informal. Se estima que el consumo per cápita de embutidos en Ecuador es de aproximadamente 2.20 kilos por persona, estimación que lamentablemente se hace en el país debido a que no hay estadísticas oficiales del sector, sino que se obtienen datos por inferencias, esto es de acuerdo al consumo entre lo que se produce y se vende, según los fabricantes (Diario El Financiero, 2007).

La elaboración de productos cárnicos madurados representa un pequeño ingreso para las empresas que los producen, debido a que la aceptabilidad y demanda de esta clase de productos en nuestro medio es baja.

Ante el escaso conocimiento de gran parte de los consumidores del proceso de elaboración y las medidas adoptadas por las empresas para cumplir con los requisitos de higiene y calidad que de alguna forma y en ciertos casos, han hecho que la imagen de los embutidos no sea la más confiable, una

campaña publicitaria con información precisa de las bondades de los embutidos sería una alternativa para motivar el consumo de estos productos (Prochile, 2007).

Para ello es preciso controlar sistemáticamente todas las etapas del tratamiento de las materias primas hasta que se convierten en productos terminados y listos para la venta, y analizar la acción de los diversos métodos de elaboración y aditivos sobre todas las fases de elaboración (Prochile, 2007).

Para varios expertos la comercialización de carne y productos cárnicos como alimentos funcionales, requiere centrarse en los beneficios de los nutrientes, el contenido particular de la carne de alto valor proteico. Debido principalmente a que los consumidores definen a los productos cárnicos como la principal fuente de grasa, esencialmente grasas saturadas; sin embargo son también la fuente más importante de grasas monoinsaturadas indispensable en la dieta (Leroy, 2009).

Los alimentos funcionales en el Ecuador se iniciaron por la línea de productos lácteos, en donde se incluyen alimentos con probióticos. Aun así esta industria no está muy desarrollada, a pesar que se cuenta con la facilidad para obtener crecimiento de los microorganismos en un medio ácido. Los probióticos utilizados actualmente son importados de países de Europa y Asia, lo cual implica costos de adquisición y transporte elevados.



Gráfico 1. Árbol de Problemas de “Efecto del empleo de m/o probióticos en la elaboración de un producto cárnico madurado tipo salami”
Elaborado por: Víctor Rodríguez

1.2.2. ANÁLISIS CRÍTICO

La elaboración de embutidos madurados es un proceso que se ha ido transmitiendo por el tiempo de una manera tradicional, que en las últimas décadas ha tenido inclusión de una serie de procesos que han ayudado a innovar el proceso de producción y mejorar la calidad del producto final, tal es el caso de la adición de microorganismos starters.

La adición de microorganismos probióticos propone una innovación en el proceso de elaboración del salami, es decir que la manera en cómo es elaborado este producto cárnico madurado se verá modificada, obteniendo cambios principalmente en las características organolépticas.

Al adicionar microorganismos probióticos se desarrollará un mercado, que por desconocimiento de las condiciones propicias para el desarrollo de microorganismos benéficos en la carne no ha sido explorado y por consiguiente se ha limitado al consumidor el acceso a alimentos de alto valor nutritivo.

Los productos cárnicos son una buena fuente nutritiva, que constan principalmente de proteínas y grasas insaturadas. La innovación hacia este tipo de productos cárnicos al añadirle propiedades funcionales incrementará su aceptabilidad hacia los consumidores, incorporando más nutrientes en sus dietas, mediante el desarrollo de nuevas tecnologías en la elaboración de productos cárnicos madurados.

Los alimentos funcionales tienen un efecto significativo en la salud de los consumidores. La escasa producción de estos alimentos provoca que los consumidores no puedan adquirir con facilidad esta clase de productos cárnicos. Mediante la producción a una escala amplia de alimentos funcionales, especialmente de carácter cárnico, los consumidores mejorarán su salud al

contar con una gran fuente de nutrientes y de prevención de ciertas enfermedades.

1.2.3. PROGNOSIS

La aplicación de cultivos starters para la elaboración de embutidos madurados ha tenido una serie de investigaciones. Entre estas se encuentra el uso de microorganismos probióticos. Existen muchos productos o alimentos con microorganismos probióticos que poseen una gran aceptabilidad, entre estos encontramos principalmente los productos lácteos.

En nuestro medio, los productos cárnicos madurados no han tenido un gran desarrollo e innovación, por lo que al no realizar esta investigación se negará la oportunidad de ampliar el uso de microorganismos probióticos, como cultivos starters, y por ende la innovación del proceso de elaboración del salami. Además, de comparar y diferenciar las características fisicoquímicas y organolépticas del producto obtenido mediante el uso de cultivos probióticos, (los cuales no son de común empleo en la industria cárnica) con productos elaborados con cultivos starters específicos.

Al usar cultivos starter se reducirá el tiempo de procesamiento del salami, en comparación a otros elaborados por fermentación natural, debido principalmente a que los microorganismos añadidos ayudarán a llevar un adecuado proceso de fermentación y maduración. Por lo que esta reducción en el tiempo de elaboración representará menos gasto económico a la empresa, ya que los salamis estarán de venta en el mercado en un tiempo mas corto al no permanecer un largo período de tiempo en la cámara de maduración.

Así mismo, los productos cárnicos proporcionan un gran aporte nutricional, principalmente proteínas y grasas insaturadas y al encontrarse presentes

microorganismos probióticos su consumo resultará llamativo para el consumidor.

Igualmente, se negará la posibilidad de que la salud de los consumidores se beneficie al adquirir el producto que contendrá microorganismos probióticos. Los microorganismos probióticos recolonizarán la microbiota del sistema digestivo y evitarán el desarrollo de microorganismos patógenos lo que conlleva a prevenir enfermedades relacionadas con el sistema digestivo.

1.2.4. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Es la escasa aplicación de microorganismos probióticos como cultivos starters en la elaboración de productos cárnicos madurados tipo salami la que provoca una limitada potenciación de las características organolépticas de productos cárnicos de tipo madurado y probiótico?

- **Variable Independiente:**

Aplicación de microorganismos probióticos.

- **Variable Dependiente:**

Producto cárnico madurado tipo salami.

1.2.5. INTERROGANTES DE ESTUDIO

- ¿Qué tipo de microorganismos probióticos son los adecuados para la elaboración de un producto cárnico madurado?
- ¿Qué factores tecnológicos influirán en la conservación de microorganismos probióticos en un producto cárnico madurado?

- ¿Se desarrollaran los microorganismos probióticos durante el período de fermentación y maduración del producto cárnico?
- ¿Se han realizado estudios previos sobre la elaboración de productos cárnicos madurados con características funcionales?
- ¿Se podrá expandir el mercado de comercialización de productos cárnicos madurados mediante la elaboración de este producto?

1.2.6. DELIMITACIÓN

Categoría:	Alimentos
Subcategoría:	Tecnología de Cárnicos
Área:	Embutidos Madurados
Subárea:	Salami

El proyecto de investigación se realizó en la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, en el Laboratorio de Procesamiento de Alimentos, en el período Diciembre 2010 - Mayo 2011.

1.3. JUSTIFICACIÓN

El empleo de cultivos starters en embutidos madurados, específicamente en salami, es esencial para desarrollar y mejorar las características organolépticas y funcionales de la carne, que es un alimento de alto valor nutricional y de gran aceptabilidad.

El proceso de elaboración de salami en tiempos antiguos se lo realizaba de forma empírica y cuando se adicionaron cultivos starters esta tecnología cambió notablemente. Se ha experimentado con muchas cepas de microorganismos con los cuales se obtienen diferentes características en los salamis elaborados. Con las cepas de microorganismos probióticos se han realizado experimentos que evidencian la disminución de microorganismos

patógenos presentes en la carne por acción del antagonismo y la producción de sustancias nocivas para estos.

Además de la disminución de patógenos, la adición de microorganismos probióticos en el producto cárnico madurado, ayudará a que la microbiota en el sistema digestivo del que lo consuma se encuentre en un nivel equilibrado, logrando evitar el desarrollo de microorganismos nocivos para la salud. El salami se lo puede consumir sin aplicación de un proceso térmico por lo que es el medio adecuado para proporcionar al consumidor microorganismos probióticos.

La innovación de alimentos funcionales trae consigo una cultura de buenos hábitos de alimentación. Si en el mercado existen muchos alimentos que al ser consumidos proporcionen un beneficio 'extra' para la salud serán bien vistos y acogidos por los consumidores. Por lo que el uso de microorganismos probióticos y de elementos prebióticos es el avance de la tecnología de alimentos.

Los alimentos funcionales son de gran importancia en esta época, principalmente porque ayudan a prevenir problemas en la salud de las personas. Estos problemas son causados, en su mayoría, por el estrés, que afecta el funcionamiento de los órganos del cuerpo, y por el consumo de comidas rápidas que no aportan los nutrientes necesarios que requieren las personas para desempeñar a cabalidad y con éxito las actividades que realizan a diario.

Los microorganismos probióticos establecidos para el estudio han sido utilizados en la industria láctea obteniendo excelentes resultados, tanto en los productos elaborados como en las propiedades funcionales del alimento. Por ese motivo, mediante el empleo de estos microorganismos para la elaboración de salami se incluirán propiedades probióticas al salami.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. OBJETIVO GENERAL

- Emplear microorganismos probióticos (*Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*) como cultivos starters en la elaboración de un producto cárnico madurado tipo salami con la finalidad de potenciar las características organolépticas del producto.

1.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer las especificaciones tecnológicas necesarias para la elaboración de un producto cárnico madurado tipo salami con microorganismos probióticos como cultivos starters.
- Determinar los cambios fisicoquímicos generados en el proceso de fermentación y maduración en el producto cárnico madurado por el efecto de la aplicación de los microorganismos *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*.
- Validar la existencia de microorganismos probióticos (*Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*) en el producto cárnico madurado tipo salami.
- Desarrollar un modelo matemático aplicado al desarrollo de los microorganismos utilizados como cultivos starters durante el proceso de fermentación y secado del producto cárnico madurado tipo salami.
- Identificar el mejor tratamiento empleado para la elaboración del producto cárnico madurado tipo salami mediante pruebas de análisis sensorial.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

En la biblioteca de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato se encuentran trabajos relacionados con el tema de investigación; tales como:

- Perfil del Proyecto previo a la obtención del Título de Ingeniero en Alimentos con el tema “Incidencia del proceso de maduración en los embutidos crudos: Salami” presentado por Franklin Barros (1995).
- Libros publicados como: “Tecnología de los productos de charcutería y salazones” por Paule Durand (2002), “Fabricación fiable de embutidos” por Werner Frey (1995), “Ciencia de la carne y de los productos cárnicos” por James Price (1994), “Cultivos bacterianos para la industria cárnica” por Eberhard Schiffner (1978) y “Elaboración casera de carne y embutidos” del mismo autor (1996), “Carne y productos cárnicos” por Alan Varnam *et al.* (1998)
- En la revista de los Archivos Latinoamericanos de Nutrición se encuentra una investigación de tema: “Evaluación del efecto de cultivos probióticos adicionados a yogurt comercial, sobre poblaciones conocidas de *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* O157:H7” presentado por, Xinia Barrantes *et al.* (2004).
- Además de los “Apuntes de Tecnología de Cárnicos” de Diego Salazar (2008).

Todos estos trabajos representan fuentes importantes de consulta donde se presenta información relevante sobre procesos tecnológicos de elaboración

de embutidos madurados, así como aspectos relacionados con el uso de microorganismos como cultivos starters y parámetros de control para la obtención de un producto cárnico de calidad.

2.2. FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA

Esta investigación tiene su fundamentación filosófica Crítica Propositiva debido a que su finalidad está orientada a la identificación de las potencialidades de cambio de una realidad; la relación sujeto-objeto busca una interrelación transformadora; su diseño de investigación es participativo, abierto flexible y nunca acabado y predominan los análisis cualitativo y cuantitativo. En el presente trabajo se fundamenta en el racionalismo ya que sólo por medio de la razón se puede descubrir ciertas verdades evidentes en sí (Salomón, 2007).

2.3. FUNDAMENTACIÓN LEGAL

Para la elaboración de este tipo de producto madurado con probióticos se considerarán las siguientes Normas INEN:

- **NTE INEN 1343:1996** “Carne y productos cárnicos. Salame. Requisitos.”
- **NTE INEN 1338:2010** “Carne y Productos Cárnicos. Productos Cárnicos Crudos, Productos Cárnicos Curados–Madurados y productos Cárnicos Precocidos – Cocidos. Requisitos.”

Además se debe tener en consideración las leyes estipuladas en la constitución vigente de la República del Ecuador, en donde se hace referencia a los alimentos.

**TÍTULO II. DERECHOS. Capítulo segundo. Derechos del buen vivir.
Sección primera. Agua y alimentación**

Art. 13.- Las personas y colectividades tienen el derecho al acceso seguro y permanente a alimentos sanos, suficientes y nutritivos; preferentemente producidos a nivel local y en correspondencia con sus diversas identidades y tradiciones culturales. El estado ecuatoriano promoverá la soberanía alimentaria.

TITULO VI. RÉGIMEN DE DESARROLLO. Capítulo tercero. Soberanía alimentaria

Art. 281.- La soberanía alimentaria constituye un objetivo estratégico y una obligación del Estado para garantizar que las personas, comunidades, pueblos y nacionalidades alcancen la autosuficiencia de alimentos sanos, y culturalmente apropiados de forma permanente.

1. Impulsar la producción, transformación agroalimentaria y pesquera de las pequeñas y medianas unidades de producción, comunitarias y de la economía social y solidaria.
7. Precautelar que los animales destinados para la alimentación humana estén sanos y sean criados en un entorno saludable.
8. Asegurar el desarrollo de la investigación científica y de la innovación tecnológica apropiadas para garantizar la soberanía alimentaria.
13. Prevenir y proteger a la población del consumo de alimentos contaminados o que pongan en riesgo su salud o que la ciencia tenga incertidumbre de sus efectos.

2.4. CATEGORÍAS FUNDAMENTALES

2.4.1. CONCEPTUALIZACIÓN

- Red de inclusiones conceptuales

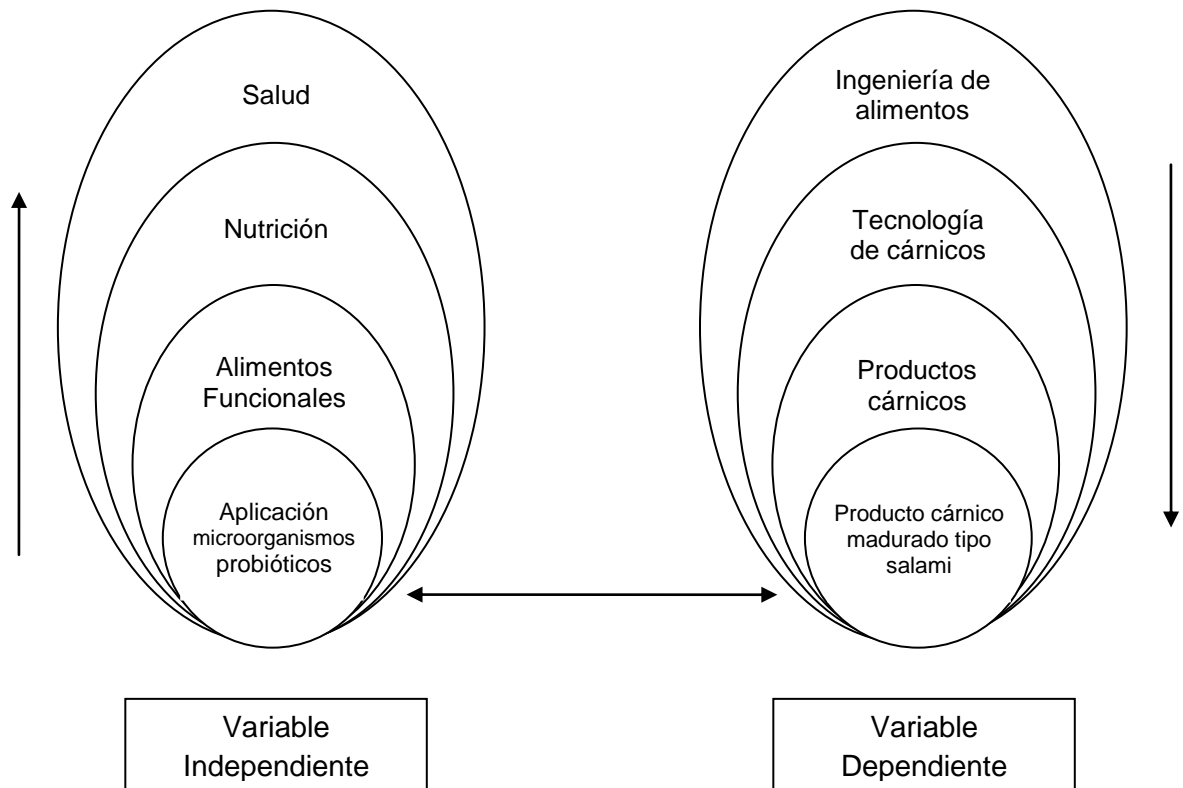
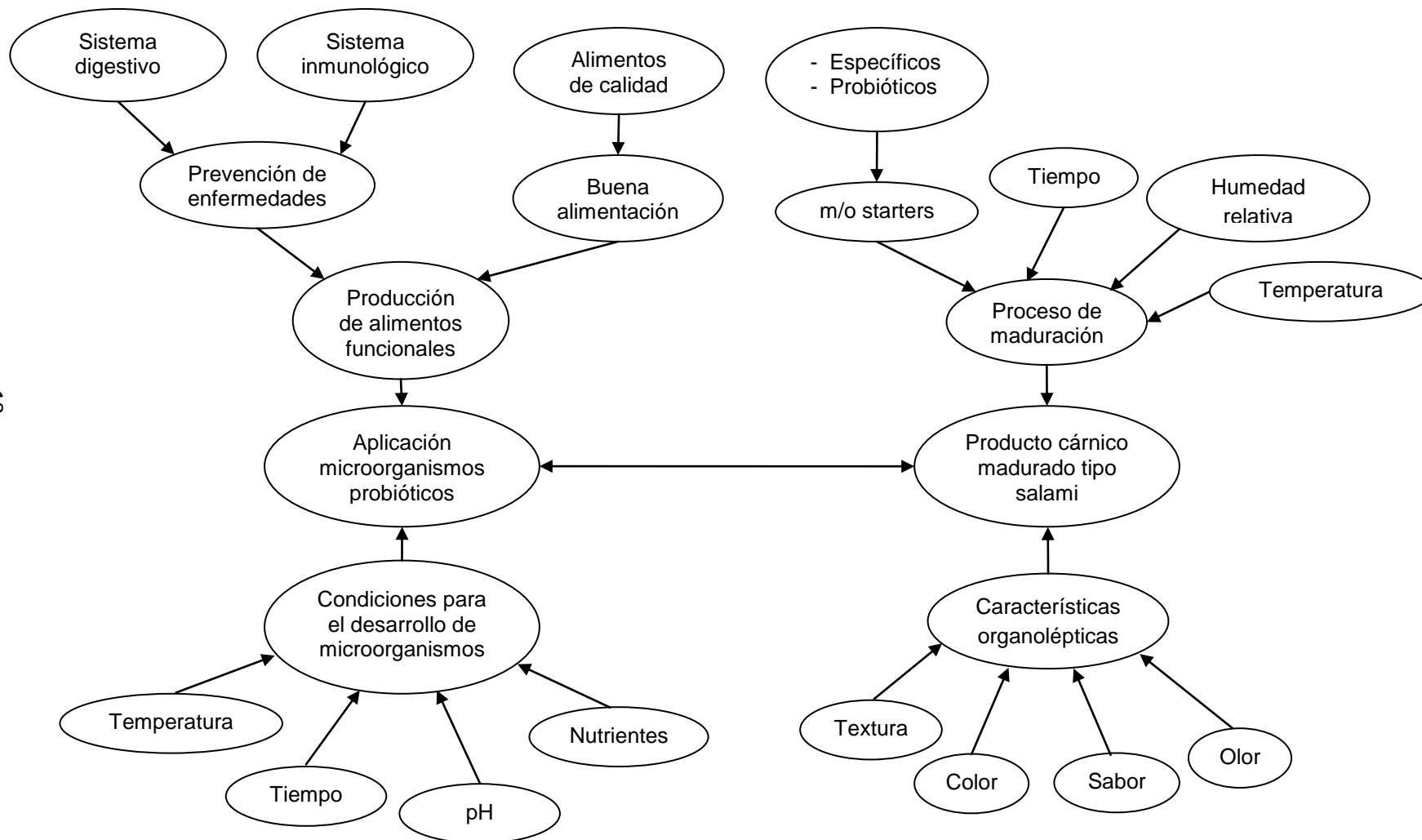


Gráfico 3. Red de inclusiones conceptuales
Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

▪ Lluvia de ideas



18

Gráfico 4. Lluvia de ideas

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

2.4.2. DIAGRAMA DE FLUJO PARA LA ELABORACIÓN DE SALAMI

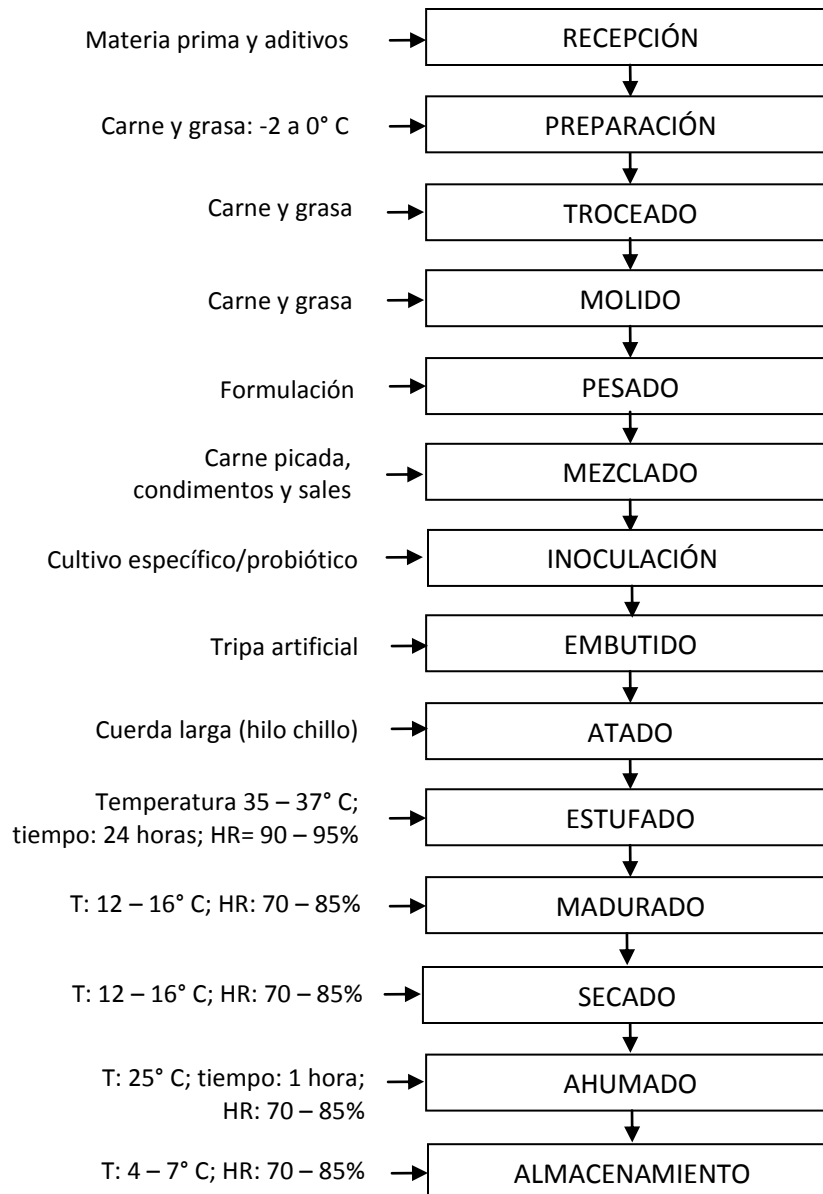


Gráfico 2. Diagrama de flujo para la elaboración de salami
Fuente: Apuntes de Tecnología de Cárnicos, Diego Salazar (2008)
Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

2.4.3. PROCESO DE PRODUCCIÓN DE SALAMI

Según Salazar (2008), los principales parámetros a considerarse para la elaboración de productos cárnicos madurados son:

Componentes del salami

- **Carne.-** Se trata fundamentalmente de magros de vacuno y de cerdo. La masa inicial usada para la elaboración de salami contiene un 50 – 70% de carne magra.
- **Grasa.-** Se utiliza casi siempre grasas de estructura compacta y de aspecto firme: tocino, grasa de cobertura del jamón o de la paleta, etc. La grasa puede llegar a representar hasta el 50% del producto después del secado.
- **Sal.-** Se añade habitualmente a la mezcla en una concentración del 2,5 - 3%, lo que disminuye la actividad de agua inicia aproximadamente a 0,96.
- **Nitritos.-** Se trata de un aditivo denominado “de salazón” cuyo papel bacteriostático es fundamental, al igual el ayudar a mantener el color, mediante el curado, característico en productos cárnicos. Las dosis de uso habituales son de 150 ppm de la mezcla.
- **Cultivos starters.-** Los cultivos starters principalmente están constituidos por bacterias lácticas y se añaden para mejorar la consistencia y el control de la fermentación. Se suministran en forma liofilizada y requieren reconstituirse en agua antes de la adición.
- **Azúcares.-** Los más utilizados son la dextrosa, sacarosa, lactosa y jarabes de glucosa. Estos sustratos permiten obtener una acidificación más o menos rápida e intensa del producto.

- **Ácido ascórbico y sorbato de potasio.-** Son verdaderos antioxidantes de las grasas, ya que fijan el oxígeno residual del medio; además, limitan el contenido residual de los iones nitrito libres y la formación de nitrosaminas, así como también favorecen la formación de nitrosohemoglobina.

- **Espicias y aromatizantes.-** La pimienta, en forma natural, ofrece a los microorganismos útiles una fuente de oligoelementos. Además se utilizan otras especias como: nuez moscada, cilantro, pimienta, plantas o bulbos usados como condimentos (ajo), vinos y alcoholes como el ron o el aguardiente.

- **Tripas.-** Se llama tripa a un envoltorio cilíndrico que permite dar forma y protección a ciertos productos de charcutería crudos, cocidos, o que hayan sufrido un secado – maduración.
 - a) **Tripas naturales:** Son obtenidas a partir del tubo digestivo de los porcinos, ovinos y equinos, sin ninguna transformación. Se utilizan para la elaboración de morcillas, salchichas.

 - b) **Tripas artificiales:** Elaboradas a partir de fibra animal y constituidas por fibras de colágeno obtenidas por tratamiento térmico fisicoquímico de la dermis de los bovinos.

 - c) **Tripas sintéticas:** Elaboradas a partir de sustancias celulósicas o de polímeros de síntesis.

Elaboración del salami

- **Recepción de la materia prima y aditivos.-** Las carnes empleadas deben provenir de mataderos autorizados. No se utilizan carnes con daños físicos o con evidente proceso de descomposición, con el empleo de cuchillos se elimina grasas blandas de la carne y nervios. La grasa o a emplear no debe ser blanda, para evitar que se derrita, por eso se debe escoger grasas duras. Los aditivos deberán ser de optimas calidades, la sal deberá ser limpia y fina, etc.
- **Preparación de la carne y grasa.-** Se congela la carne magra y grasa con un mínimo de 12 horas previo al proceso, utilizando el equipo congelador, la carne deberá alcanzar los -18° C en su interior. Es importante mantener baja la temperatura de proceso para evitar derretimiento de la grasa y alteración de las proteínas cárnicas, necesarias para la formación de la masa.
- **Molido.-** Se debe tener precaución de mantener bien afilados los cuchillos del molino para evitar un aplastamiento y el posterior calentamiento del material. Además es de importancia mantener frío el equipo (entre 0 y -4° C) debido a que es imperioso que la carne no se deshiele en el proceso. Primero se incorpora la carne de vacuno, la operación debe realizarse a revoluciones lentas, luego se añade la carne de cerdo. Una vez que se alcance el tamaño del grano deseado se podrá agregar la grasa.
- **Adición de condimentos y aditivos.-** Una vez picada la carne se incorporan los aditivos y condimentos. Existen ciertos aditivos que es aconsejable mezclar con la sal para incorporarlos a la masa.
- **Adición de sal.-** La adición de la sal se realiza lo más tarde posible para evitar problemas con las proteínas de la carne que pueden afectar la calidad de la masa. Mientras más fina sea la trituración de la masa de embutido,

deberá realizarse una mayor refrigeración. Se debe detener el molino de carne cuando la pasta es homogénea, y con granos de grasa de tamaño pequeño.

- **Inoculación.-** Una vez que esta lista la mezcla se agregan los microorganismos (cultivo starter) que serán responsables del mejoramiento de las propiedades organolépticas, durante el proceso de maduración y secado. En esta etapa se agrega los microorganismos específicos y probióticos, según el tratamiento.

- **Embutido.-** Se debe eliminar el aire que pueda quedar dentro de la masa antes de embutir. Se puede pinchar la masa repetidas veces para que salga el aire dentro. Se alimenta la embutidora con bolas de masa, esto también permite su eliminación. La importancia de eliminar el aire radica en que podrá causar problemas de descomposición bacteriana y de crecimiento de mohos o la formación de cámaras huecas dentro del embutido. La presión de llenado debe ser correcta al igual que el diámetro del tubo de llenado debe acomodarse al calibre de las tripas. Se pueden emplear tripas naturales, artificiales, lo importante es que tengan una suficiente permeabilidad al agua y una buena capacidad de contracción.

- **Atado de la tripa y colgado de los embutidos.-** Se realiza principalmente para impedir la disminución de la presión de relleno. Se realiza con una cuerda larga (hilo chillo) o con la ayuda de dispositivos especiales (clipeadora).

- **Estufado.-** Una vez embutida la pasta, el salami es sometido a un alza de la temperatura a 35 – 37° C, óptima para el desarrollo de los microorganismos de los cultivos starters empleados, por un período de 24 horas. El objetivo es que la curación sea rápida y mayor. La transformación de la pasta en salami y la conservación de este está sujeto al éxito de fenómenos fisicoquímicos y

microbiológicos que se producen por la acción de ciertos microorganismos en la pasta por la producción de ácidos orgánicos(láctico) esto disminuye el pH y contribuye a la inhibición de microorganismos no deseados y dan características deseables al producto, ya que el descenso de pH es un factor importante de la capacidad de retención de agua de las proteínas y así asegura que el secado se realice correctamente.

- **Maduración.-** La cámara o sala de maduración debe tener una temperatura de 12 a 16° C y una humedad relativa de 70 a 85%. Es en estas condiciones donde el salami adquiere todas las características organolépticas que lo distinguen y lo transforman en un producto de alta calidad y gran aceptabilidad. El tiempo de maduración es indeterminado, ya que el secado del salami dependerá de las características de la tripa y de las condiciones de la pasta, además se debe esperar que el producto alcance su color rojo óptimo.
- **Ahumado.-** El ahumado es uno de los métodos de conservación más antiguos. Se emplean tiempos de ahumado cortos que garantizan un efecto conservador a la tripa o a una capa externa de masa de unos pocos milímetros. Este proceso se sometió a los salamis a una temperatura de 25° C por aproximadamente una hora, con una humedad relativa del medio de 70 al 85%.
- **Almacenamiento.-** Después del proceso de maduración, los embutidos se almacenan en un ambiente limpio a temperaturas de refrigeración de 4 a 7° C a una humedad relativa de 70 a 85%. Como todos los productos que contienen bacterias vivas, los productos se deben refrigerar durante el almacenamiento. Esto es necesario para garantizar altos índices de supervivencia de los microorganismos probióticos y para asegurar la estabilidad del producto.

2.4.4. PRODUCTOS CÁRNICOS MADURADOS

Antiguamente se disponía de menos posibilidades de conservar la carne durante largo tiempo. Los métodos más antiguos de conservación son los de secado y salado. Los métodos de conservación de la leche no servían para la carne. Los trozos grandes de carne no experimentan una acidificación espontánea como ocurre en la leche, sino que se pudren. Se observó, sin embargo, que si los trozos se reducían de tamaño y se apretaban muy fuertemente, de forma que no entrara oxígeno, se alcanzaba en la carne una acidificación y un grado de conservación semejante a los de algunos productos lácteos. Mientras que con los procedimientos de secado y salado se mantenían la consistencia, el aroma y el gusto de la carne, y de la acidificación combinada con un desmenuzamiento de la carne resulta un producto de sabor completamente nuevo (Schiffner, 1996).

Los productos cárnicos madurados son una mezcla de carne picada, grasa, sal, agentes de curado, azúcar, especias y otros aditivos, que es introducida en las tripas naturales o artificiales y sometida a un proceso de fermentación, seguida de una fase de secado (Price, 1994). Se establece entonces que los ingredientes utilizados en la elaboración de un embutido madurado son similares a los de un embutido escaldado (salchichas, por ejemplo), salvo que el primero es sometido a un proceso de maduración que proporciona características organolépticas definidas.

Los embutidos fermentados o madurados se caracterizan por su sabor fuerte y picante, y en muchos casos, por su textura chiclosa. Estos sabores característicos se producen como consecuencia de la fermentación bacteriana, que da lugar al ácido láctico y otros compuestos (Varnam *et al.*, 1998).

El salame o salami es el embutido seco, curado, madurado o cocido, elaborado a base de carne y grasa de porcino y/o bovino, con ingredientes y aditivos permitidos (NTE INEN 1338, 2010).

▪ **Maduración de los embutidos crudos**

El concepto de maduración del embutido crudo comprende diferentes procesos que tienen lugar en el embutido crudo una vez elaborada su masa. Los procedimientos de maduración los que realmente originan las características de los distintos embutidos crudos (frescos, de consistencia firme, curados, etc). La maduración se desarrolla en dos fases. Durante la primera fase predominan las actividades reproductoras y metabólicas de las bacterias. Esta fase concluye con la con la diferenciación bacteriana y se caracteriza por la aparición de numerosos ácidos grasos, ácido pirúvico y ácido láctico. La segunda fase dominan los procesos de descomposición y transformación. Lo más relevante es la descomposición de los ácidos grasos producidos en la primera fase, formándose así el típico aroma del producto (Schiffner, 1996).

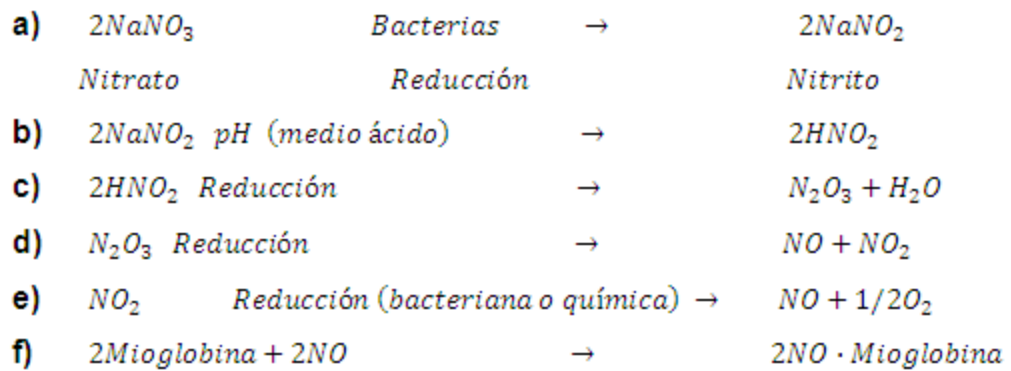
Los embutidos madurados poseen características notablemente diferentes, haciéndolos más apetitosos y aceptables para un mercado que actualmente está creciendo (Varnam *et al.*, 1998).

▪ **Proceso de curado**

El embutido madurado listo para la venta debe exhibir ya un atractivo y estable color rojo. Para ello se utilizan las sustancias curantes que son el nitrato sódico (nitro, salitre) o nitrito de sodio en forma de sal curante de nitrito. Para un buen enrojecimiento y una adecuada estabilidad del color son requisitos indispensables la presencia de suficiente cantidad de pigmento muscular y la incorporación a la pasta de una adecuada cantidad de sustancia curante (Frey, 1995).

En embutidos curados, son los pigmentos del musculo, no el nitrito, los que causan el reflejo de luz característico del color de la carne curada. El nitrito únicamente actúa como un estabilizador de la mioglobina a través de un enlace químico reversible de la misma manera que el pigmento muscular es estabilizado por el oxígeno molecular en el sistema biológico de un animal vivo. En otras palabras nitrito fija en lugar de impartir color (Pegg *et al.*, 2000).

▪ **Enrojecimiento con nitrato y/o nitrito**



Además de influir las sustancias curantes sobre el enrojecimiento, nitratos y nitritos cuentan también con otras propiedades tecnológicas. Así, contribuyen a generar el deseado aroma del curado. También inhibe el nitrito el desarrollo de los microorganismos indeseables por lo que la agregación de este compuesto químico es en extremo ventajosa desde el punto de vista microbiológico (Frey, 1995).

Después de muchos años del uso de sustancias curantes, se conoció que no es el nitrato, sino el nitrito, lo que realmente se precisa para el enrojecimiento. El nitrato, pues, debe ser reducido a nitrito. Esto se consigue dejando actuar a las bacterias nitrato reductoras durante un período de tiempo determinado (Schiffner, 1996).

De igual forma empezaron a aparecer denuncias a causas de los nitritos y nitratos; no por sus efectos tóxicos directos, que han sido prácticamente eliminados gracias a las normas legales que regulan su uso, sino por un compuesto que se forma en el intestino humano al contactar el nitrito con determinados productos de descomposición de las proteínas y con el ácido clorhídrico del jugo gástrico. Este compuesto se denomina nitrosamina y es cancerígeno. La nitrosamina se produce únicamente si el nitrito llega íntegro al estómago; es decir, el nitrito no está completamente descompuesto. Es necesario, por tanto, procurar que quede en el embutido la menor cantidad posible de nitrito residual. Para ello hay que seguir las siguientes normas:

- Utilizar la sal curante de nitrito en aquellos casos en que es imprescindible por razones productivas o de higiene alimentaria.
- Emplear la mínima cantidad posible.
- Durante el proceso de elaboración hay que intentar convertir la mayor cantidad posible de nitrito en nitrosomioglobina (rojo del curado), que es una sustancia inocua (Schiffner, 1996).

La NTE INEN 1343 (1996) establece el uso de nitrito de sodio y/o potasio para la elaboración de salami madurado en una cantidad máxima de 125 mg/Kg (125 ppm).

2.4.5. MICROORGANISMOS STARTERS

Numerosos productos alimenticios incluyen una fermentación láctica previa a su consumo, lo que les asegura características particulares de aroma y textura, pero también seguridad alimentaria gracias a los ácidos orgánicos producidos. Las bacterias responsables se agrupan bajo la denominación de “bacterias lácticas”, aun cuando este término encierra microorganismos muy diferentes (Desmazeud, 2000).

El uso de cultivos starters es casi universal en la producción de embutidos fermentados y el producto final se almacena normalmente sin refrigeración y se consume sin tratamiento térmico (Varnam *et al.*, 1998).

En la fabricación de embutidos crudos desempeñan los microorganismos un papel decisivo: la reducción de los nitritos, el descenso del pH, la formación de aroma, la estabilidad del color y la capacidad de conservación de los productos son características o procesos que discurren durante la maduración de los embutidos y que se ve influenciada de manera importantísima por los gérmenes (Frey, 1995). Se establece que los microorganismos starter (en este caso probióticos) son decisivos para la obtención de un producto de calidad.

El embutido crudo recibe, pues, una ayuda inicial para su desarrollo en la dirección deseada; por eso se denominan estos cultivos bacterianos como también como cultivos iniciadores o 'starter'. Estos cultivos se pueden encontrar comercializados y son utilizados ampliamente en la producción industrial (Schiffner, 1978).

Tabla 1. Microorganismos usados en elaboración de embutidos madurados.

Grupo de Microorganismos	Especies
Bacterias ácido lácticas	<i>Lactobacillus plantarum</i> <i>Lactobacillus sake</i> <i>Lactobacillus curvatus</i> <i>Lactobacillus pentosus</i> <i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Pediococcus pentosaceus</i>
Cocos catalasa positivos	<i>Staphylococcus carnosus</i> <i>Staphylococcus xylosus</i> <i>Micrococcus varians</i>
Levaduras	<i>Debaryomyces hansenii</i>
Mohos	<i>Penicillium nalgiovense</i>

Fuente: Guillermo Quiroga, 2002

▪ **Microorganismos probióticos**

Los microorganismos denominados como bacterias probióticas son usados comúnmente como cultivos starters en la elaboración de productos lácteos fermentados. Los probióticos son considerados como bacterias ácido lácticas por lo que su aplicación en embutidos madurados como cultivo starter es viable. Cuando las bacterias probióticas participan activamente en la fermentación, se deben tomar muy en cuenta los aspectos de la composición del alimento y de las interacciones con la matriz del alimento y los microorganismos iniciadores (Heller, 2005).

Los probióticos son microorganismos, bacterias o levaduras no patógenas que contribuyen al equilibrio de la microbiota intestinal, refuerzan nuestras defensas y mejoran nuestra salud en general. Es importante que sobrevivan al proceso digestivo, para que lleguen al colon en cantidad considerable (Nestle, 2007).

Los probióticos como microorganismos vivos, que cuando son ingeridos en cantidades suficientes, tienen efectos beneficiosos sobre la salud, lo que va más allá de los efectos nutricionales convencionales. Afectan beneficiosamente a una o varias funciones del organismo. Proporcionan un mejor estado de salud y bienestar y/o reducen el riesgo de enfermedad. Pueden ser funcionales para la población en general o para grupos particulares de la misma. Hay que mencionar que, para ser considerada como probiótica, una bacteria tiene que sobrevivir el medio fuertemente ácido del estómago y colonizar el intestino delgado y grueso. Por medio de esta resolución se atribuyen a los probióticos muchos beneficios para la salud, además de dar un valor extra a los alimentos que los contengan (Cevallos, 2006).

Tabla 2. Microorganismos considerados como probióticos.

Microorganismo	Microorganismo
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus casei</i> var. <i>shirota</i>
<i>Lactobacillus crispatus</i>	<i>Lactobacillus casei</i>
<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	<i>Lactobacillus reuteri</i>
<i>Lactobacillus curvatus</i>	<i>Lactobacillus cellobiosus</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Bifidobacteria adolescentes</i>
<i>Bifidobacterium animalis</i>	<i>Bifidobacterium infantis</i>
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Streptococcus salivaris</i>
<i>Streptococcus faecium</i>	<i>Streptococcus diacetylactis</i>
<i>Streptococcus intermedius</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>

Fuente: FAO, 2001

En el grupo de bacterias probióticas empleadas como cultivos starter se encuentran a:

- *Lactobacillus*.- Es un género de bacterias Gram positivas anaerobias facultativas, denominadas así debido a que la mayoría de sus miembros convierte lactosa y otros monosacáridos en ácido láctico. Normalmente son benignas e incluso necesarias, habitan en el cuerpo humano y en el de otros animales, por ejemplo, están presentes en el tracto gastrointestinal y en el aparato reproductor femenino. La producción de ácido láctico hace que su ambiente sea ácido, lo cual inhibe el crecimiento de bacterias dañinas. Algunas especies de *Lactobacillus* son usadas industrialmente para la producción de yogurt y otros alimentos fermentados (Beijerinck, 2008).

- *Bifidobacterium*.- Son bacilos pleomórficos que se presentan individualmente, en cadenas o en grupos. Las células no tienen cápsula y no forman esporas, no son móviles ni presentan filamentos. Son anaerobios, algunas especies de *Bifidobacterium* pueden tolerar el oxígeno únicamente en presencia de CO₂. El crecimiento óptimo se sitúa entre 35 – 39°C. Las bifidobacterias son habitantes normales del tracto

gastrointestinal humano y de diversos animales y están presentes durante toda la vida pero en distintas cantidades, apareciendo a los pocos días después del nacimiento. Constituyen una de las especies predominantes de la microbiota del colon, las cuales se encuentran presentes en niveles que van desde 10^8 a 10^{11} bacterias por gramo de material del colon (Collado, 2004).

Los profesionales de la salud están reconociendo cada vez más los efectos beneficiosos de los probióticos sobre la salud y la nutrición humana. Estudios científicos recientes sobre las propiedades y la funcionalidad de microorganismos vivos en los alimentos sugieren que los probióticos desempeñan un importante papel en las funciones inmunitaria, digestiva y respiratoria, y que podrían tener un efecto significativo en el alivio de las enfermedades infecciosas en los niños y otros grupos de alto riesgo (Consulta FAO/OMS, 2001).

Se ha observado que los probióticos tienen efectos más allá del valor nutritivo del alimento, incluyendo (Barrantes *et al.*, 2004):

- **La exclusión, antagonismo e interferencia con m/o patógenos:** mediante el metabolismo y la producción de ácidos orgánicos y sustancias nocivas para el desarrollo de estos microorganismos.
- **La inmunoestimulación e inmunomodulación:** algunas cepas muestran una actividad inmunoestimulante en humanos, pudiendo actuar bien como adyuvantes de respuestas inmunes específicas (por intervención de los linfocitos T4), bien aumentando los mecanismos defensivos no específicos contra las infecciones o tumores (por fenómenos fagocitarios). Existen resultados que sugieren que la aparición de las bacterias probióticas

puede contrarrestar los efectos mutagénicos y genotóxicos en el colon y en otros lugares

- **Actividades anticarcinogénicas y antimutagénicas:** estudios epidemiológicos recientes aportan evidencias de que el consumo probióticos pueden reducir el riesgo de sufrir cáncer de colon

- **Alivio de los síntomas de intolerancia a la lactosa y consiguiente mejora de la digestibilidad:** las bacterias productoras de ácido acético presentes en productos como el yogur aumentan la actividad lactasa en el intestino delgado, reduciendo el problema de la asimilación.

- **Reducción del colesterol:** elevados niveles sanguíneos de ciertos lípidos son un factor de riesgo para problemas cardiovasculares. El efecto de los probióticos en la reducción de los niveles de colesterol y los mecanismos de acción de estos efectos son desconocidos pero algunas hipótesis sugieren que ciertas cepas pueden asimilar la molécula de colesterol.

- **Reducción de la incidencia y duración de diarrea:** al evitar la proliferación de bacterias patógenas causantes de infecciones intestinales.

- **Prevención de vaginitis y mantenimiento de la integridad de la mucosa:** la producción de ácidos orgánicos, en especial el ácido láctico, cuyo bajo valor de pH mantiene un medio estable.

- **Mantenimiento de la microbiota intestinal normal:** la microbiota de microorganismos lácticos vivos de los productos probióticos ayuda a repoblar el intestino humano en los casos de alteración de la microbiota propia como consecuencia de infecciones intestinales. Su consumo se recomienda en la prevención y tratamiento de la diarrea, enteritis o colitis. Pero también por el descenso de los niveles de colesterol, por su efecto

beneficioso en el tratamiento de la artritis reumatoide, infecciones de orina, etc.

- **Reducción en las alergias:** la intervención de los probióticos puede ayudar a reducir y aliviar los síntomas de alergias alimentarias mediante la modulación del sistema inmune a través de la modificación de la microbiota intestinal.
- **Salud gástrica:** La habilidad de las bacterias probióticas para influenciar la colonización y actividad de *Helicobacter pylori*, bacteria asociada a gastritis crónicas, ulcera péptica y un factor de riesgo para el cáncer gastrointestinal, ha sido evaluada por diferentes autores. Resultados de estudios animales y humanos sugieren que algunos probióticos o sus productos metabólicos pueden inhibir las infecciones por *H. pylori*.
- **Efectos nutricionales:** La fermentación es un proceso que aumenta la biodisponibilidad de proteínas (aminoácidos y péptidos) por la acción proteolítica de las bacterias empeladas como stárter.

2.4.6. ALIMENTO FUNCIONAL

Históricamente, el objetivo de la nutrición ha sido el conseguir una dieta equilibrada, que permitiera satisfacer los requerimientos de energía y de todos los nutrientes esenciales que cualquier individuo necesite. En la actualidad, y sin dejar al margen este importante objetivo, la ciencia de la nutrición se encuentra ante un nuevo y revolucionario reto, que es el estudio de nuevos alimentos y/o componentes alimentarios que permitan, independientemente de su clásico valor nutricional, asegurar aún más el estado de salud y reducir el riesgo de padecer ciertas enfermedades, especialmente las llamadas degenerativas (Varela, 2006).

Los alimentos funcionales son aquellos productos alimenticios que gracias a sus componentes alimentarios proveen beneficios a la salud más allá de la nutrición básica, es decir, producen un impacto beneficioso, clínicamente probado sobre la enfermedad. Entre sus principales características están que cuentan con cualidades nutritivas y benéficas para diversas funciones del organismo, mejoran el estado de salud, previenen o disminuyen el riesgo de contraer enfermedades y su consumo no posee efectos nocivos. El alimento funcional debe incorporarse en la dieta en forma natural y continua y se debe complementar con una dieta balanceada y actividad física (Cevallos, 2006).

Se debe tener en cuenta que los probióticos no solo ayudan en cuanto a enfermedades, estudios muestran que entre las personas que más fácilmente presentan un desgaste energético están los deportistas, ya que estos se ven sometidos a diferentes cargas físicas y es ahí donde la nutrición por alimentos funcionales juega un papel fundamental para ellos, suministrándoles vitaminas, disminuyendo el colesterol plasmático y permitiendo la degradación total de sustratos como la lactosa (Castro, 2009).

Los niveles mínimos de bacterias probióticas que deben estar presentes en los productos probióticos se ha establecido en 10^6 ufc/g (Samona y Robinson, mencionados por Collado, 2004).

2.4.7. VIDA ÚTIL DE PRODUCTOS CÁRNICOS MADURADOS

La vida útil (VU) es un período en el cual, bajo circunstancias definidas, se produce una tolerable disminución de la calidad del producto. La calidad engloba muchos aspectos del alimento, como sus características físicas, químicas, microbiológicas, sensoriales, nutricionales y referentes a inocuidad. En el instante en que alguno de estos parámetros se considera como inaceptable el producto ha llegado al fin de su vida útil (Morales, 2008).

La finalidad de cualquier fábrica de embutidos consiste en elaborar productos confiables desde el punto de vista sanitario, con buena presentación, uniformes, que agraden a los consumidores y a precios lo más reducidos posible. De esta forma se garantiza la permanencia en el mercado, se optimizan las condiciones de competencia y se facilita el aumento en las ventas. Para lograr estos objetivos es imprescindible poner en marcha un sistema de control de la calidad de forma que, celosamente, dentro de una metodología de trabajo claramente establecida y siguiendo un procedimiento ordenado, se vigilen cuidadosa y diariamente las condiciones sanitarias ambientales y de las materias primas, así como las desviaciones de los estándares de producción predeterminados (OEA, 2003).

Los embutidos fermentados se caracterizan por su valor de humedad y de actividad de agua, y por la presencia de ácido láctico en concentraciones que confieran al producto un sabor característico. El procesamiento de estos productos tiene como principio básico la utilización de métodos combinados de conservación, permitiendo la obtención de un producto estable a temperatura ambiente (Dalla *et al.*, 2006).

La desecación que sufren los embutidos secos, por sí misma, garantiza su inocuidad sin un tratamiento térmico adicional cuando están acordes con la regulación establecida (Frey, 1995).

La adición de sustancias curantes (nitritos de sodio y/o potasio), conservantes, sal común y la adición de cultivos starter ayudan a evitar la proliferación de microorganismos patógenos mediante el descenso de los valores de pH y adición de sustancias que inhiben su desarrollo; y que, conjuntamente con el descenso de los valores de a_w , durante el período de secado al cual se somete a los embutidos madurados, se asegura la estabilidad microbiológica y organoléptica del embutido durante un largo período de tiempo

almacenado en un medio que garantice inocuidad para que no se produzcan contaminación hacia el producto.

2.4.8. DEFECTOS EN LOS EMBUTIDOS MADURADOS

Entre los principales defectos que se pueden encontrar en embutidos madurados están (Schiffner, 1996):

- **Putrefacción interna.-** Se acompaña a menudo de una retracción de la envoltura, que puede llegar a separarse de la masa del embutido. Al corte se observan diferencias de color y de consistencia. El borde suele presentar el típico color rojo (a veces solo unos milímetros) y textura correcta, mientras que la parte central de la masa esta parcial o totalmente descolorida, en ocasiones de color gris o gris-verdoso, y reblandecida. El olor y sabor no son los típicos, sino desagradables y rancios. Hay presencia de microbiota atípica a la de un embutido madurado, identificándose únicamente micrococos y bacterias esporulantes aerobias. No hay corrección posible, por esta razón es muy importante controlar el embutido durante los primeros días de la maduración.
- **Putrefacción generalizada.-** A diferencia de la interna es fácil de reconocer externamente. El embutido afectado normalmente no se enrojece y no adquiere la consistencia al corte deseada. En el cuarto de maduración se percibe inicialmente un olor ácido que más tarde será de putrefacción. En los análisis microbiológicos predominan las enterobacterias, seudomonas, levaduras, estafilococos y bacterias aerobias productoras de esporas, observándose muy pocas bacterias de ácido láctico. Las causas pueden ser varias:

- Alteración del equilibrio bacteriano por utilizar carne con carga microbiana elevada, por ejemplo carne en malas condiciones higiénicas.
 - Insuficiente suministro de sustancias nutritivas, sobre todo de hidratos de carbono.
 - Empleo de carne con sustancias inhibidoras.
- **Defectos de coloración.-** Los defectos de coloración se clasifican en coloración grisácea marginal, coloración grisácea central y coloración grisácea generalizada. Los fenómenos de decoloración central (en la putrefacción interna) y de decoloración general (en la putrefacción total) se acompañan de alteraciones de la maduración de origen bacteriano. La decoloración marginal, por el contrario, se origina por muy diversos factores.
- **Coloración grisácea marginal.-** El embutido, que exteriormente aparece liso y sin ninguna alteración, presenta un color gris o gris-verdoso. Este color se debe a la formación de metamioglobina, relacionada con la descomposición química del nitrito. La reacción química no se conoce con exactitud, pero se sabe que la metamioglobina se forma preferentemente cuando hay mucho oxígeno y cuando el embutido crudo experimenta grandes cambios de temperatura, que influyen sobre la nitrosomioglobina recién formada y aun inestable.
 - **Coloración grisácea generalizada.-** Este defecto se acompaña de una putrefacción total. Esta alteración se produce en casos muy raros y es debida a la adición, por equivocación, de sal común en vez de sal curante.

- **Alteraciones por mohos, levaduras y hongos.-** Estos defectos surgen cuando la humedad del aire es demasiado elevada durante la postmaduración. La presencia de hongos se manifiesta por una superficie húmeda y grasosa; las levaduras por la formación de una capa blanca, que puede ser seca o húmeda, y el enmohecimiento por una capa gris, verde o negra. Los tres defectos tienen una cosa en común; se debe a la humedad relativa del aire demasiado alta. Estos defectos se pueden evitar controlando la humedad relativa del aire. La capa de hongos de la superficie del embutido puede eliminarse simplemente lavando. Más difícil resulta corregir el enmohecimiento. Hay que realizar controles continuos para vigilar que los mohos no se extiendan por toda la superficie del embutido. El enmohecimiento no es únicamente un defecto estético no es solamente un defecto estético, sino también un peligro para la salud, ya que algunas de especies de mohos producen micotoxinas (sustancias de elevada toxicidad).
- **Acidificación demasiado rápida.-** En este caso los embutidos pueden presentar diferentes alteraciones del color. A menudo aparecen con su color normal al corte, pero esta nitrosomioglobina es estable y se torna gris al cabo de unos minutos de cortar el embutido. La nitrosomioglobina se oxida y se forma metamioglobina. Este defecto de cloración no se debe a fallos en la maduración del embutido crudo, sino se origina por un descenso excesivamente rápido del valor de pH.
- **Alteraciones del sabor y olor.-** En estos casos no se observan ninguna alteración de color ni de consistencia. Al probar el embutido se percibe un sabor y un olor anómalos. Estos fallos se presenta frecuentemente cuando se utiliza carne comprada, ya que esta carne puede llevar bastante tiempo en conservación y además estar contaminada con determinado tipo de bacterias proteolíticas, cuya presencia en carnes comerciales no es nada extraña. No se debe utilizar, por tanto, más que carne con olor muy fresco

que no esté pegajosa. En estos casos existe la posibilidad de corrección: alargando el tiempo de postmaduración desaparecen a menudo el olor y el sabor anómalos. En todo caso es conveniente controlar los embutidos de forma continua.

2.4.9. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS

- **pH y acidez**

La producción de ácido láctico está acompañada por un descenso del pH. Esto se produce por la fermentación de los carbohidratos, la cual comienza pronto después de la elaboración de la masa del embutido. El ácido láctico es predominante pero también están presentes en los embutidos fermentados el ácido acético y cantidades trazas de ácido pirúvico. El descenso del pH es también un factor importante para la reducción de la capacidad de retención de agua de las proteínas y así asegura que el secado se realice correctamente (Varnam *et al.*, 1998).

Durante el período de estufaje o fermentación se debe alcanzar un pH de 5,3 a 5,5 en un tiempo determinado. El pH está determinado principalmente por la cantidad de ácido láctico producido y de la capacidad tampón de las proteínas cárnicas (Mossel, 2003).

Se establece un valor de pH máximo de 5.6, como requisito bromatológico final para el salami madurado (NTE INEN 1343, 1996).

- **Actividad de agua (a_w)**

Este parámetro generalmente se utiliza como medida de la cantidad de agua disponible en un alimento para el crecimiento microbiano. Las bacterias Gram negativas generalmente son más sensibles que las Gram positivas a la a_w

reducida. Muchas bacterias son incapaces de multiplicarse a valores de a_w por debajo de 0,90, la mayoría de las levaduras no crecen en una a_w de valor menor de 0,87 y la mayor parte de los mohos no crecen cuando este valor es menor de 0,80 (Mossel, 2003).

En la mayoría de productos cárnicos, la a_w está determinada por la adición o sustracción de agua, por los solutos añadidos (especialmente NaCl), y a través de un descenso del contenido de agua, por la adición de grasa. La a_w de los embutidos recientemente preparada disminuye, dependiendo de la intensidad de la concentración de solutos y del contenido de grasa. Esto favorece el desarrollo de microorganismos starters en las etapas iniciales de la fermentación, pero es insuficiente para inhibir otros microorganismos. La reducción de la a_w durante el secado en gran parte es función de la pérdida de agua y del consiguiente aumento en la concentración de solutos. Los valores de la a_w en embutidos secos madurados van desde 0,82 a 0,86 (Varnam *et al.*, 1998).

▪ Pérdida de peso

Uno de los factores importantes para establecer el período de maduración del salami es el porcentaje de pérdida de peso. Durante la desecación, estos embutidos pierden el 30 – 40% de su peso inicial (Price, 1994).

La pérdida de peso del embutido se debe a la diferencia de humedad. Es importante que exista siempre una diferencia de humedad (gradiente) entre el interior del embutido y el aire circundante. El valor de pH ejerce influencia sobre la cesión de agua por parte de la carne. Si el pH se encuentra en la proximidad del punto isoeléctrico, el músculo cede la máxima cantidad de humedad el embutido se seca entonces de forma óptima, ganando consistencia y capacidad de conservación (Frey, 1995).

2.4.10. MICROBIOLOGÍA DEL PRODUCTO CÁRNICO MADURADO

La carne es un medio ideal para el desarrollo de muchos microorganismos porque tiene una gran humedad, compuestos ricos en nitrógeno (amino ácidos, péptidos, proteínas) y un abundante suministro de con minerales y factores de crecimiento. Además, tiene algunos carbohidratos fermentables, usualmente glucógeno, y un pH favorable para muchos microorganismos. Por lo tanto, la carne y productos cárnicos son extremadamente perecederos a menos que se modifiquen o se almacenen en un ambiente diseñado para retardar la actividad microbiana y su reproducción (Pegg *et al.*, 2000).

▪ Identificación del crecimiento y desarrollo de los microorganismos starters

Como en otros alimentos fermentados las bacterias lácticas juegan un papel clave (Varnam *et al.*, 1998). Se influye sobre el equilibrio bacteriano al añadir una cierta cantidad de bacterias productoras de ácido láctico, provocando de esta manera el predominio ya desde el inicio de este tipo de bacterias (Schiffner, 1978).

El método para la identificación y recuento de cultivos starters de características ácido lácticos es el empleo de Agar Rogosa (Agar M.R.S.). El Agar M.R.S. fue desarrollado por Man, Rogosa y Sharpe para proveer un medio que pudiera evidenciar un buen crecimiento de lactobacilos y otras bacterias ácido lácticas (Bectonet *et al.*, 2003).

▪ Calidad microbiológica

Con la excepción de los mohos, algunos de los cuales pueden ser micotóxicos, los embutidos fermentados no sustentan el crecimiento de

microorganismos potencialmente patógenos. Los embutidos fermentados generalmente se considera que son productos de bajo riesgo, aunque hay dos áreas problemáticas: crecimiento de microorganismos productores de toxinas en la carne, especialmente *Staphylococcus aureus*, antes de que la fermentación tenga lugar, y supervivencia de bacterias patógenas tales como la *Salmonella* (Varnam *et al.*, 1998).

- *Staphylococcus aureus*.- La producción de enterotoxina por *S. aureus* ha sido un problema importante en la producción de embutidos fermentados. *Staphylococcus aureus* es un contaminante común de la carne cruda (Varnam *et al.*, 1998). Como requisito microbiológico para productos cárnicos curados madurados se establece que el *Staphylococcus aureus* puede estar presente en un rango de 1×10^2 a 1×10^3 ufc/g (NTE INEN 1338, 2010).
- *Clostridium perfringens*.- Es un bacilo esporulado, anaeróbico, pero estrictas condiciones anaeróbicas no son requeridas para su crecimiento. Las cepas de esta especie se dividen en cinco tipos: A, B, C, D y E, basado en su habilidad de producir las toxinas alfa, beta, epsilon e iota (Pineda, 2004). El *C. perfringens* es agente etiológico de muchas enfermedades y es la tercera causa de toxiinfección alimentaria bacteriana después de *Samonella* spp. y *Saphylococcus aureus* (Aycachi, 2008). La presencia de *Clostridium perfringens* como requisito microbiológico para productos cárnicos curados madurados se establece en un rango de 1×10^3 a 1×10^4 ufc/g (NTE INEN 1338, 2010).
- *Salmonella*.- Son bacterias que pertenecen a la familia Enterobacteriaceae, formado por bacilos gran negativos, anaerobios facultativos, con flagelos peritricos y que no desarrollan cápsula, ni esporas. Es la segunda causa más común de enfermedades transmitidas por alimentos. La actividad de agua y pH afectan el crecimiento de *Salmonella*, siendo el límite inferior de 0.94 y 3.8, respectivamente (Instituto de Salud Publica Chile, 2007). En productos

cárnicos curados madurados mediante pruebas de identificación microbiológica debe existir ausencia de unidades formadoras de colonias (ufc) por 25 gramos de muestra, tanto de *Salmonella* (NTE INEN 1338, 2010).

- *Escherichia coli*.- Es una bacteria que se encuentra de forma natural en el intestino de los humanos formando parte de la microbiota intestinal. Existe sin embargo grupos de *E. coli* cuyas toxinas afectan a los seres humanos y causan severas infecciones (Troxler, 2010). *Escherichia coli* presenta un serio riesgo para la salud humana particularmente en alimentos que son consumidos sin cocinar o incorrectamente cocinados. Se ha identificado grupos de *E. coli* que son ácido tolerantes son capaces de sobrevivir en la elaboración de embutidos madurados, en especial *E. coli* O157:H7. (Muthukumarasamy *et al.*, 2007). En salami madurado el valor máximo de *E. coli* presente debe de ser de 1×10^2 ufc/g (NTE INEN 1343, 1996).

- **Mohos de superficie**

Durante el secado, los hongos colonizan frecuentemente la superficie del embutido asentándose en la tripa. Se considera meramente incomodidad que afecta solo el aspecto externo del embutido, y se elimina por cepillado o lavado antes de su venta (Frey, 1995). Generalmente, para el lavado de embutidos madurados que presentan mohos se utiliza ácido acético, láctico, o bien sumergir en solución de ácido ascórbico a sus sales (Price, 1994).

Esta microbiota deseable produce un efecto antioxidante, impide la formación de encostrado y favorece el desarrollo de aromas y sabores característicos. Muchos productores consideran tal cubierta como un indicador de buena calidad y terminación del proceso de madurado. Se han identificado 45 cepas pertenecientes a los géneros *Penicillium*, *Aspergillus* y *Eurotium* (Pose *et al.*, 2004).

La presencia de hongos se debe, principalmente, a la humedad relativa del aire demasiado alta. Estos defectos se pueden evitar controlando la humedad relativa del aire. Hay que realizar controles continuos para vigilar que los mohos no se extiendan por toda la superficie del embutido. El enmohecimiento no es únicamente un defecto estético no es solamente un defecto estético, sino también un peligro para la salud, ya que algunas de especies de mohos producen micotoxinas (Schiffner, 1996).

▪ **Crecimiento de los microorganismos de los cultivos starters**

La palabra crecimiento se define como un incremento en el número de células. El crecimiento es un componente esencial de la función microbiana, ya que una célula individual tiene un período de vida determinado en la naturaleza y la especie se mantiene solamente como resultado del crecimiento continuo de la población celular (Brock, 1999).

Se denomina ciclo celular al proceso de desarrollo de una bacteria considerada de forma aislada. A lo largo del ciclo celular, tiene lugar la replicación del material de la bacteria, la síntesis de sus componentes celulares, el crecimiento para alcanzar un tamaño doble del inicial y su división por bipartición de la bacteria para dar lugar a dos células hijas. La duración del ciclo celular coincide con el tiempo de generación y depende, en general, de los mismos factores de los que depende este (Guzmán, 2005).

El tiempo requerido en bacterias para completar un ciclo de crecimiento es muy variable y depende de muchos factores tanto nutricionales como genéticos. Bajo las mejores condiciones una bacteria puede completar el ciclo en 1 - 3 horas; otras pocas bacterias pueden incluso crecer más rápido que esto, pero muchas lo hacen más lentamente (Brock, 1999).

- **Crecimiento**

En el crecimiento de las poblaciones de los organismos celulares se ha hallado que se pueden dividir en una serie de fases caracterizadas por diferentes coeficientes de crecimiento. En ciertas condiciones, no obstante, una o varias de las fases pueden ser tan breves que pueden pasar de inadvertidas (Hawker *et al.*, 1964).

- **Fase de latencia.-** La división celular no comienza inmediatamente después de la transferencia de un inóculo a un medio fresco de cultivo. La actividad metabólica comienza con el retraso inicial y se incrementa a continuación progresivamente.
- **Fase exponencial.-** Durante esta fase el logaritmo del número de células crece linealmente con respecto al tiempo, por lo que la fase suele designarse con el nombre de fase logarítmica.
- **Fase estacionaria.-** Durante esta fase hay algún crecimiento y división celular, pero el número de células viables producido se equilibra con el número de las células que mueren, de manera que se mantiene una población constante de las células viables aunque continúa elevándose a un ritmo mucho más reducido el recuento total.
- **Fase de muerte.-** El número de células que mueren por unidad de tiempo es mayor que el número de células viables producidas.

- **Crecimiento exponencial**

Una de las características del crecimiento exponencial es que la velocidad de incremento en el número de células es lenta inicialmente, para después

incrementar constantemente en una auténtica explosión del número de células (Brock, 1999).

Durante la fase exponencial el coeficiente de crecimiento permanece constante, pero en estas circunstancias el incremento del crecimiento por unidad de tiempo se altera, ya que es proporcional a la magnitud de la población viable, que está en constante crecimiento.

En esta fase, una célula se divide a intervalos regulares, de modo que, supuesto que ninguna célula muera, el número total de células descendientes de una célula crecerá en proporción geométrica como sigue:

1 2 4 8 16 32 64

Esto se puede escribir de otra forma, en la que los exponentes indican el número de generaciones:

2^0 2^1 2^2 2^3 2^4 2^5 2^6 ... 2^n

De modo que si la población original contiene N_0 células, después de n generaciones la población será N células, siendo

$$N = N_0 \cdot 2^n \qquad \text{Ec. 2.4.3.2.1}$$

Si el tiempo medio que una célula tarda en dividirse (es decir, tiempo de generación) es g , cuando transcurra el tiempo t , n será igual a t/g y, por consiguiente, la población (N_t) será

$$N_t = N_0 \cdot 2^{t/g} \qquad \text{Ec. 2.4.3.2.2}$$

Esta expresión se puede simplificar tomando logaritmos de base 2 en ambos miembros de la ecuación, con lo que:

$$\log_2 N_t = \log_2 N_0 + \frac{1}{g} t \quad \text{Ec. 2.4.3.2.3}$$

La utilización de \log_2 tiene especial validez, ya que una división de la escala representa el doble de la población (es decir, una generación). Se puede obtener valores de \log_2 , dividiendo los valores de logaritmos en base diez (\log_{10}) para el valor del $\log_{10}(2)$.

De modo que la representación gráfica de $\log_2 N_t$ con respecto al tiempo (t) será una línea recta cuya pendiente (r) es igual a $1/g$; r es el coeficiente de crecimiento exponencial y viene expresado por el número de generaciones por unidad de tiempo (Hawker *et al.*, 1964).

2.5. HIPÓTESIS

Ho: La aplicación de microorganismos probióticos como cultivos starters en la elaboración de un producto cárnico madurado tipo salami no genera características organolépticas potenciadas en el producto final.

Hi: La aplicación de microorganismos probióticos como cultivos starters en la elaboración de un producto cárnico madurado tipo salami genera características organolépticas potenciadas en el producto final.

2.6. SEÑALAMIENTO DE VARIABLES

- **Variable Independiente:** Aplicación de microorganismos probióticos.
- **Variable Dependiente:** Producto cárnico madurado tipo salami.

CAPITULO III

METODOLOGÍA

3.1. ENFOQUE

El enfoque de la investigación es cuali-cuantitativo.

Fue de enfoque cualitativo debido a que la investigación hizo énfasis en el proceso de elaboración del salami con la incorporación de microorganismos probióticos. También fue de enfoque cuantitativo porque en los procesos de fermentación y maduración del embutido se controlaran valores de temperatura y tiempo y se registrarán valores de pH, acidez, actividad de agua (a_w). Además de que las propiedades organolépticas del producto elaborado serán valoradas por un grupo de catadores mediante pruebas de análisis sensorial y se realizarán análisis microbiológicos para establecer la cantidad de microorganismos probióticos presentes en el producto final.

3.2. MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN

Esta investigación tuvo un carácter de campo, documental –bibliográfica y experimental.

La investigación de campo se realizó en los laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, se elaboró el producto siguiendo un procedimiento adecuado (Salazar, 2008) y se efectuó el análisis sensorial del mismo (Cochram, 1973). Y de igual forma, la investigación documental – bibliográfica estuvo dada por los antecedentes bibliográficos que hay acerca del tema en estudio, ya que se trató de profundizar y ampliar el tema en base a criterios de diferentes autores.

Y experimental, donde se evaluaron las diferentes variables, observando con claridad la relación entre las variables independientes con las dependientes, con el propósito de precisar la relación causa – efecto. (Herrera *et al.*, 2004)

3.3. NIVEL O TIPO DE LA INVESTIGACIÓN

Los niveles de esta investigación fueron: descriptivo y explicativo. Se escogieron estos niveles debido a que la utilización de microorganismos probióticos en la elaboración de embutidos madurados implica ciertos elementos como tiempo y temperatura de maduración, modificación de las características organolépticas, etc., las cuales se deben comparar, clasificar y caracterizar; además, demostrarlas experimentalmente y descubrir las causas que los originan.

3.4. POBLACIÓN O MUESTRA

En la investigación se controlaron diferentes factores indispensables en este estudio. Estos factores son el tipo de microorganismo que se empleará como cultivo starter para la elaboración del salami y la concentración de los mismos por kilogramo utilizado de la masa. Se aplicó un diseño experimental A x B que ayudó a identificar cuáles de estos factores influyen directamente en el proceso de elaboración; y, un diseño experimental de bloques incompletos para establecer la aceptabilidad del embutido madurado. Se obtuvieron los siguientes factores y niveles:

▪ FACTOR A: Tipo de microorganismo

Se mantuvo en estudio el uso, aplicación y comparación de microorganismos específicos con probióticos para la elaboración de salami; estableciéndose los siguientes microorganismos como cultivos starters:

Microorganismo específico

La ficha técnica que muestra información de este microorganismo se encuentra en el Anexo E10.

- **BactofermT-F-45.-** Iniciador para la elaboración tradicional de embutidos, Bactoferm T-F-45 es un cultivo adicificador que contiene *Lactobacillus plantarum*, el perfil de la fermentación debe tener una fase de latencia corta con el fin de asegurar el crecimiento del cultivo iniciador añadido a expensas de las bacterias no deseadas. El valor de pH desciende en el orden 5.0 a 4.8, esto asegura a los *lactobacillus* mantener su actividad por más tiempo; sobre todo su nitrato reductasa y formación de sabor.
 - Temperatura de fermentación: 35 - 45° C (95 - 113° F)
 - Presentación, almacenamiento y caducidad: BactofermT-F-45 se suministra en bolsas de aluminio termoselladas conteniendo 44 g. Si el cultivo es almacenado a -18° C su tiempo de vida útil al menos 24 meses.
 - Aspecto físico: Polvo liofilizado de color blanquecino

Microorganismos probióticos

Estos microorganismos fueron adquiridos como cultivos liofilizados y las fichas técnicas de estos se aprecian en el Anexo E11 y E12.

- **Lyofast LR B.-** Consiste en *Lactobacillus rhamnosus* productores de bacteriocinas. Lyofast LR B es un cultivo de protección inhibiendo bacterias indeseables, incluidas *Listeria* spp., levaduras y mohos. Lyofast LR B puede ser aplicado en productos lácteos fermentados y

quesos como un cultivo no iniciador de bacterias ácido lácticas. El cultivo desarrolla una leve acidificación y aroma debido a la lenta fermentación del citrato. Además, Lyofast LR B puede también ser aplicado en productos probióticos genéricos, en propósitos farmacéuticos, y en balanceados.

- Temperatura de fermentación: 25 - 45° C
 - Presentación, almacenamiento y caducidad: Lyofast LR B se suministra en bolsas de aluminio termoselladas conteniendo 5 dosis, aproximadamente 10 g. Su vida útil es de 18 meses a -18° C o menos.
 - Aspecto físico: Polvo liofilizado de color amarillento
- **Lyofast BLC 1.-** Consiste en *Bifidobacterium animalis* ssp. *Lactis* y puede ser aplicado en productos probióticos genéricos tales como productos lácteos fermentados, como un cultivo no iniciador en queso, y en balanceados. Además, Lyofast BLC 1 puede también ser usado en propósitos farmacéuticos.
- Temperatura de fermentación: 37 - 41° C
 - Presentación, almacenamiento y caducidad: Lyofast BLC 1 se suministra en bolsas de aluminio termoselladas conteniendo 10 dosis, aproximadamente 10 g.
 - Aspecto físico: Polvo liofilizado de color anaranjado

Obteniéndose así los siguientes niveles para el Factor A:

$a_0 = Lactobacillus plantarum$

$a_1 = Lactobacillus rhamnosus$

$a_2 = Bifidobacterium animalis$ spp. *lactis*

▪ **FACTOR B: Concentración del cultivo starter**

Dado que los cultivos probióticos que se utilizaron son cultivos starters para productos lácteos, las fichas técnicas de los proveedores establecen una cantidad adecuada para su uso en dichos productos. Por lo que se establecieron tres diferentes concentraciones, por kilogramos de masa elaborada, para usarlos en la elaboración de salami, y según éstas establecer el desarrollo de las bacterias probióticas y los efectos que se producen durante el proceso de elaboración.

Se obtuvieron así tres niveles para el Factor B:

$$b_0 = 0.01 \text{ g/Kg}$$

$$b_1 = 0.05 \text{ g/Kg}$$

$$b_2 = 0.15 \text{ g/Kg}$$

Las combinaciones de estos factores son:

Tabla 3. Combinación entre variables y niveles

Tratamiento	Factor A: Tipo de microorganismo	Factor B: Concentración del cultivo starter
a_0b_0	<i>Lactobacillus plantarum</i>	0.01 g/Kg
a_0b_1		0.05 g/Kg
a_0b_2		0.15 g/Kg
a_1b_0	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	0.01 g/Kg
a_1b_1		0.05 g/Kg
a_1b_2		0.15 g/Kg
a_2b_0	<i>Bifidobacterium animalis</i> spp. <i>lactis</i>	0.01 g/Kg
a_2b_1		0.05 g/Kg
a_2b_2		0.15 g/Kg

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

En muestras de salami de las combinaciones establecidas de factores se realizó análisis para la obtención de diferentes respuestas experimentales como: porcentaje de pérdida de peso, ph, acidez (% ácido láctico), actividad de agua (a_w), identificación de microorganismos de los starters y patógenos

mediante pruebas de análisis microbiológicas y para establecer la aceptabilidad del producto se realizaron pruebas de análisis sensorial.

- **Diseño A x B**

Modelo Matemático

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + R_k + E_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ij} : Observación en el i-ésimo bloque, j-ésimo tratamiento

μ : Efecto global

A_i : Efecto del i-ésimo nivel del factor A; $i = 1, \dots, a$

B_j : Efecto del j-ésimo nivel del factor B; $j = 1, \dots, b$

AB_{ij} : Efecto de la interacción de los tratamientos A y B

R_k : Efecto de las réplicas; $k = 1, \dots, r$

E_{ij} : Residuo o error experimental

Para la elaboración de salami se utilizó la siguiente formulación:

Tabla 4. Formulación para la elaboración de salami (100Kg)

Ingredientes	Cantidad (Kg)
Carne de res	40
Carne de cerdo	40
Grasa (Tocino)	20
Nitrato	0.015
Ácido ascórbico	0.01
Sorbato de potasio	0.01
Sal común	3
Azúcar	2
Pimienta blanca	0.2
Comino	0.1
Ajo	0.5
Inoculo	-

Fuente: Diego Salazar, Apuntes de Tecnología de Cárnicos (2008)

▪ **BLOQUES O CATADORES**

Para la determinación la aceptabilidad del producto final se realizaron pruebas de análisis sensorial con la participación de 12 catadores (Tabla 5.) no entrenados siguiendo la hoja de catación específica (Anexo A1) y se aplicó un diseño de bloques incompletos.

▪ **Diseño de Bloques Incompletos**

Modelo Matemático

$$Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + E_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} : Observación en el i-ésimo bloque, j-ésimo tratamiento

μ : Promedio global para todas las observaciones

T_i : Efecto del j-ésimo bloque

B_j : Efecto del i-ésimo bloque

E_{ij} : Error aleatorio

Tabla 5. Distribución de las muestras para los catadores según el diseño de bloques incompletos para nueve tratamientos.

Parámetros: t = 9; b = 12; k = 3; r = 2; $\lambda = 1$

Catador	Tratamientos								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	x	x	x						
2				x	x	x			
3							x	x	x
4	x			x			x		
5		x			x			x	
6			x			x			x
7	x				x				x
8		x				x	x		
9			x	x				x	
10	x					x		x	
11		x		x					x
12			x		x		x		

Fuente: Cochram William, Diseños Experimentales (1973)

3.5. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Cuadro 1. Variable Independiente: Aplicación de microorganismos probióticos

Conceptualización	Categorías	Indicadores	Ítems	Técnicas e Instrumentos
Utilización de cepas de microorganismos que puedan desarrollarse en un medio cárnico, como el salami, para optimizar el proceso de elaboración y dar un valor agregado al producto	Cepas de microorganismos	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Específicos ▪ Probióticos 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ ¿Se puede utilizar microorganismos específicos y probióticos en la elaboración de salami? 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Libros ▪ Artículos técnicos
	Desarrollo en un medio cárnico	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Temperatura ▪ pH ▪ Actividad de agua (a_w) ▪ Nutrientes 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ ¿Factores como temperatura, pH, a_w y nutrientes son adecuados para el desarrollo de los microorganismos empleados en la carne? 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Artículos técnicos ▪ Fichas técnicas ▪ Libros
	Proceso de elaboración	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Tiempo ▪ Recursos 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ ¿Se optimizaran el tiempo y los recursos empleados en la elaboración de salami? 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Libros ▪ Artículos técnicos
	Valor agregado	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Presencia de microorganismos probióticos ▪ Alimento funcional 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ ¿Mediante la validación de la existencia de microorganismos probióticos en el salami se dispondrá de un alimento funcional? 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Pruebas microbiológicas ▪ Revistas científicas

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Cuadro 2. Variable Dependiente: Producto cárnico madurado tipo salami

Conceptualización	Dimensiones	Indicadores	Ítems	Técnicas e Instrumentos
Mezcla de carne picada, grasa, sal, azúcar, sustancias curantes, especias, cultivos starter y otros aditivos, embutida en tripas artificiales o naturales y sometida a un proceso de fermentación, maduración y secado	Mezcla de carne picada, grasa, sal, azúcar, sustancias curantes, especias, cultivos starter y otros aditivos	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Calidad de la materia prima y aditivos ▪ Formulación ▪ Instrumentos y equipos 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ ¿Se puede cambiar el tipo de materia prima y aditivos, formulación y equipos para innovar la producción de un embutido madurado? 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Libros ▪ Artículos técnicos
	Embutido en tripas artificiales o naturales	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Tipos de tripa ▪ Características físicas de la tripa (permeabilidad) ▪ Longitud del embutido del salami 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ ¿Qué tipo de tripas es la más adecuadas para el embutido de un producto cárnico madurado? 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Artículos técnicos ▪ Fichas técnicas ▪ Libros
	Proceso de fermentación, maduración y secado	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Temperatura ▪ % humedad relativa ▪ Tiempo ▪ % pérdida de peso ▪ pH ▪ Actividad de agua ▪ Acidez ▪ Microbiología 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ ¿Mediante el control de los parámetros establecidos se puede llevar con éxito la elaboración de un producto cárnico madurado tipo salami? 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Análisis de parámetros de calidad ▪ Revistas científicas ▪ Libros

3.6. RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN

Los datos de la investigación se recogieron en tablas específicas para cada una de las respuestas experimentales, tales como pH, acidez, actividad de agua (a_w) y el desarrollo de microorganismos starter (ufc/g) que se desarrollan. Incluyendo los pesos registrados durante el período de maduración.

Las valoraciones de las propiedades organolépticas del producto por parte de los catadores no entrenados se recolectaron en hojas de catación elaboradas específicamente para evaluar características del producto como: color, olor, sabor, textura y aceptabilidad (Anexo A1).

3.7. PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

La información recolectada de las respuestas experimentales se procesó utilizando el programa STATGRAPHICS PLUS 7, software estadístico que facilita el procesamiento de los datos y una respuesta confiable. Las valoraciones de las muestras de salami por parte de los catadores se las analizaron empleando el software MICROSOFT OFFICE EXCEL.

CAPITULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los datos experimentales registrados y los resultados, obtenidos a partir de estos, se presentan en tablas ubicadas en los Anexos A y B.

4.1.1. ELABORACIÓN Y PERÍODO DE MADURACIÓN DE SALAMI

▪ Inoculación

Los cultivos starters fueron adquiridos en forma liofilizada, por lo que es importante rehidratarlos antes de su uso. Para realizar esta paso se empleó agua destilada esterilizada para evitar una contaminación. La cantidad del cultivo liofilizado establecida para cada tratamiento fue disuelta en la misma cantidad de agua para todos los tratamientos, se utilizó 250 ml de agua destilada esterilizada. Se utilizó el mismo volumen de agua para mantener la concentración de los microorganismos de los cultivos starters establecida en el diseño experimental.

▪ Embutido

Después de elaborada la masa del salami, se la relleno en tripa de fibrosa. La fibrosa es una tripa sintética que está constituida por papel de fibras largas y celulosa, lo que la hace resistente. Además, una de las características más importantes es su permeabilidad a la humedad, lo que en esta tripa se adhiera de forma correcta al embutido mientras este iba perdiendo humedad, en la etapa de secado.

- **Estufaje**

Se colocaron las muestras elaboradas del salami en un horno a una temperatura de 38° C óptimo para el desarrollo de los microorganismos de los cultivos starters empleados.

La masa una vez elaborada presentaba una coloración crema (Fotografía D6., Anexo D) que se debió a la mezcla de los ingredientes (carne de res y cerdo, grasa, especias), después de las 24 horas cambió a un rojo brillante (Fotografía D7., Anexo D) característico de los embutidos madurados. Entonces, se evidenció la presencia de nitrosomioglobina, formada a partir del nitrito de sodio empleado como sustancia curante y la mioglobina de la carne.

- **Secado**

Durante la etapa de secado se observó como el embutido cambió su aspecto externo, debido a que perdió humedad principalmente por la diferencia del porcentaje de humedad relativa del medio (70 – 85%) y la humedad del embutido (60% aproximadamente); además, del bajo pH que presentaron las muestras, que produjo que las proteínas liberen el agua propia de la carne y que atraparon durante el proceso de elaboración. Se mantuvo al embutido en la cámara de maduración durante un período de 25 días, hasta que cumplió con características establecidas para que la elaboración de un embutido madurado.

- **Ahumado**

Una vez concluido el período de maduración del salami, se introdujo a este en un horno ahumador con el propósito de que el humo, mediante sustancias químicas propias de este, proporcione protección en la parte externa del embutido; mas no, para proporcionar alguna variación en las

características organolépticas del salami (olor y sabor) ya que el tiempo dado fue de una hora.

- **Almacenamiento**

Después del ahumado, el salami fue llevado a un cuarto de refrigeración, donde la temperatura se mantuvo en un rango de 3 a 7° C, indispensable para mantener la carga de microorganismos de los cultivos starters, principalmente de los microorganismos probióticos. Además, se controló el porcentaje de humedad relativa dentro de este cuarto de refrigeración, valor que fue de 78% necesario para que el salami secado no gane ni pierda humedad.

4.2. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.2.1. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS

- **Pérdida de peso**

Como se muestra en la Tabla B2. (Anexo B) el porcentaje de pérdida de peso de las muestras de salami superan el 30%, estos varían desde valores de 31.79% para el tratamiento a_0b_0 hasta 35.52% para el tratamiento a_2b_1 . Se tuvo presente lo expuesto por Price (1994) que establece un porcentaje de pérdida de peso adecuado durante la maduración de 30 – 40%, es decir los salamis tuvieron una pérdida de peso adecuada. Motivo por el cual se mantuvieron los salamis en la cámara de maduración durante 25 días. Tiempo en el cual se realizaron los análisis de control necesarios para establecer la calidad del embutido.

Es así que se disminuyó en forma gradual la humedad del aire circundante para evitar que el secado se realice de forma incorrecta. La Tabla A11. (Anexo A) muestra la variación de la temperatura y el porcentaje de humedad del aire circundante al embutido durante los períodos de

estufaje y secado, registrándose una disminución de 97 a 78% de humedad relativa.

En los Gráficos C1., C2. y C3. (Anexo C), de porcentaje de pérdida de peso en relación al tiempo, se visualiza el aumento del porcentaje de pérdida de peso mientras transcurre el tiempo de maduración y secado de las muestras de salami, según el microorganismo empleado y en la concentración en que este se encuentra.

El porcentaje de pérdida de peso se lo determinó según lo establecido en el método descrito en el Anexo E1.

▪ pH

Los valores de pH registrados en las muestras de salami durante los procesos de estufaje, maduración y secado presentaron un descenso pronunciado durante las primeras 24 horas (estufaje), donde se los mantuvo a una temperatura de 38° C, temperatura óptima para el desarrollo de los microorganismos de los cultivos starters, es decir de un valor promedio de pH entre los tratamientos de 6.6 a un valor final de 5.3.

Los valores de pH, como se observan en la Tabla B3. (Anexo B), varían según los microorganismos starters y la concentración en la cual se aplicaron. Obteniéndose valores de pH entre 4.85 para el tratamiento a_2b_2 hasta un valor de 5.08 para los tratamientos a_0b_0 y a_1b_0 . A una concentración mayor de cultivo starter ($b_2 = 0,15$ g/Kg.) se registró una mayor disminución del valor de pH. La NTE INEN 1343 (1996) establece un valor máximo de pH para salami de 5.6, por lo que los valores obtenidos en todos los tratamientos cumplen con lo expuesto en esta norma.

El análisis de varianza que se realizó con los valores de pH se registra en la Tabla B14. (Anexo B) donde se identificó que el tipo de microorganismo (Factor A) y la concentración del cultivo starter (Factor B)

influyen significativamente sobre la respuesta experimental; mientras que el efecto combinado de los mismos no influye significativamente sobre el valor experimental de pH. Este análisis se lo realizó a un nivel de confianza del 95%.

Realizada la prueba de Tukey al 5% de significancia (Tabla B15.; Anexo B) se estableció que para el Factor A, el nivel a_2 (*Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*) presentó mayor diferencia frente a los otros niveles. En cambio para el Factor B (Tabla B16.; Anexo B), los tres niveles presentaron diferencias, se establece que a cualquier concentración empleada de cultivo starter se obtendrá diferencia entre los valores de pH.

En los Gráficos C5., C6. y C7. (Anexo C) se observa la variación de pH durante el tiempo de maduración y secado de las muestras de salami, según el microorganismo starter y la concentración empleada de estos.

Para la determinación de pH en las muestras de salami se empleó el método establecido en la NTE INEN 783:1985.

▪ **Acidez titulable (% ácido láctico)**

Una de las características principales de los microorganismos starters empleados es la capacidad de producir ácidos orgánicos a partir de carbohidratos (azúcares) añadidos o presentes en la masa del embutido. Los microorganismos empleados son bacterias ácido lácticas (BAL), es decir que uno de los productos principales de su metabolismo es el ácido láctico. Se registró una mayor producción de ácido láctico durante la etapa de estufaje (38° C), debido principalmente a que las BAL encontraron una temperatura óptima para su desarrollo, conjuntamente con los nutrientes (azúcar) añadidos.

Mediante el método utilizado se determinó la acidez titulable en las muestras de salami expresado en porcentaje de ácido láctico (Tabla B5.;

Anexo B) obteniendo como un valor máximo de porcentaje de ácido láctico de 2.81 correspondiente al tratamiento a_2b_2 y la más baja producción de ácido láctico la presentó el tratamiento a_1b_0 , cuyo valor fue de 2.48%. Estos valores indican un adecuado porcentaje de ácido láctico, indispensable para un apropiado descenso del pH.

El análisis de varianza (Tabla B17.; Anexo B) muestra diferencia significativa, a un nivel de confianza del 95%, para el tipo de microorganismo (Factor A) y la concentración del cultivo starter (Factor B), excepto para el efecto combinado de los mismos, es decir que no influye significativamente sobre los valores obtenidos de acidez.

Se aplicó la prueba de diferenciación de Tukey al 5% de significancia, que se muestra en la Tabla B18. y B19. (Anexo B) se estableció que para el Factor A, el nivel a_2 (*Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*) presentó un valor promedio de acidez más alto frente a los otros niveles. En cambio para el Factor B, los tres niveles presentan valores promedio diferentes, es decir que a cualquier concentración que se emplee de cultivo starter se observará diferencia en los valores de acidez.

En los Gráficos C9., C10. y C11. (Anexo C), se evidencia la variación de la acidez de las muestras de salami durante el tiempo de maduración y secado, según el microorganismo empleado y en la concentración en que este se encuentra.

Para la determinación de acidez titulable, expresado en porcentaje de ácido láctico en las muestras de salami se empleó el método descrito en el Anexo E2.

▪ **Actividad de agua (a_w)**

Los valores de a_w registrados de las muestras de salami no muestran una amplia diferencia entre tratamientos, debido a que fueron mantenidos en

el mismo ambiente en la cámara de maduración, por lo que la disminución de este valor en todas las muestras es uniforme; es decir que las muestras tienen un valor inicial de a_w en un rango de 0.994 a 0.997 y al final del proceso de elaboración dichos valores se encontraron en un rango de 0.861 a 0.865.

En la Tabla B6. (Anexo B) se precian los valores de a_w de las muestras de salami, valores comprendidos entre 0.861 para los tratamientos a_2b_0 y a_0b_0 hasta 0,865 para el tratamiento a_0b_2 . Según Varnam *et al.* (1998) el valor adecuado de a_w para embutidos secos madurados está en el rango de 0.82 a 0.86, por lo que los valores obtenidos en los salamis elaborados están próximos a ese rango.

Mediante el análisis de varianza de los valores de a_w (Tabla B20.; Anexo B) se estableció que no hay diferencia significativa para el tipo de microorganismo (Factor A), la concentración del cultivo starter (Factor B) y el efecto combinado de los mismos; es decir que todos los factores no influyen en la obtención de los valores de a_w .

La variación de los valores de a_w se observa en los Gráficos C13., C14. y C15. (Anexo C) durante el tiempo de maduración y secado de las muestras de salami, según el microorganismo empleado y la concentración empleada.

Los valores de a_w determinados en las muestras de salami se los determinaron empleando higrómetros hechos a base de hebras de pelo de caballo, utilizando el método especificado en el Anexo E3.

4.2.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

▪ Cultivos starters

En este estudio se emplearon tres tipos de microorganismos empleados como cultivos starters para la elaboración de salami. Estos tres

microorganismos fueron: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*. El primero de estos es de uso común en la industria cárnica; en cambio, los dos últimos son microorganismos considerados como probióticos, objetos del estudio.

▪ Siembras microbiológicas

Antes del período de estufaje se realizó un conteo inicial, luego a las 12 horas, 24 horas y 48 horas de haber empezado la etapa de estufaje y maduración. Después de culminadas estas etapas se procedió a realizar siembras microbiológicas cada tercer y cuarto día durante la etapa de secado, hasta completar el período de maduración del salami.

Los resultados de los conteos microbiológicos se observan en la Tabla A5. (Anexo A) y los valores de las unidades formadoras de colonias por gramo (ufc/g) en la Tabla B8. (Anexo B). Se identificó que a mayor concentración del cultivo starter empleado, mayor es la cantidad de ufc/g que se obtuvo.

La cantidad de ufc/g finales presentes en los salamis elaborados empleando como cultivo starter *Lactobacillus plantarum* estuvieron en un rango de 1.2×10^9 a 3.0×10^9 ufc/g. En los salamis elaborados empleando *Lactobacillus rhamnosus*, como cultivo starter, las ufc/g estuvieron en un rango de 1.4×10^9 a 3.0×10^9 ufc/g. Y finalmente para los salamis elaborados con *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*, las ufc/g finales estuvieron en un rango de 1.4×10^9 a 3.8×10^9 ufc/g.

Los intervalos determinados de la presencia de microorganismos starters (ufc/g) indican que su desarrollo en un producto cárnico madurado, como lo es el salami, es viable y que su uso como cultivos starters para la elaboración de este tipo de productos en la industria cárnica representaría una innovación, debido a que se añadiría un valor agregado; además, la

producción de ácido láctico es adecuada y por ende se garantizaría un apropiado descenso del valor de pH.

El método empleado para el análisis de la identificación del desarrollo de los microorganismos starters esta descrito en el Anexo E4.

▪ **Calidad microbiológica**

Se tuvo en consideración que la calidad microbiológica en el salami demuestra el grado de higiene y sanitización tanto de los ingredientes empleados (carne, grasa, conservantes, especias e inculo) y equipos utilizados para la elaboración de embutidos. Es por eso que la identificación de microorganismos de control, establecidos en normas, es primordial para mantener un adecuado proceso de elaboración y por ende evitar enfermedades provocadas por el consumo de salamis elaborados de forma incorrecta. Los microorganismos establecidos de control se encuentran presentes en el intestino de animales y humanos, por lo que la identificación de la presencia de estos demuestra contaminación externa y un inadecuado control del proceso de elaboración.

- *Staphylococcus aureus*.- Para esta identificación se empleó el método de recuento en placa utilizando el medio Manitol Sal, medio de cultivo específico para la identificación y conteo de *Staphylococcus*.

En Tabla B29. (Anexo B) se observan los resultados de los análisis microbiológicos aplicados a todos los tratamientos empleados para la elaboración de salami. Los resultados de la identificación de *Staphylococcus* son negativos para todos ellos, es decir que en el medio de cultivo empleado no se desarrolló ningún microorganismo; por lo que se confirma la ausencia de estos microorganismos, y principalmente de *Staphylococcus aureus*. Se estableció entonces como valor máximo de desarrollo < 10 ufc/g, por lo que se cumplen los

requisitos microbiológicos para productos cárnicos curados madurados presentados en la NTE INEN 1338 (2010).

Para la identificación y recuento de este tipo de microorganismo se empleó el método especificado en el Anexo E5.

- *Clostridium perfringens*.- Se empleó como medio para la identificación Agar T.S.C. (Triptosa Sulfito Cicloserina), medio específico para la identificación y conteo de *C. perfringens*.

Los resultados de las pruebas microbiológicas realizadas en todos los tratamientos empleados para la elaboración de salami se aprecian en la Tabla B30. (Anexo B). En el medio de cultivo no se observa la presencia de ninguna colonia; por lo que, se descarta la presencia de *C. perfringens* en las muestras de salami. Entonces, se estableció un valor de < 10 ufc/g para el desarrollo de este microorganismo. Cumpliendo con lo establecido en los requisitos microbiológicos para productos cárnicos curados madurados presentados en la NTE INEN 1338 (2010).

Se establece que la presencia de *C. perfringens* en embutidos cárnicos provoca un abombamiento en el cuerpo del embutido, debido a la producción de gases del metabolismo de este microorganismo. En este caso no se evidenció la presencia de dicho abombamiento.

El método empleado para la identificación y conteo de *C. perfringens* se encuentra descrito en Anexo E6.

- *Salmonella*.- Como medio de identificación se empleó la técnica de recuento en placa; utilizando como medio de cultivo Agar SS, para aislamiento de *Salmonella* y *Shigella*.

Los resultados del análisis microbiológico se muestran en la Tabla B31. (Anexo B). Este análisis se realizó en muestras de todos los tratamientos empleados para la elaboración de salami. El aislamiento en el Agar SS no mostró desarrollo de ninguna colonia en las distintas placas y diluciones empleadas. De esta forma se estableció la ausencia de *Salmonella*, además de *Shigella*; ubicando como valor máximo de desarrollo < 10 ufc/g. Con las condiciones descritas se cumple con los requisitos microbiológicos para productos cárnicos curados madurados establecidos la NTE INEN 1338 (2010).

El método empleado para la identificación de *Salmonella* se presenta en el Anexo E7.

- Coliformes totales.- La presencia de esta bacteria es identificación de un inadecuado control, tanto en materias primas, equipos y del personal, ya que es común encontrarla en el grupo de coliformes fecales. Como es una bacteria de carácter fecal del grupo coliforme, su identificación se lo realizó empleando Caldo Mc Conkey, caldo utilizando para la identificación de bacilos gram negativos en alimentos. Se establecen como bacilos gram negativos al grupo coliformes totales (presentes en el colon de animales y humanos), entre ellas se encuentra la *Escherichia coli*.

La presencia de coliformes totales provoca el viraje de color del medio, de un color inicial violeta a un amarillo verdoso, como coloración final. En la Tabla B32. (Anexo B), donde se muestran los resultados de este análisis se identificó que después del período de incubación (48 horas a 37° C) no se identificó presencia de este tipo de bacterias, debido a que el color del caldo permaneció invariable, por lo que se descarta la presencia de bacterias coliformes y fecales.

La NTE INEN 1343 (1996) establece la presencia de *Escherichia coli* en un intervalo de 10^2 a 10^3 ufc/g, pero al no identificar presencia de

bacterias coliformes y por ende bacterias coliformes del grupo fecal, se establece la ausencia en las muestras de todos los tratamientos empleados para la elaboración de salami. Cumpliendo de esta forma con lo presentado en la norma expuesta.

En el Anexo E8. se presenta el método empleado para la identificación de coliformes totales, bacterias coliformes del grupo fecal y la identificación de *Escherichia coli*.

▪ **Mohos de superficie**

Durante el período de secado, se observó en los salamis la presencia de mohos en la superficie del embutido. En algunos casos el desarrollo de mohos en la superficie de los productos cárnicos madurados es deseable, porque favorecen a la formación de olores y sabores.

Las colonias identificadas en la superficie del embutido fueron de color blanco y verdes, las cuales mediante un análisis en el microscopio señalaron la presencia de *Aspergillus sp.* y *Penicillium sp.*

La presencia de estos mohos en embutidos madurados es común ya que son originarios de la microbiota natural del ambiente, debido a que en este caso no han sido añadidos para favorecer en la maduración. Su eliminación se realizó con una limpieza sobre la superficie del embutido y con la inmersión en una solución de ácido ascórbico en una concentración de 200 ppm. Esto mejoraría la presentación de venta del producto.

Además, con la adición de las sustancias químicas (principal compuestos fenólicos y ácidos orgánicos) en la superficie de la tripa, que proporciona el humo del proceso de ahumado, se garantizó la ausencia de mohos en la superficie del embutido durante el almacenamiento del producto.

4.2.3. PRUEBAS DE ANÁLISIS SENSORIAL

El análisis sensorial se lo realizó empleando un diseño de bloques incompletos, donde catadores no entrenados probaron muestras de tres tratamientos cada uno, repartidos según la Tabla 5. y se obtuvieron cuatro respuestas por cada tratamiento. El panel de catadores constó de 12 personas, de las cuales 5 fueron hombres y 7 mujeres.

Las cataciones fueron realizadas en estaciones de cata correctamente ubicadas para obtener confiabilidad en los datos.

En los Gráficos C24., C25., C26., C27. y C28. (Anexo C) se aprecian las comparaciones entre las valoraciones dadas a los salamis por parte de los catadores, según el atributo analizado.

▪ **Color**

Para el análisis del atributo color de las muestras de salami se utilizó una escala edónica que evaluó la intensidad del color rojo característico en embutidos madurados. La escala estuvo planteada desde 'Nada Intenso' con una valoración de 1 a 'Muy Intenso' con un valoración de 5, como se muestra en el Anexo A1.

De los datos registrados de la catación se obtuvieron apreciaciones promedio (Tabla B9., Anexo B) que van desde el valor de 3 (Característico), en representación del 60% de los catadores, para el tratamiento a_2b_1 hasta un valor de 4 (Intenso) para el tratamiento a_1b_1 , que representa el 80%. Estos porcentajes indican que la apreciación de los catadores hacia el color de las muestras de salami es de un color rojo madurado (característico a intenso) distintivo en este tipo de productos.

El análisis de varianza (Tabla B24., Anexo B), a un nivel de confianza del 95%, señala que no hubo diferencia significativa entre los tratamientos percibida por los catadores.

▪ **Olor**

El salami adquiere su olor característico durante el proceso de maduración donde por reacciones bioquímicas se liberan compuestos aromáticos. En la escala edónica propuesta para el atributo olor, se ubican apreciaciones desde 'Nada Perceptible' con una valoración de 1 a 'Muy Perceptible' con una valoración de 5.

Los valores promedio de los datos de catación (Tabla B10.; Anexo B) se obtuvieron datos que van desde 3,5 (Característico – Perceptible), en representación del 70% de los catadores, para el tratamiento a_2b_2 hasta 4,3 (Perceptible – Muy perceptible) para los tratamientos a_1b_1 y a_1b_2 , que representa el 85%. Lo que indica que el olor de las muestras de salami es perceptible por los catadores, tanto en un característico a la maduración hasta muy intenso.

Mediante un análisis de varianza, a un nivel de confianza del 95%, se obtuvo que el atributo olor no presentó diferencia significativa, percibida por los catadores, entre los tratamientos (Tabla B25., Anexo B).

▪ **Sabor**

La escala edónica planteada para el atributo sabor estuvo dada desde 'Disgusta mucho' con una valoración de 1 a 'Gusta mucho' con una valoración de 5. Se tuvo en cuenta que el sabor del salami es una combinación de sabores (salado, ácido y picante). Para el análisis del atributo color de las muestras de salami se utilizó una escala edónica que evaluó la intensidad del sabor característico en embutidos madurados. La

escala estuvo planteada desde 'Nada Intenso' con un valor de 1 hasta 'Muy Intenso' con un valor de 5, como se muestra en el Anexo A.

De los datos registrados de la catación se obtuvieron apreciaciones promedio (Tabla B11., Anexo B) que van desde el valor de 3 (Característico), en representación del 58% de los catadores, para el tratamiento a_0b_0 hasta un valor de 4 (Intenso) para el tratamiento a_1b_0 , que representa el 80%. Mediante estos porcentajes se describe que los catadores perciben una combinación de los sabores descritos (salado, ácido y picante) en las muestras de salami. Estableciendo que esa mezcla de sabores es adecuada para este producto y que los catadores la valoran en intensa.

El análisis de varianza, a un nivel de confianza del 95%, señala que no hubo diferencia significativa en el sabor de los tratamientos que percibieron los catadores (Tabla B26., Anexo B).

▪ **Textura**

Durante la etapa de secado el salami perdió humedad, por ende el salami adquiere una textura adecuada y característica de este tipo de embutidos. La escala edónica propuesta para el análisis de la textura fue propuesta desde 'Muy blanda' con una valoración de 1 a 'Muy dura' con una valoración de 5.

Los datos obtenidos de la valoración por parte de los catadores se observan en la Tabla B12. (Anexo B), donde los valores promedio van desde 3,1 (Ni dura ni blanda), en representación del 63% de los catadores, para el tratamiento a_0b_2 hasta una valoración de 3,6 (Ni dura ni blanda – Dura) para los tratamientos a_0b_0 , a_0b_1 , a_1b_2 y a_2b_1 , que representan un 73%. Mediante estos porcentajes se identifica que las muestras de salami presentan una consistencia que va desde ni dura ni blanda a dura, textura característica en este tipo de productos, la cual la adquiere durante la etapa de secado.

En la Tabla .se observa el análisis de varianza a un nivel de confianza del 95%, estableciéndose que no hubo diferencia significativa en la textura de los tratamientos que percibieron los catadores (Tabla B27., Anexo B).

▪ **Aceptabilidad**

El atributo aceptabilidad tiene relación directa con los atributos color, olor, sabor y textura, es por eso que este atributo es de importancia porque permite establecer diferencias entre los tratamientos analizados por los catadores.

Los valores promedios de los datos que proporcionan los catadores se encuentran en la Tabla 13. (Anexo B) donde se observan valores que van desde 3 (Ni agrada ni desagrada), en representación del 60% de los catadores, para el tratamiento a_2b_0 a un valor de 3,5 (Ni agrada ni desagrada – Agrada) para los tratamientos a_0b_1 y a_1b_1 , que representa un 70%. La aceptabilidad de las muestras de salami presenta un porcentaje alto, ya que las valoraciones van desde ni agrada ni desagrada a agrada. Dicha aceptabilidad determinada se debe principalmente a que el consumo de embutidos madurados, y en especial el salami, no es muy difundido. Pero en general se establece que el producto elaborado tuvo un adecuado porcentaje de aceptabilidad por parte de los catadores.

El análisis de varianza para este atributo se encuentra en la Tabla 28. (Anexo B), donde a un nivel de confianza del 95% se observa que no hay diferencia significativa en la aceptación de los tratamientos que percibieron los catadores.

4.2.4. MEJOR TRATAMIENTO

- **Análisis sensorial**

De forma inicial se propuso obtener el mejor tratamiento de los empleados para la elaboración de salami mediante las pruebas de análisis sensorial que se realizaron. Como se aprecia las Tablas B24., B25., B26., B27. y B28. (Anexo B) de análisis de varianza de cada uno de los atributos sensoriales analizados (color, olor, sabor, textura y aceptabilidad) no presentan diferencia significativa entre estos, es decir que las apreciaciones de estos atributos no cambian entre los tratamientos. Motivo por el cual se optó por escoger otro parámetro de control (pérdida de peso) para establecer, de esa forma, el mejor tratamiento empleado para la elaboración de salami.

- **Pérdida de peso**

Para establecer los días que el salami tenía que permanecer en la cámara de maduración se tomó como parámetro de control el porcentaje de pérdida de peso de las muestras de los distintos tratamientos. En la Tabla B2. (Anexo B) se observan los porcentajes de pérdida de peso de dichos tratamientos, donde se indica que para los tratamientos seleccionados, a_2b_0 y a_2b_1 , los valores de pérdida de peso son 35.37% y 35.52%, respectivamente. Price (1994) estableció una pérdida de peso óptimo para embutidos madurados del 30 al 40% del peso inicial. Al final del período establecido (25 días) todos los tratamientos llegaron a ese rango de pérdida de peso. Se observa que los tratamientos a_2b_0 y a_2b_1 llegan a un porcentaje de pérdida de peso óptimo en 12 días. Los embutidos madurados tienen un período de maduración, aproximadamente, de 30 a 40 días. Al establecer que los tratamientos seleccionados (a_2b_0 y a_2b_1) tendrían un período de elaboración adecuado de 12 días, el producto estaría en venta en un período de tiempo más corto en relación a otros embutidos madurados tipo salami que se elaboran y comercializan en el mercado.

De igual forma que en el parámetro anterior (análisis sensorial) no se obtuvo un único mejor tratamiento de los empleados para la elaboración de salami, por lo que nuevamente se escogió otro parámetro (análisis de costo) para el establecimiento del mismo.

▪ **Análisis de costos**

Según el análisis de costos presentado en las Tablas B33., B34., B35., B36. y B37. (Anexo B), se aprecian los costos de elaboración obtenidos tanto para el tratamiento a_2b_0 como para el a_2b_1 (mejores tratamientos establecidos con el parámetro porcentaje de pérdida de peso). Ambos tratamientos tienen el Factor A (tipo de microorganismo) en común, en el nivel a_2 (*Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*), con la variante del Factor B (concentración del cultivo starter) establecidos en los niveles b_0 (0.01g/Kg) y b_1 (0.05 g/Kg).

El tratamiento a_2b_0 presenta un precio de elaboración de \$17.73 por kilogramo de producto y en una presentación de 250 g, tendrá el valor de \$4.43. En cambio el tratamiento a_2b_1 presenta un valor de \$18.00 por kilogramo de producto y en una presentación de 250 g, tendrá el valor de \$4.50. De este análisis se establece que la producción y elaboración del tratamiento a_2b_0 resulta más rentable.

Además, se realizó una comparación de precios con otros salamis existentes en el mercado (marcas: Juris y Don Diego). Estableciendo que los 250 g de salami de Juris tiene un el precio de \$3.94 y el Salami de Don Diego, en la misma presentación, tiene un precio de \$5.58. Por lo que, el salami elaborado podría competir en el mercado, al contar con un valor agregado como es la adición de microorganismos probióticos.

▪ Decisión

Por lo anteriormente expuesto, el tratamiento (a_2b_0) que conjuga al *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*, empleado como cultivo stater, en una concentración de 0.01 g/Kg, es el mejor tratamiento de los empleados para la elaboración de salami, debido a que presenta un valor rentable para la elaboración por 1Kg de producto, un adecuado y rápido porcentaje pérdida de peso (en relación a otros tratamientos) y además que sus características organolépticas no presentan diferencia significativa en comparación con los demás tratamientos elaborados. Parámetros mediante los cuales se estableció que es el tratamiento más adecuado para la elaboración de salami, según el estudio.

4.2.5. ALIMENTO FUNCIONAL

El crecimiento y desarrollo de los microorganismos probióticos (*Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*) empleados como cultivos starters en la elaboración de salami fue satisfactorio; es decir, se obtuvo un crecimiento adecuado lo que permitió garantizar la presencia de estos en el producto una vez terminado el proceso de elaboración.

Los niveles mínimos de bacterias probióticas que deben estar presentes en los productos probióticos son de 10^6 ufc/g (Samona y Robinson, mencionados por Collado, 2004), que indican que, en la Tabla B8. (Anexo B) se observan los valores de las ufc/g en los tratamientos que emplearon como cultivo starter microorganismos probióticos. Identificando que el nivel máximo de ufc/g de *Lactobacillus rhamnosus* presentes en el producto estuvo en un rango de 1.6×10^8 a 3.2×10^8 ufc/g y de *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* en un rango de 1.6×10^8 a 4.2×10^8 ufc/g. Estos niveles de microorganismos alcanzados demostraron que el salami que se elaboró puede ser considerado como alimento probiótico.

Mediante pruebas realizadas durante el período de almacenamiento (45 días) de los salamis se identificó que los niveles de microorganismos probióticos presentes aún son adecuados para la designación como alimento probiótico al salami elaborado. En la Tabla B38. (Anexo B) se observan los valores de ufc/g obtenidas, estableciendo para el *Lactobacillus rhamnosus* la presencia en un rango de 1.1×10^6 a 1.3×10^6 ufc/g; mientras que para el *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* la presencia en un rango de 2.3×10^6 a 2.5×10^6 ufc/g.

Según varias investigaciones, los microorganismos probióticos (entre ellos: *Lactobacillus ramnhosus* y *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*) tienen la capacidad de recolonizar la microbiota intestinal, previniendo diversas enfermedades, estabilizando el sistema digestivo e inmunológico.

Además de las características probióticas mencionadas, el salami, siendo un producto elaborado principalmente a base de carne (res y cerdo), muestra según el análisis proximal (Tabla B42.; Anexo B) realizado que posee un elevado porcentaje de proteína, representando un 32.74% y de grasa 29.32%. Por lo que el consumo de este producto, además de ayudar al sistema digestivo e inmunológico con la adición de microorganismos probióticos, puede ayudar a mantener una dieta balanceada, por la incorporación de componentes básicos para mantener una buena salud, como son la proteína y grasa.

Estos son valores agregados, que harían al producto llamativo para el consumidor estableciendo nuevos hábitos alimenticios al contar con alimentos que no solo proporcionen los nutrientes necesarios para mantener una dieta balanceada, sino también, que generen beneficios en la salud de quien los consume.

4.2.6. ESTABILIDAD DURANTE EL TIEMPO

- **Calidad microbiológica**

Con el propósito de comprobar la ausencia de microorganismos patógenos en los tratamientos empleados para la elaboración de salami, se realizaron las mismas pruebas microbiológicas descritas con anterioridad para la identificación y conteo de *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens*, *Salmonella* y coliformes totales.

Estas pruebas fueron realizadas a 45 días de haber concluido con la elaboración; es decir, a 45 días de almacenamiento a 4 – 7° C en una humedad relativa de 70 a 85%.

Los resultados de estas pruebas microbiológicas se observan en la Tabla B39. (Anexo B), donde se identificó la ausencia de estos microorganismos. Se estableció entonces que el salami elaborado mantiene su calidad microbiológica durante el período de almacenamiento, siendo así seguro para el consumo.

- **Tiempo de vida útil**

En la NTE INEN 1338 (2010) se establece la identificación y conteo de *Staphylococcus aureus* y *Clostridium perfringens* como requisitos microbiológicos para la determinación de vida útil. Al realizar la identificación y conteo de estos microorganismos una vez terminado el proceso de elaboración de salami y durante el período de almacenamiento, no se evidenció su desarrollo. Al no contar con datos de análisis microbiológico se consideró otro parámetro como es el porcentaje de pérdida de peso.

En la Tabla B43. (Anexo B) se muestran los valores del porcentaje de pérdida de peso, para el mejor tratamiento a_2b_0 , en el intervalo comprendido desde el día 15 hasta el día 25, del inicio de la elaboración del salami; se

realizó esta consideración pues este tratamiento presentó un porcentaje de pérdida de peso adecuado a los 12 días de haber sido elaborado; es decir que, desde ese día los valores determinados corresponderían a los del almacenamiento.

En el Gráfico C29. (Anexo C) se muestra la relación lineal entre el porcentaje de pérdida de peso y el tiempo, para el tratamiento a_2b_0 . Se obtuvo la siguiente ecuación de regresión, con un coeficiente de regresión cercano a la unidad ($r^2 = 0.99$):

$$\%PP = 0.2523(t) + 29.146 \quad \text{Ec. 4.2.6.1}$$

Varnam *et al.* (1998) estableció un porcentaje de humedad que deben presentar los productos cárnicos madurados secado en un rango de 20 – 30%. Se consideró un porcentaje de pérdida de peso máximo en un valor de 65% para el salami elaborado. En la Ec. 4.2.6.1 se despejó el tiempo y se reemplazó el valor máximo establecido de pérdida de peso:

$$t = \frac{65 - 27.46}{0.2523} = 142.1 \text{ días}$$

Se determinó que el producto cárnico elaborado mantiene un porcentaje de pérdida de peso adecuado durante 142.1 días, es decir 4.7 meses. Mediante este valor se estableció que el producto tiene un tiempo de vida útil de 5 meses, aproximadamente.

Los productos cárnicos madurados tienen un tiempo de vida útil relativamente largo, debido a características fisicoquímicas (pH, acidez, a_w) y microbiológicas que proporcionan estabilidad durante el tiempo. Al determinar un tiempo de vida útil aproximado de 5 meses para el salami, se reconoce un período de vida útil largo. Estableciendo de esta forma una alternativa para la determinación de vida útil en productos cárnicos

madurados mediante el empleo de los valores de porcentajes de pérdida de peso.

▪ pH y acidez

Durante el almacenamiento (45 días) se realizó análisis de pH y acidez de muestras de los tratamientos empleados para la elaboración de salami. En la Tabla B40. (Anexo B) se aprecian los valores de pH y acidez (% ácido láctico) identificándose una variación de estos valores con los obtenidos al final del proceso de elaboración. En el caso de los valores de pH, estos aumentaron en relación a los valores finales; esto debido a la formación de otros compuestos (por ejemplo: amoniac) y también a la disminución de la concentración de ácido láctico.

Los valores de acidez de las muestras de salami disminuyeron, debido a la reducción de bacterias ácido lácticas del cultivo starter, las cuales eran responsables de producir ácido láctico aumentando el porcentaje de acidez en las muestras.

4.2.7. MODELO MATEMÁTICO QUE DESCRIBE EL CRECIMIENTO DE LOS MICROORGANISMOS DE LOS CULTIVOS STARTERS

Durante el período de fermentación de los salamis se evidencia el crecimiento y desarrollo de los microorganismos de los cultivos starters (Gráfico C17., C18. y C19.; Anexo C). Se realizó el análisis del crecimiento al establecer como mejor tratamiento al que la combinación de *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* en una concentración de 0.01 g/Kg (a_2b_0).

En el Gráfico C21. (Anexo C) se aprecia el crecimiento del *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*, en el eje de ordenadas se ubican los valores de ufc/g en logaritmo de base 2 (se utilizó este logaritmo para representar el tiempo de generación) y el eje de las abscisas, el tiempo expresado en días.

Es importante señalar que para este análisis se tomó en cuenta dos secciones de la curva en relación al tiempo, debido principalmente a que no siempre se mantuvo a los salamis a la misma temperatura. Es así que, en el período comprendido de 0 a 2 días se observa un crecimiento más acelerado, período correspondiente a la etapa de estufaje, donde se mantuvo a las muestras de salami a una temperatura de 38° C, temperatura óptima para el desarrollo de los microorganismos del cultivo starter; en cambio el período comprendido entre los días 5 a 25, se mantuvieron a una temperatura de 15 – 16° C aproximadamente, en donde se evidencia un crecimiento menos acelerado de los microorganismos.

Siguiendo lo establecido en la Ec. 2.4.3.2.3. propuesta por Hawker *et al.* (1964); del Gráfico C22. (Anexo C) se obtiene una curva que describe una tendencia lineal, ya que su coeficiente de determinación (r^2) se acerca a la unidad ($r^2 = 0.982$). Obteniéndose la siguiente ecuación de la recta:

$$\log_2(ufc/g) = 0,8937(t) + 23,863 \quad \text{Ec. 4.2.7.1.}$$

De esta ecuación se puede extraer la siguiente información: el valor de la pendiente indica el coeficiente de crecimiento exponencial, cuyo valor es 0.8937 días⁻¹; en cambio el valor inverso de la pendiente indica el tiempo de generación que para este caso es de 1.1 días, es decir que en este tiempo la población de microorganismos llega a duplicarse.

Para el Gráfico C23. (Anexo C) también se obtiene una curva que describe una tendencia lineal, indicando un valor del coeficiente de determinación cercano a la unidad ($r^2 = 0.9834$) y la siguiente ecuación de la recta:

$$\log_2(ufc/g) = 0,0692(t) + 25,558 \quad \text{Ec. 4.2.7.2.}$$

De igual forma, el valor de la pendiente indica el coeficiente de crecimiento exponencial, cuyo valor es 0.0692 días⁻¹ y un valor del tiempo de generación de 14.5 días.

Así, la Ec. 4.2.7.1. describe el crecimiento del *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* en una concentración de 0.01 g/Kg a una temperatura de 38° C; en cambio, la Ec. 4.2.7.2. lo describe a una temperatura de 15 – 16° C.

4.2.8. ANÁLISIS PROXIMAL DEL SALAMI

Cabe señalar que este análisis se lo realizó a 4 meses de haber terminado con el proceso de elaboración. Esto principalmente para identificar la variación de los principales componentes durante el almacenamiento del producto.

En la Tabla B42. (Anexo B) se observa la composición proximal de una muestra de salami del mejor tratamiento a_2b_0 (*Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* – 0.01 g/Kg). Información extraída del informe reportado en el Anexo E9.

Dependiendo de la formulación, los porcentajes de los principales componentes analizados en el análisis proximal variarían en el producto final.

Para salamis madurados se establece un porcentaje de humedad del 20 – 30%, según Varnam *et al.* (1998). El porcentaje de humedad presente en el producto fue de 26.51% y tomando en cuenta dicho porcentaje, el porcentaje de humedad establecido en el salami corresponde a ese rango.

El porcentaje de proteína presente en el producto, según muestra el análisis, correspondió a un 32.74%. Este valor se debe a que para la elaboración del salami se utilizó principalmente carnes magras de res y cerdo, que en su estructura las proteínas son gran parte de los tejidos muscular y conectivo. Porcentaje adecuado para este tipo de productos

relacionando con lo indicado en las NTE INEN 1343:96 y 1338:2010, donde se indica un valor mínimo de proteína en el producto de 14% y un valor máximo de 40%.

El porcentaje de grasa presente en el producto, según el análisis, fue de 29,32%. Porcentaje que está dentro de lo que se establece en la NTE INEN 1343 (1996). La grasa que se utilizó fue principalmente de cerdo.

Se considera a las cenizas como el residuo mineral que se obtiene de la combustión de sustancias orgánicas. El porcentaje de cenizas en el salami fue del 8,94%. El porcentaje de carbohidratos se lo obtuvo de la diferencia del resto de componentes del 100%, dando así como resultado 2.49% de carbohidratos presentes en el salami.

4.2.9. BALANCE DE PROCESO

En el Gráfico B1. (Anexo B) se muestra el balance de proceso realizado, siguiendo la ley de conversión de las masas, para producir cada tipo de embutido en base a 3 Kg (carne y grasa). En este diagrama se señalan las entradas y salidas de las materias primas utilizadas lo que permite seguir de una manera detallada el proceso de la elaboración.

En el diagrama del proceso de elaboración de salami se observa que la cantidad de materia prima (carne de res, carne de cerdo y grasa) es de 3 Kg, se añadió los condimentos (0.18 Kg), químicos (0.001 Kg) e inóculo (0.01 g/Kg, según este tratamiento) y después del mezclado la masa fue de 3.18 Kg. Al introducir la masa en la tripa artificial durante el proceso de embutido el peso fue de 3.23 Kg. En el proceso de estufaje el peso fue de 2.95 Kg, pérdida de humedad por la diferencia entre la humedad relativa del medio dentro del horno. En el secado es donde se identifica una pérdida de peso (desprendimiento de humedad) en una cantidad de 0.87 Kg. Al final de todo el proceso, para el almacenamiento el producto obtuvo un peso final 2.08 Kg.

Estableciendo de esta forma un rendimiento del producto de 64,33%. Señalando que durante el proceso de elaboración existen desperdicios durante el proceso de embutido y de desprendimiento de humedad en los procesos de estufaje y secado.

4.3. VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS

En el estudio se planteó una hipótesis nula (H_0) y por ende una hipótesis alternativa (H_1). La H_0 establece que la aplicación de microorganismos probióticos como cultivos starters en la elaboración de un producto cárnico madurado tipo salami no genera características organolépticas potenciadas en el producto final y la H_1 , lo contrario.

Para comprobar estas afirmaciones se realizaron pruebas de análisis sensorial aplicadas a los tratamientos empleados para la elaboración de salami, analizando sus propiedades organolépticas (color, olor, sabor, textura y aceptabilidad). Se emplearon 12 catadores no entrenados (integrado por 5 hombres y 7 mujeres) y las muestras fueron repartidas según un diseño experimental de bloques incompletos. El promedio de las valoraciones de los diferentes atributos del salami por parte de cada uno de los catadores fueron sometidas a un análisis de varianza. Como respuesta de dicho análisis se identificó que no existe diferencia significativa de los atributos, percibida por los catadores, de cada uno de los tratamientos elaborados. Por lo cual se acepta la H_0 debido a que la aplicación de microorganismos probióticos como cultivos starters en la elaboración de un producto cárnico madurado tipo salami no genera características organolépticas potenciadas en el producto final.

Estableciendo así que, para la elaboración de salami no existirán diferencias entre las características organolépticas que se obtendrían al aplicar microorganismos probióticos o específicos como cultivos starters.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Se emplearon microorganismos probióticos (*Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*) como cultivos starters en la elaboración de un producto cárnico madurado tipo salami. Estos microorganismos cumplieron la función de proporcionar estabilidad durante el proceso de elaboración ayudando a obtener propiedades organolépticas características del producto. Se realizaron comparaciones de las características organolépticas obtenidas mediante el empleo de microorganismos probióticos con otro obtenido mediante la aplicación de un microorganismo específico (*Lactobacillus plantarum*), identificando mediante pruebas de análisis sensorial y estadístico que las características organolépticas no presentan diferencia significativa entre los diferentes salamis analizados, dado que el valor estadístico de F determinado es menor al valor de F establecido en tablas ($F_{\text{calculado}} < F_{\text{tablas}}$), valores obtenidos del análisis de varianza del atributo aceptabilidad que engloba a las demás características organolépticas, por lo que los microorganismos probióticos no potencian las características organolépticas del salami en comparación a otros elaborados con microorganismos starters específicos.
- Las especificaciones tecnológicas necesarias para la elaboración de salami, empleando como cultivos starters microorganismos probióticos, son las mismas de las que se establecen para la elaboración de salami con cultivos starters específicos, estableciendo las dosis en las que se agregan el cultivo, en este caso, queda especificado el uso de 0,01 g/Kg de cultivo de *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*. Además, del adecuado control que se debe tener

en el proceso de elaboración, estufaje, maduración, secado y almacenamiento del embutido.

- Entre los principales cambios fisicoquímicos que se determinaron durante el proceso de estufaje, fermentación y secado del salami se encuentran: porcentaje de pérdida de peso, ph, acidez (porcentaje de ácido láctico) y a_w . Los valores de los cambios físicos variaron según el microorganismo y la concentración empleada. El control de estos parámetros es de mucha importancia para mantener un adecuado proceso de elaboración del salami y por ende obtener un producto de calidad para el consumidor.
- Durante el proceso de maduración de los salamis se llevó un control sobre el crecimiento y desarrollo de los microorganismos de los cultivos starters empleados, principalmente de los microorganismos probióticos tanto del *Lactobacillus rhamnosus* como *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*, empleando pruebas de análisis microbiológico. Se confirmó de esta forma el crecimiento en la maduración y la presencia en el producto terminado de los microorganismos probióticos, estando estos presentes en un rango de 1.6×10^8 a 3.2×10^8 ufc/g para el *Lactobacillus rhamnosus*; mientras que el *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* tuvo presencia en un rango de 1.6×10^8 a 4.2×10^8 ufc/g. Pruebas microbiológicas realizadas durante el período de almacenamiento del producto (45 días) demostraron que aún hay existencia de estos, las cantidades de ufc/g son relativamente menores, en un rango de 1.1×10^6 a 2.8×10^6 ufc/g para el *Lactobacillus rhamnosus* y un rango de 2.3×10^6 a 2.5×10^6 ufc/g para el *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*, pero se valida la existencia de microorganismos probióticos en el producto, tiempo después de finalizada su elaboración.

- Del recuento microbiológico de las ufc/g de *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* en una concentración de 0.01 g/Kg se realizó un gráfico donde relación el tiempo y el logaritmo en base 2 (\log_2) de las ufc/g. de la curva obtenida se identificaron dos secciones; la primera que va desde tiempo 0 a 2 días a una temperatura de 38° C y la segunda, comprendida en un período de 5 a 25 días a una temperatura de 15 – 16° C, aproximadamente. Mediante la linealización de estas secciones se obtuvo las siguientes ecuaciones que representan el crecimiento y desarrollo de este microorganismo durante el proceso de elaboración del salami:

En la sección a 38° C: $\log_2(ufc/g) = 0,8937(t) + 23,863$ ($r^2=0.982$); y para la sección a 15 – 16° C: $\log_2(ufc/g) = 0,0692(t) + 25,558$ ($r^2=0.983$). Ecuaciones que permitirán predecir el crecimiento de este microorganismo a un tiempo determinado.

- En las pruebas de análisis organoléptico que se realizaron a los tratamientos utilizados para la elaboración de salami no se obtuvo diferencia significativa entre estos, por lo que el uso de este parámetro para seleccionar el mejor tratamiento no fue el más adecuado. Se tomó en consideración un parámetro fisicoquímico, como es la pérdida de peso, mediante este factor se obtuvieron dos mejores tratamiento (a_2b_0 y a_2b_1). A partir de esta selección se consideró el análisis de costos para identificar cuál de estos dos tratamientos es el más rentable. De este análisis se escogió el tratamiento a_2b_0 como el más rentable, con un precio de elaboración de \$17.73 por kilogramo de producto y en una presentación de 250 g su costo es de \$4.43. Se reconoció, entonces, al tratamiento en donde se combinó *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* en una concentración de 0.01 g/Kg (a_2b_0) como el mejor tratamiento empleado para la elaboración de un embutido madurado tipo salami, según este estudio.

5.2. RECOMENDACIONES

- Controlar de forma adecuada todo el proceso de elaboración de salami, desde la materia prima hasta la temperatura de ahumado para evitar contaminaciones, contratiempos y defectos durante el proceso de elaboración.
- El uso de una cámara de maduración, donde sea factible controlar la temperatura y el porcentaje de humedad relativa del ambiente en el interior de dicha cámara, para evitar problemas durante el estufaje, maduración y secado del salami.
- Hidratar el cultivo liofilizado con la cantidad de agua purificada establecida (250 ml) para así asegurar el nivel de inoculación inicial señalado en el estudio.
- Incentivar la elaboración y el consumo de productos cárnicos madurados funcionales, principalmente de salami elaborado con microorganismos probióticos, en la población de la zona central del Ecuador.
- Establecer las especificaciones necesarias y adecuadas para el uso de *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* como cultivos starter en la elaboración de salami.
- Identificar formas adecuadas de presentación del salami para la venta al público en varias presentaciones.

CAPITULO VI

PROPUESTA

6.1. DATOS INFORMATIVOS

Título: Efecto del empleo de *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* como cultivo starter en la elaboración de un producto cárnico madurado tipo salami

Institución Ejecutora: Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Beneficiarios: Ganaderos, productores de productos cárnicos madurados

Ubicación: Ambato – Ecuador

Tiempo estimado para la ejecución: 6 meses

Equipo técnico responsable: Ing. Danilo Morales
Egdo. Víctor Rodríguez

Costo: \$ 800

6.2. ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA

A nivel mundial, de la producción total de carne, aproximadamente el 75% es utilizado en la elaboración de productos derivados de la carne (embutidos). De este porcentaje, el 49% se destina para la elaboración de productos de charcutería y el resto para salazones; de este último el 4% corresponde a la producción de embutidos secos madurados tipo salami. (Durand, 2002)

Los productos cárnicos madurados son por lo general, una mezcla de carne cruda y tocino picado, con adición de sal común, sustancias curantes, azúcar, condimentos y algunos aditivos y productos coayudantes para el curado y cultivos iniciadores, todo ello introducido a manera de relleno en tripa natural o artificial (Coretti, 1971).

Los embutidos fermentados o madurados se caracterizan por su sabor fuerte y picante, y en muchos casos, por su textura chiclosa. Estos sabores característicos se producen como consecuencia de la fermentación bacteriana, que da lugar al ácido láctico y otros compuestos (Varnam *et al.*, 1998).

El embutido crudo debe adquirir inmediatamente un estado de conservación, el cual se logra por medio de la maduración y desecación. Como consecuencia de la mayor tendencia a la descomposición de la masa fresca durante la etapa de maduración, es esta con mucho la fase más comprometida en la fabricación de este tipo de embutidos (Coretti, 1971).

Tradicionalmente la elaboración de embutidos ha sido meramente empírica, ya que no se conocía la relación entre la actividad microbiana, y los cambios, fundamentalmente sensoriales, que se desarrollaban en el producto durante el curado (Schiffner, 1996).

Es así que por la década de los 40's se hicieron los primeros intentos para establecer las bases científicas del proceso de fermentación, siguiendo el desarrollo de cultivos starters (Varnam *et al.*, 1998).

Los cultivos de este tipo son microorganismos que se agregan a la masa del embutido crudo con la finalidad de influir favorablemente sobre la maduración y aromatización de los artículos. Se ha probado una serie de diversas especies bacterianas como cultivos starters, eligiéndose con dicha finalidad cepas de las siguientes especies: *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Sterptococcus* y *Micrococcus* (Coretti, 1971).

Los probióticos son microorganismos (utilizados como cultivos starters) que cuando son ingeridos en cantidades suficientes, tienen efectos beneficiosos sobre la salud, lo que va más allá de los efectos nutricionales convencionales de un alimento (Varela, 2006).

La demanda del mercado ha impulsado en los últimos años una nueva línea de alimentos funcionales probióticos, productos alimenticios que, además de su valor nutritivo intrínseco, ayudan a mantener el estado de salud general del organismo y a la vez pueden tener un efecto benéfico adicional, terapéutico o preventivo en el consumidor (Taranto, 2005).

6.3. JUSTIFICACIÓN

Actualmente, el uso de cultivos starters ha tenido un gran desarrollo. Mediante el empleo de estos se logra controlar el proceso de elaboración de ciertos productos alimenticios y de igual forma mejorar las características organolépticas de los mismos.

El uso de microorganismos probióticos como microorganismos starters para la elaboración de alimentos ha llamado la atención de investigadores; por el hecho de este tipo de microorganismos podría generar cambios benéficos en el organismo de las personas que lo consumen.

El salami, siendo un embutido madurado, involucra en su elaboración el uso de microorganismos starters para el control del proceso de maduración y de microorganismos patogénicos que se podrían desarrollar en la carne, ya que mantiene un pH bajo debido a la producción de ciertos ácidos orgánicos, entre ellos el ácido láctico.

El *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* es un microorganismo del tipo probiótico empleado como microorganismo starter en la elaboración de productos alimenticios del tipo lácteo. Una de las características de este

microorganismo es la producción de ácido láctico, por lo que su uso como starter en la elaboración de salami es adecuado.

6.4. OBJETIVOS

6.4.1. OBJETIVO GENERAL

- Emplear *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* como cultivo starter en la elaboración de un producto cárnico madurado tipo salami.

6.4.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar los cambios fisicoquímicos finales generados en el producto cárnico madurado por el efecto de la aplicación del *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*.
- Comprobar la inocuidad del proceso de elaboración del producto cárnico madurado tipo salami mediante pruebas microbiológicas.
- Realizar pruebas de análisis sensorial para la identificación de la aceptabilidad del producto cárnico madurado tipo salami.
- Establecer las especificaciones necesarias para el almacenamiento del producto cárnico madurado tipo salami concluido el proceso de elaboración.
- Comprobar la rentabilidad del producto elaborado mediante la realización de un estudio económico.

6.5. ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD

En este proyecto se pretende aplicar el *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* como cultivo starter en la elaboración de un producto cárnico madurado tipo salami. Estableciendo de esa forma una innovación tecnológica al utilizar un cultivo starter de uso no común en la industria cárnica. Además de que el salami tendrá características organolépticas similares a los que se expenden en el mercado, por lo que tendrá acogida por el consumidor.

La realización de este proyecto será factible, porque las materias primas y cultivo starter probiótico son accesibles; además, que se cuenta con los equipos necesarios para la elaboración de este embutido madurado.

6.6. FUNDAMENTACIÓN

El salame o salami es el embutido seco, curado, madurado o cocido, elaborado a base de carne y grasa de porcino y/o bovino, con ingredientes y aditivos permitidos (NTE INEN 1338, 2010).

Los embutidos madurados poseen características notablemente diferentes, haciéndolos más apetitosos y aceptables para un mercado que actualmente está creciendo (Varnam *et al.*, 1998).

El uso de microorganismos como cultivos starters presenta beneficios para las empresas que elaboran productos cárnicos madurados, principalmente porque les permite controlar el proceso de maduración, además de reducir el tiempo de producción.

Las bifidobacterias son consideradas microorganismos probióticos, que son empleados como cultivos starters, por las propiedades beneficiosas demostradas por muchos estudios científicos sobre la salud de quien los consume, por ello están siendo empleadas ampliamente para la elaboración

de leches fermentadas y otros productos lácteos. Los productos probióticos han de contener un elevado número de células viables, que han de permanecer viables a lo largo de la vida útil del producto y han de ser capaces de sobrevivir el paso a través del tracto gastrointestinal. Las bifidobacterias son habitantes habituales del tracto gastrointestinal y están presentes en nuestro intestino en cantidades variables durante nuestra vida, apareciendo a los pocos días después del nacimiento. *Bifidobacterium* constituyen una de las especies predominantes en la microbiota del colon, se encuentran presentes en elevado número, del orden de 10^8 - 10^{11} células por gramo de material del colon (Collado, 2004).

Mediante el uso del *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* se obtendrá un producto de características organolépticas aceptables y adecuadas, debido principalmente a la acción del *Bifidobacterium*, microorganismos que ha demostrado ser muy útil cuando es empleado como cultivo starter.

6.7. METODOLOGÍA MODELO OPERATIVO

6.7.1. Materiales y Equipos

Los materiales utilizados para el desarrollo e implementación de esta tecnología serán los siguientes:

- Materiales de vidrio
 - Matraz erlenmeyer de 100ml
 - Matraz aforado de 250 ml
 - Pipetas de 1 y 10 ml
 - Vasos de precipitación de 250 y 600 ml
 - Cajas petri
 - Tubos de ensayo
 - Embudos

- Utensilios
 - Cuchillos
 - Espátulas

- Equipos
 - Molino de carne
 - Embutidora
 - Horno ahumador
 - Cámara de maduración
 - Refrigeradora
 - Licuadora
 - Autoclave
 - Balanza analítica
 - Incubadoras
 - Microscopio
 - pH-metro
 - Termómetro
 - Cuenta colonias

- Reactivos
 - Solución de NaOH 0.1 N
 - Cloruro de Bario di hidratado
 - Agar Rogosa
 - Caldo Mc Conkey
 - Caldo LBVB
 - Agar Mc Conkey
 - Agar Manitol Sal
 - Agar SS
 - Agar TSC

6.7.2. Tecnología de Elaboración

Según Salazar (2008) las principales etapas de la elaboración de salami son:

- **Recepción de la materia prima y aditivos.-** Se utilizará carne magra de res y cerdo, grasa de cerdo y los aditivos deberán ser de calidad.
- **Preparación de la carne y grasa.-** La deben se encontrarse a bajas temperaturas antes de su uso y no debe ser superior a 4° C.
- **Molido.-** Se realizará esta operación hasta alcanzar el tamaño de grano deseado.
- **Adición de condimentos y aditivos.-** Se agregaran los aditivos y condimentos a la masa una vez molida.
- **Inoculación.-** Se añadirá el cultivo starter hidratado según la concentración en la que se trabajara, 0.01 g/Kg en 250 ml de agua purificada.
- **Embutido.-** En esta etapa se utilizara tripas sintéticas elaboradas a base de fibrosa. Tripa permeable que se adhiere correctamente al embutido al perder humedad.
- **Atado de la tripa y colgado de los embutidos.-** Se empleará piola de amarre resistente, conocida como hilo chillo.
- **Estufado.-** En la ficha técnica del cultivo starter se especifica la temperatura óptima para su desarrollo. Para el *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* se establece un rango de temperatura óptima de crecimiento de 37 a 41° C, durante un tiempo de 24 horas.

- **Maduración.-** Se mantendrá el producto elaborado a temperatura de 12 a 16° C y una humedad relativa de 70 a 85%. Durante un período de 12 días.

- **Ahumado.-** Se lo aplicara a temperatura de 25° C por aproximadamente una hora, con una humedad relativa del medio de 70 al 85%.

- **Almacenamiento.-** Los embutidos se almacenaran en un ambiente limpio a temperaturas de refrigeración de 4 a 7° C a una humedad relativa de 70 a 85%.

Cuadro 3. Modelo Operativo (Plan de acción)

Fases	Metas	Actividades	Responsables	Recursos	Presupuesto	Tiempo
1. Formulación de la propuesta	Emplear <i>Bifidobacterium animalis</i> spp. <i>lactis</i> como cultivo starter en la elaboración de un producto cárnico madurado tipo salami	Revisión bibliográfica y antecedentes sobre el uso de cultivos starters en la elaboración de salami	Investigador	Humanos Económicos Materiales	\$100	1 mes
2. Desarrollo preliminar de la propuesta	Planteamiento de los análisis a realizar durante la investigación y cronograma de actividades	Pruebas preliminares y establecimiento de equipos a utilizarse	Investigador	Humanos Económicos Materiales	\$150	1 mes
3. Implementación de la propuesta	Ejecución de la propuesta	Realización de la fase experimental	Investigador	Humanos Económicos Materiales Técnicos	\$300	2 meses
4. Evaluación de la propuesta	Validar la existencia de <i>Bifidobacterium animalis</i> spp. <i>lactis</i> en el salami	Realización de pruebas microbiológicas e interpretación de resultados	Investigador	Humanos Económicos Materiales	\$ 250	2meses

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

6.8. ADMINISTRACIÓN

Para la administración del proyecto se deberá hacer énfasis en el cumplimiento de las actividades planteadas en cada una de las fases y estará coordinada por los responsables del proyecto Ing. Danilo Morales y Egdo. Víctor Rodríguez.

Tabla 6. Administración de la propuesta

Indicadores a mejorar	Situación actual	Resultados esperados	Actividades	Responsable
Empleo de <i>Bifidobacterium animalis</i> spp. <i>lactis</i> como cultivo starter en la elaboración de un producto cárnico madurado tipo salami	Productos cárnicos madurados elaborados sin el uso de cultivos starters	Reducción del tiempo de elaboración del embutido en relación a otros elaborados en el mercado Parámetros fisicoquímicos y microbiológicos adecuados para establecer que el producto elaborado es de calidad Producto final con características organolépticas aceptables	Evaluación de las propiedades fisicoquímicas del embutido durante el proceso de maduración Análisis microbiológico del producto final Valoración sensorial del embutido elaborado	Ing. Danilo Morales Egdo. Víctor Rodríguez

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

6.9. PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN

Tabla 7. Previsión de la evaluación

Preguntas Básicas	Explicación
¿Quiénes solicitan evaluar?	Ganaderos y productores de productos cárnicos madurados
¿Por qué evaluar?	Identificar el efecto de la aplicación de un microorganismo probiótico como cultivo starter en la elaboración de salami
¿Para qué evaluar?	Reducir tiempo de elaboración de salami y obtener un producto cárnico de características probióticas
¿Qué evaluar?	Porcentaje de pérdida de peso pH Acidez (% Ácido Láctico) a_w Desarrollo del cultivo starter Calidad microbiológica Análisis proximal
¿Quién evalúa?	Investigador
¿Cuándo evaluar?	Durante el proceso de estufaje, maduración y secado del embutido
¿Cómo evaluar?	Mediante instrumentos de evaluación y análisis estadístico
¿Con qué evaluar?	Mediante métodos establecidos en normas para la experimentación y

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

CAPITULO VII

MATERIALES DE REFERENCIA

7.1. BIBLIOGRAFÍA

1. BARRANTES, Xinia; RAILEY, Dylana; ARIAS, María y CHÁVEZ, Carolina, 2004, “Evaluación del efecto de cultivos probióticos adicionados a yogurt comercial, sobre poblaciones conocidas de *Listeria monocytogenes* y *Escherichia coli* O157:H7”, Archivos Latinoamericanos de Nutrición, Volumen 54, Número 3
2. BARROS, Franklin, 1995, “Incidencia del proceso de maduración en los embutidos crudos: Salami”, Perfil del Proyecto previo a la obtención del Título de Ingeniero en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato, Ecuador, 29 pág.
3. BROCK, 1999, “Biología de los microorganismos”, 8ª edición, Editorial Prentice Hall, Madrid – España, pp: 150 – 155
4. COCHRAN, William, 1973, “Diseño experimental”, 2ª edición, Editorial Trillas, México – México, pp: 471
5. Constitución Política de la República del Ecuador, 2008
6. CORETTI, Kornel, 1971, “Embutidos: elaboración y defectos”, Editorial Acribia, Zaragoza – España, pp: 9 – 46
7. DURAND, Paule, 2002, “Tecnología de los productos de charcutería y salazones”, Editorial Acribia, Zaragoza – España, pp: 293 – 421
8. FREY, Werner, 1995, “Fabricación fiable de embutidos”, Editorial Acribia, Zaragoza – España. pp: 17– 22
9. HAWKER, L.; LINTON, A.; FOLKERS, B. y CARLILE, M., 1964, “Elementos de microbiológica general”, Editorial Acribia, Zaragoza – España, pp: 245 – 252

10. HERRERA, L.; MEDINA, A. y NARANJO, G., 2004, "Tutoría de la investigación científica", Dimero Editores. Quito – Ecuador, pp: 13 – 155
11. MOSSEL, D. A.; MORENO, B. y STRUIJK, C. B., 2003, "Microbiología de alimentos", 2ª edición, Editorial Acribia, Zaragoza – España, pp: 255, 329, 542, 543
12. NTE INEN 783:1985, "Carne y productos cárnicos. Determinación de pH"
13. NTE INEN 1338:2010, "Carne y productos cárnicos. Productos cárnicos crudos, productos cárnicos curados–madurados y productos cárnicos precocidos – cocidos. Requisitos."
14. NTE INEN 1343:1996, "Carne y productos cárnicos. Salame. Requisitos."
15. PRANDL, Oskar, 1994, "Tecnología e higiene de la carne", Editorial Acribia, Zaragoza – España. pp: 101
16. PRICE, James, 1994, "Ciencia de la carne y de los productos cárnicos", Segunda edición, Editorial Acribia, Zaragoza – España. pp: 433 – 435
17. SALAZAR, Diego, 2008, "Apuntes de tecnología de cárnicos"
18. SALTOS, Aníbal, 1993, "Diseño experimental", Ambato – Ecuador, pp: 36 – 44
19. SCHIFFNER, Eberhard, 1978, "Cultivos bacterianos para la industria cárnica", Editorial Acribia, Zaragoza – España, pp: 12 – 17, 56 – 96
20. SCHIFFNER, Eberhard, 1996, "Elaboración casera de carne y embutidos", Editorial Acribia, Zaragoza – España, pp:83 – 128
21. VARNAM, Alan y SUTHERLAND, Jane; 1998, "Carne y productos cárnicos", Editorial Acribia, Zaragoza – España. pp: 307 – 346

7.2. LINKGRAFÍA

22. Aguilar Armando, 2003, "Jamón serrano y salami", disponible en: <https://www.u-cursos.cl>, 15-06-2010.
23. Alfachilena, 2010, "Tripas y envases", disponible en: <http://www.alfachilena.cl>, 08-04-2011.

24. Aycachi Rómulo, 2008, "Aislamiento e identificación de *Clostridium perfringens*", disponible en: <http://es.scribd.com>, 16-04-2011.
25. Bacus Jim, 2010, "Salami", disponible en: <http://en.wikipedia.org>, 25-03-2010.
26. Becton, Dickinson and Company, 2003, "BD LBS Agar (Lactobacillus Selection Agar)", disponible en: <http://www.bd.com>, 08-04-2011.
27. Beijerinck Martinuz, 2008, "*Lactobacillus*", disponible en: <http://es.wikipedia.org>, 10-04-2011.
28. Castro Ángela, 2009, "¿Cuáles son las contribuciones y características terapéuticas y nutricionales de los alimentos probióticos?", disponible en: <http://aliprobioticos.blogspot.com>, 24-04-2011.
29. Cevallos Giovanna, 2006, "Alimentos Funcionales: Prebióticos Probióticos Nutraceuticos Elementales", disponible en: <http://www.monografias.com>, 25-03-2010.
30. Cohen Salomón, 2007, "Aproximación a la psicoterapia", <http://www.bib.uia.mx>, 04-04-2010.
31. Collado, María, 2004, "Caracterización de cepas del género *Bifidobacterium* con carácter probiótico", disponible en: <http://www.upv.es>, 12-03-2011.
32. Dalla O.; Coelho F.; Freitas J., Dalla H. y Terra N., 2008, "Características de salamis fermentados producidos sin la adición de cultivo iniciador", disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx>, 21-05-2011.
33. Desmazeaud Michael, 2000, "Las tendencias de la investigación sobre cultivos lácteos en Europa", disponible en: <http://bibliotecavirtual.unl.edu.ar>, 25-03-2010.
34. Diario El Financiero, 2007, "Sectores productivos", disponible en: <http://www.prompex.gob.pe.htm>, 15-06-2010.
35. Domowe Wedliny, 2010, "Culture types", disponible en: <http://www.wedlinydomowe.com>, 25-03-2010.
36. FAO, 2001, "Probióticos en los alimentos", disponible en: <ftp://ftp.fao.org>, 25-03-2010.

37. Farreras Valentí, 2011, “*Salmonella*”, disponible en: <http://es.wikipedia.org>, 10-04-2011.
38. Fibraco, 1998, “Tripa fibrosa”, disponible en: <http://www.fibraco.net>, 08-04-2011.
39. Garduño Alejandro, 2010, “Elaboración de embutidos”, disponible en: <http://www.alimentariaonline.com>, 25-03-2010.
40. Gómez Gladis, 2009, “Los probióticos. Una alternativa en el tratamiento de enfermedades”, disponible en: <http://www.monografias.com>, 25-03-2010.
41. Guzmán, Jennifer, 2005, “Modelo matemático del crecimiento de bacterias”, disponible en: <http://www.monografias.com>, 26-04-2011.
42. Heller Knut, 2005, “Bacterias probióticas en alimentos fermentados. Características de los productos y microorganismos iniciadores”, disponible en: <http://www.alimentariaonline.com>, 10-04-2011.
43. Instituto de Salud Pública de Chile, 2007, “*Salmonella*”, disponible en: <http://www.ispch.cl>, 10-04-2011.
44. Jiménez Francisco, 2005, “Productos cárnicos funcionales”, disponible en: <http://digital.csic.es>, 25-03-2010.
45. Jones Faro, 199, “*Lactobacillus acidophilus*”, disponible en: <http://dwb.unl.edu>, 04-04-2010.
46. Laboratorios Britania, 2008, “Agar m.r.s”, disponible en: <http://www.britanialab.com.ar>, 08-04-2011.
47. Leroy Federic, 2009, “Meat and meat products as functional foods”, disponible en: <http://www.physorg.com>, 25-03-2010.
48. Morales Ileana, 2008, “Vida útil de alimentos”, disponible en: <http://www.cita.ucr.ac.cr>, 23-05-2011
49. Muthukumarasamy, P. y Holley, R., 2007, “Survival of *Escherichia coli* O157:H7 in dry fermented sausages containing micro-encapsulated probiotic lactic acid bacteria”, disponible en: <http://www.sciencedirect.com>, 25-03-2010

50. Nestle, 2007, “¿Qué son los alimentos funcionales?”, disponible en: <http://www.nestle.es>, 24-04-2011.
51. OEA, 2003, “Laboratorio de control de calidad”, disponible en: <http://www.science.oas.org>, 23-05-2011.
52. Ordoñez Lorena, 2010, “Prebióticos y probióticos: Bacterias saludables”, disponible en: <http://www.dsalud.com>, 25-03-2010.
53. Pegg Ronald y Shahidi Fereidoon, 2000, “Nitrite curing of meat the N-nitrosamine problem and nitrite alternatives”, disponible en: <http://www.booku.com>, 25-03-2010.
54. Perrone Cesar, 2004, “Cámara de maduración”, disponible en: www.concytec.gob.pe, 08-04-2011.
55. Pineda Yuraima, De Aponte Fanny y Santander Jorge, 2004, “Aislamiento de *Clostridium perfringens* en un ternero de Venezuela”, disponible en: <http://www.revistas.luz.edu.ve>, 16-04-2011.
56. Posa Graciela; Ludemann Vanesa; Pollio María y Segura Juan, 2004, “Microflora autóctona de la superficie de embutidos secos fermentados”, disponible en: <http://www.alimentariaonline.com>, 24-05-2011
57. Prochile, 2007, “Perfil de mercado embutidos - Ecuador”, <http://www.prochile.cl>, 25-03-2010.
58. Quiroga Guillermo, 2002, “Importancia de los cultivos iniciadores”, disponible en: <http://www.virtual.unal.edu.co>, 25-03-2010.
59. Taranto María, 2005, “Alimentos funcionales probióticos”, disponible en: <http://www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar>, 25-03-2010.
60. Vargas Edgar, 2000, “Producción de microorganismos probióticos como aditivo para alimentos concentrados para ganado vacuno”, disponible en: <http://revistaing.uniandes.edu.co>, 25-03-2010.
61. Varela Gregorio, 2006, “Productos cárnicos funcionales (Vidalim)”, disponible en: <http://www.fen.org>, 25-03-2010.
62. Troxler, Steve, 2010, “*Escherichia coli*”, disponible en: <http://www.ncagr.gov>, 10-04-2011.

ANEXOS

ANEXO A

ANEXO A1

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS CATACIÓN

“Efecto del empleo de microorganismos probióticos (*Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*) en la elaboración de un producto cárnico madurado tipo salami”

Nombre: _____ Fecha: _____

INDICACIONES: Por favor deguste las muestras que se presentan y señale la aceptabilidad del atributo sensorial según la escala planteada.

Atributos	Escala					
Color	5	Muy intenso				
	4	Intenso				
	3	Característico				
	2	Poco intenso				
	1	Nada intenso				
Olor	5	Muy perceptible				
	4	Perceptible				
	3	Característico				
	2	Poco perceptible				
	1	Nada perceptible				
Sabor	5	Gusta mucho				
	4	Gusta				
	3	Ni gusta ni disgusta				
	2	Disgusta				
	1	Disgusta mucho				
Textura	5	Muy dura				
	4	Dura				
	3	Ni dura ni blanda				
	2	Blanda				
	1	Muy blanda				
Aceptabilidad	5	Agrada mucho				
	4	Agrada				
	3	Ni agrada ni desagrada				
	2	Desagrada				
	1	Desagrada mucho				

Observaciones:

MUCHAS GRACIAS.

DATOS EXPERIMENTALES

Tabla A1. Pesos (Kg) registrados de las muestras de salami

T	R	Tiempo (días)										
		0	0,5	1	2	5	8	12	15	19	22	25
a ₀ b ₀	1	0,2574	0,2465	0,2373	0,2256	0,2083	0,1965	0,1867	0,1828	0,1802	0,1785	0,1769
	2	0,2557	0,2455	0,2361	0,2242	0,2059	0,1938	0,1837	0,1796	0,1767	0,1748	0,1731
a ₀ b ₁	1	0,2419	0,2305	0,2214	0,2106	0,1926	0,1823	0,1739	0,1693	0,1666	0,1645	0,1626
	2	0,2271	0,2159	0,2066	0,1954	0,1781	0,1665	0,1572	0,1523	0,1494	0,1471	0,1450
a ₀ b ₂	1	0,2667	0,2594	0,2496	0,2373	0,2185	0,2064	0,1969	0,1919	0,1891	0,1870	0,1851
	2	0,2407	0,2321	0,2230	0,2109	0,1912	0,1793	0,1697	0,1644	0,1617	0,1595	0,1576
a ₁ b ₀	1	0,2348	0,2264	0,2164	0,2054	0,1883	0,1771	0,1688	0,1639	0,1611	0,1594	0,1581
	2	0,2262	0,2176	0,2070	0,1958	0,1780	0,1664	0,1577	0,1529	0,1502	0,1483	0,1466
a ₁ b ₁	1	0,2354	0,2265	0,2159	0,2054	0,1863	0,1748	0,1662	0,1615	0,1591	0,1579	0,1564
	2	0,2334	0,2240	0,2141	0,2030	0,1843	0,1721	0,1636	0,1587	0,1561	0,1544	0,1528
a ₁ b ₂	1	0,2539	0,2453	0,2350	0,2231	0,2041	0,1919	0,1834	0,1784	0,1761	0,1747	0,1734
	2	0,2436	0,2348	0,2252	0,2130	0,1944	0,1813	0,1729	0,1678	0,1653	0,1638	0,1622
a ₂ b ₀	1	0,2246	0,2153	0,2048	0,1936	0,1742	0,1616	0,1534	0,1489	0,1462	0,1446	0,1435
	2	0,2365	0,2272	0,2167	0,2055	0,1861	0,1735	0,1653	0,1608	0,1581	0,1563	0,1546
a ₂ b ₁	1	0,2276	0,2192	0,2094	0,1984	0,1792	0,1674	0,1589	0,1539	0,1515	0,1499	0,1488
	2	0,2249	0,2162	0,2063	0,1948	0,1764	0,1636	0,1550	0,1499	0,1470	0,1449	0,1430
a ₂ b ₂	1	0,2544	0,2448	0,2351	0,2232	0,2034	0,1922	0,1828	0,1782	0,1754	0,1738	0,1724
	2	0,2547	0,2441	0,2345	0,2231	0,2039	0,1915	0,1822	0,1769	0,1742	0,1720	0,1701

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

T = Tratamiento

R = Réplica

Tabla A2. Valores de pH registrados en las muestra de salami

Tratamiento	Réplica	Tiempo (días)										
		0	0,5	1	2	5	8	12	15	19	22	25
a₀b₀	1	6,61	6,07	5,39	5,31	5,24	5,17	5,15	5,13	5,11	5,08	5,08
	2	6,59	5,85	5,29	5,23	5,2	5,17	5,14	5,11	5,09	5,08	5,07
a₀b₁	1	6,62	5,97	5,35	5,29	5,25	5,18	5,13	5,1	5,07	5,02	5,02
	2	6,53	5,76	5,22	5,16	5,12	5,09	5,06	5,04	5,02	5,00	4,99
a₀b₂	1	6,62	5,89	5,29	5,21	5,15	5,1	5,09	5,06	5,01	4,96	4,96
	2	6,58	5,74	5,16	5,12	5,09	5,05	5,02	4,99	4,97	4,95	4,94
a₁b₀	1	6,65	5,91	5,35	5,29	5,25	5,21	5,18	5,15	5,12	5,11	5,11
	2	6,57	6,03	5,35	5,27	5,2	5,15	5,12	5,10	5,08	5,06	5,04
a₁b₁	1	6,61	5,84	5,3	5,25	5,21	5,18	5,14	5,10	5,06	5,04	5,03
	2	6,56	5,91	5,33	5,26	5,2	5,16	5,13	5,10	5,07	5,04	5,02
a₁b₂	1	6,63	5,79	5,21	5,16	5,11	5,06	5,04	5,02	5,01	4,98	4,97
	2	6,58	5,85	5,25	5,19	5,14	5,09	5,05	5,01	4,98	4,96	4,95
a₂b₀	1	6,6	5,89	5,34	5,25	5,18	5,14	5,1	5,05	5,03	4,99	4,95
	2	6,51	5,8	5,25	5,16	5,09	5,05	5,01	4,98	4,95	4,93	4,91
a₂b₁	1	6,63	5,78	5,3	5,21	5,15	5,11	5,07	5,04	4,98	4,93	4,90
	2	6,52	5,69	5,21	5,15	5,06	5,02	4,98	4,95	4,92	4,9	4,89
a₂b₂	1	6,65	5,81	5,15	5,08	5,02	4,98	4,95	4,92	4,89	4,86	4,83
	2	6,58	5,74	5,15	5,09	5,05	5,01	4,97	4,94	4,91	4,88	4,86

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla A3. Cantidad (ml) de NaOH 0.1 N empleados en la titulación en las muestra de salami

T	R	Tiempo (días)										
		0	0,5	1	2	5	8	12	15	19	22	25
a_0b_0	1	0,65	1,35	1,95	2,25	2,35	2,40	2,50	2,60	2,70	2,75	2,80
	2	0,60	1,30	1,90	2,20	2,30	2,40	2,50	2,60	2,70	2,75	2,80
a_0b_1	1	0,60	1,40	2,05	2,30	2,40	2,45	2,60	2,70	2,80	2,85	2,90
	2	0,65	1,45	2,15	2,35	2,45	2,55	2,65	2,75	2,85	2,90	2,95
a_0b_2	1	0,65	1,50	2,10	2,40	2,50	2,60	2,70	2,80	2,85	2,95	3,00
	2	0,70	1,50	2,15	2,45	2,55	2,65	2,75	2,85	2,90	2,95	3,05
a_1b_0	1	0,60	1,25	1,85	2,20	2,30	2,35	2,40	2,50	2,60	2,65	2,70
	2	0,70	1,30	1,90	2,25	2,35	2,40	2,45	2,55	2,65	2,70	2,80
a_1b_1	1	0,65	1,35	1,90	2,25	2,35	2,40	2,55	2,65	2,80	2,80	2,90
	2	0,70	1,35	1,95	2,30	2,35	2,45	2,55	2,65	2,75	2,80	2,90
a_1b_2	1	0,65	1,45	2,05	2,35	2,45	2,55	2,65	2,75	2,85	2,90	2,95
	2	0,65	1,50	2,10	2,40	2,50	2,60	2,70	2,80	2,90	2,95	3,05
a_2b_0	1	0,60	1,40	2,00	2,30	2,40	2,50	2,60	2,70	2,80	2,90	3,00
	2	0,70	1,45	2,05	2,35	2,45	2,55	2,65	2,75	2,85	2,95	3,00
a_2b_1	1	0,60	1,50	2,15	2,45	2,55	2,65	2,75	2,85	2,95	3,00	3,05
	2	0,70	1,50	2,15	2,45	2,55	2,65	2,75	2,85	2,95	3,00	3,05
a_2b_2	1	0,60	1,55	2,20	2,55	2,65	2,75	2,85	2,95	3,05	3,10	3,15
	2	0,60	1,50	2,15	2,50	2,60	2,70	2,80	2,90	3,00	3,05	3,10

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

T = Tratamiento

R = Réplica

Tabla A4. Valores de a_w registrados en las muestra de salami

T	R	Tiempo (días)										
		0	0,5	1	2	5	8	12	15	19	22	25
a_0b_0	1	0,995	0,993	0,992	0,991	0,988	0,974	0,951	0,912	0,891	0,875	0,861
	2	0,995	0,994	0,992	0,990	0,986	0,972	0,949	0,910	0,889	0,873	0,860
a_0b_1	1	0,996	0,994	0,993	0,991	0,989	0,975	0,953	0,911	0,893	0,876	0,864
	2	0,994	0,992	0,991	0,989	0,987	0,973	0,951	0,909	0,891	0,874	0,862
a_0b_2	1	0,995	0,992	0,992	0,991	0,987	0,975	0,952	0,912	0,894	0,878	0,867
	2	0,995	0,992	0,991	0,986	0,982	0,970	0,947	0,907	0,889	0,873	0,862
a_1b_0	1	0,995	0,993	0,992	0,992	0,987	0,976	0,952	0,914	0,892	0,876	0,863
	2	0,995	0,993	0,992	0,992	0,987	0,976	0,952	0,914	0,892	0,876	0,863
a_1b_1	1	0,996	0,994	0,993	0,990	0,987	0,976	0,954	0,913	0,894	0,876	0,862
	2	0,997	0,995	0,994	0,991	0,988	0,977	0,955	0,914	0,895	0,877	0,863
a_1b_2	1	0,995	0,993	0,992	0,991	0,987	0,975	0,951	0,914	0,892	0,874	0,863
	2	0,993	0,991	0,990	0,989	0,985	0,973	0,949	0,912	0,890	0,872	0,861
a_2b_0	1	0,996	0,993	0,993	0,990	0,987	0,973	0,950	0,911	0,890	0,874	0,860
	2	0,997	0,994	0,994	0,991	0,988	0,974	0,951	0,912	0,891	0,875	0,861
a_2b_1	1	0,996	0,994	0,993	0,991	0,988	0,976	0,954	0,916	0,893	0,875	0,863
	2	0,995	0,993	0,992	0,990	0,987	0,975	0,953	0,915	0,892	0,874	0,862
a_2b_2	1	0,996	0,994	0,993	0,991	0,987	0,974	0,952	0,913	0,894	0,876	0,864
	2	0,995	0,993	0,992	0,990	0,986	0,973	0,951	0,912	0,893	0,875	0,863

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

T = Tratamiento

R = Réplica

Tabla A5. Número de colonias de m/o starters registradas de las siembras microbiológicas en las muestra de salami

Tratamiento	Réplica	Tiempo (días)										
		0	0,5	1	2	5	8	12	15	19	22	25
Dilución		10 ⁻⁴		*	10 ⁻⁵							
a₀b₀	1	102	188	256	37	45	61	72	83	91	107	116
	2	115	205	31	42	51	79	80	92	104	122	147
a₀b₁	1	227	341	432	57	79	95	119	134	152	165	177
	2	231	354	47	61	78	99	122	137	155	168	179
a₀b₂	1	687	824	978	136	172	201	235	268	291	306	325
	2	703	840	115	144	176	215	241	279	296	312	329
a₁b₀	1	98	175	245	31	39	46	57	64	87	101	112
	2	112	180	31	43	61	75	89	112	131	156	198
a₁b₁	1	207	332	412	48	65	81	108	128	139	146	153
	2	211	325	42	51	69	85	112	131	142	149	155
a₁b₂	1	640	813	969	126	165	193	231	267	283	297	315
	2	648	821	116	143	182	214	252	281	302	314	333
a₂b₀	1	125	206	294	49	57	75	86	102	124	135	146
	2	163	215	33	51	60	78	89	107	131	149	166
a₂b₁	1	241	358	544	68	97	126	146	178	199	213	219
	2	243	357	56	76	103	136	153	185	201	220	221
a₂b₂	1	698	945	1245	187	236	285	312	345	377	394	416
	2	657	910	145	193	241	292	317	351	379	399	422

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

* = Para la Réplica 1 se empleó una dilución 10⁻⁴ y para la Réplica 2, 10⁻⁵

Tabla A6. Valoración en el salami mediante catación: Atributo Color

Catador	Réplica	Tratamientos								
		a_0b_0	a_0b_1	a_0b_2	a_1b_0	a_1b_1	a_1b_2	a_2b_0	a_2b_1	a_2b_2
1	1	3	3	3						
	2	4	3	3						
2	1				3	4	4			
	2				4	4	4			
3	1							4	3	3
	2							4	4	3
4	1	3			3			3		
	2	3			3			3		
5	1		3			5			3	
	2		4			4			3	
6	1			3			4			4
	2			3			3			4
7	1	4				3				3
	2	4				4				3
8	1		3				3	3		
	2		4				3	3		
9	1			3	4				3	
	2			3	4				3	
10	1	3					3		3	
	2	4					3		2	
11	1		4		3					4
	2		3		3					4
12	1			4		3		3		
	2			5		5		4		

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla A7. Valoración en el salami mediante catación: Atributo Olor

Catador	Réplica	Tratamientos								
		a_0b_0	a_0b_1	a_0b_2	a_1b_0	a_1b_1	a_1b_2	a_2b_0	a_2b_1	a_2b_2
1	1	5	3	4						
	2	4	3	3						
2	1				4	4	5			
	2				4	4	4			
3	1							4	4	4
	2							4	5	4
4	1	4			3			5		
	2	4			4			3		
5	1		4			5			5	
	2		4			5			4	
6	1			4			4			3
	2			4			4			4
7	1	4				3				3
	2	3				4				3
8	1		3				4	4		
	2		3				5	4		
9	1			3	4				4	
	2			4	5				4	
10	1	3					3		3	
	2	3					5		3	
11	1		5		4					3
	2		4		3					4
12	1			3		4		4		
	2			4		5		5		

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla A8. Valoración en el salami mediante catación: Atributo Sabor

Catador	Réplica	Tratamientos								
		a_0b_0	a_0b_1	a_0b_2	a_1b_0	a_1b_1	a_1b_2	a_2b_0	a_2b_1	a_2b_2
1	1	2	4	3						
	2	2	3	2						
2	1				3	3	3			
	2				3	3	3			
3	1							3	3	3
	2							3	3	3
4	1	3			4			4		
	2	3			4			3		
5	1		3			4			3	
	2		4			3			4	
6	1			4			4			3
	2			3			4			4
7	1	4				4				3
	2	4				3				4
8	1		4				3	4		
	2		4				3	3		
9	1			5	4				3	
	2			4	5				4	
10	1	2					3		4	
	2	3					4		5	
11	1		3		4					3
	2		4		5					4
12	1			3		4		3		
	2			3		4		4		

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla A9. Valoración en el salami mediante catación: Atributo Textura

Catador	Réplica	Tratamientos								
		a_0b_0	a_0b_1	a_0b_2	a_1b_0	a_1b_1	a_1b_2	a_2b_0	a_2b_1	a_2b_2
1	1	3	3	3						
	2	3	4	3						
2	1				3	3	4			
	2				4	4	4			
3	1							3	3	3
	2							4	4	3
4	1	3			4			3		
	2	4			3			3		
5	1		3			4			3	
	2		4			3			4	
6	1			4			4			3
	2			3			3			4
7	1	4				4				3
	2	3				3				3
8	1		3				4	3		
	2		3				4	4		
9	1			3	4				3	
	2			3	4				4	
10	1	4					3		4	
	2	5					3		4	
11	1		5		3					3
	2		4		3					4
12	1			3		3		3		
	2			3		3		4		

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla A10. Valoración en el salami mediante catación: Atributo Aceptabilidad

Catador	Réplica	Tratamientos								
		a_0b_0	a_0b_1	a_0b_2	a_1b_0	a_1b_1	a_1b_2	a_2b_0	a_2b_1	a_2b_2
1	1	2	3	2						
	2	2	2	2						
2	1				4	3	3			
	2				3	3	3			
3	1							3	3	3
	2							2	3	3
4	1	3			3			3		
	2	3			4			3		
5	1		4			4			2	
	2		4			4			3	
6	1			4			4			4
	2			3			4			4
7	1	5				4				3
	2	5				3				4
8	1		4				3	3		
	2		4				3	3		
9	1			5	3				4	
	2			4	3				4	
10	1	3					3		4	
	2	3					4		4	
11	1		3		3					3
	2		4		4					3
12	1			3		4		3		
	2			3		3		4		

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla A11. Valores de temperatura (T) y humedad relativa (HR) registrados durante el estufaje y secado

Tiempo (días)	T (° C)	HR (%)
Estufaje		
0	38	97
0.5	38	98
1	38	98
Secado		
2	15	93
5	16	88
8	15	85
12	16	83
15	15	80
19	15	79
22	15	78
25	16	78

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

ANEXO B

RESULTADOS

Tabla B1. Porcentajes de pérdida de peso de muestras de salami

T	R	Tiempo (días)										
		0	0,5	1	2	5	8	12	15	19	22	25
a ₀ b ₀	1	0,00	4,23	7,81	12,35	19,08	23,66	27,47	28,98	29,99	30,65	31,27
	2	0,00	3,99	7,67	12,32	19,48	24,21	28,16	29,76	30,90	31,64	32,30
a ₀ b ₁	1	0,00	4,71	8,47	12,94	20,38	24,64	28,11	30,01	31,13	32,00	32,78
	2	0,00	4,93	9,03	13,96	21,58	26,68	30,78	32,94	34,21	35,23	36,15
a ₀ b ₂	1	0,00	2,74	6,41	11,02	18,07	22,61	26,17	28,05	29,10	29,88	30,60
	2	0,00	3,57	7,35	12,38	20,57	25,51	29,50	31,70	32,82	33,73	34,52
a ₁ b ₀	1	0,00	3,58	7,84	12,52	19,80	24,57	28,11	30,20	31,39	32,11	32,67
	2	0,00	3,80	8,49	13,44	21,31	26,44	30,28	32,40	33,60	34,44	35,19
a ₁ b ₁	1	0,00	3,78	8,28	12,74	20,86	25,74	29,40	31,39	32,41	32,92	33,56
	2	0,00	4,03	8,27	13,02	21,04	26,26	29,91	32,01	33,12	33,85	34,53
a ₁ b ₂	1	0,00	3,39	7,44	12,13	19,61	24,42	27,77	29,74	30,64	31,19	31,71
	2	0,00	3,61	7,55	12,56	20,20	25,57	29,02	31,12	32,14	32,76	33,42
a ₂ b ₀	1	0,00	4,14	8,82	13,80	22,44	28,05	31,70	33,70	34,91	35,62	36,11
	2	0,00	3,93	8,37	13,11	21,31	26,64	30,11	32,01	33,15	33,91	34,63
a ₂ b ₁	1	0,00	3,69	8,00	12,83	21,27	26,45	30,18	32,38	33,44	34,14	34,62
	2	0,00	3,87	8,27	13,38	21,57	27,26	31,08	33,35	34,64	35,57	36,42
a ₂ b ₂	1	0,00	3,77	7,59	12,26	20,05	24,45	28,14	29,95	31,05	31,68	32,23
	2	0,00	4,16	7,93	12,41	19,95	24,81	28,46	30,55	31,61	32,47	33,22

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

T = Tratamiento

R = Réplica

Tabla B2. Promedio de los porcentajes de pérdida de peso determinados para las muestra de salami

Tratamiento	Tiempo (días)										
	0	0,5	1	2	5	8	12	15	19	22	25
a ₀ b ₀	0,00	4,11	7,74	12,34	19,28	23,93	27,81	29,37	30,44	31,15	31,79
a ₀ b ₁	0,00	4,82	8,75	13,45	20,98	25,66	29,45	31,47	32,67	33,61	34,47
a ₀ b ₂	0,00	3,16	6,88	11,70	19,32	24,06	27,83	29,87	30,96	31,81	32,56
a ₁ b ₀	0,00	3,69	8,16	12,98	20,56	25,51	29,20	31,30	32,49	33,28	33,93
a ₁ b ₁	0,00	3,90	8,28	12,88	20,95	26,00	29,65	31,70	32,77	33,39	34,05
a ₁ b ₂	0,00	3,50	7,50	12,35	19,91	25,00	28,39	30,43	31,39	31,98	32,56
a ₂ b ₀	0,00	4,04	8,59	13,46	21,88	27,34	30,90	32,86	34,03	34,77	35,37
a ₂ b ₁	0,00	3,78	8,13	13,11	21,42	26,85	30,63	32,86	34,04	34,86	35,52
a ₂ b ₂	0,00	3,97	7,76	12,34	20,00	24,63	28,30	30,25	31,33	32,08	32,72

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla B3. Promedio de los valores de pH registrados en muestras de salami

Tratamiento	Tiempo (días)										
	0	0,5	1	2	5	8	12	15	19	22	25
a₀b₀	6,60	5,96	5,34	5,27	5,22	5,17	5,15	5,12	5,10	5,08	5,08
a₀b₁	6,58	5,87	5,29	5,23	5,19	5,14	5,10	5,07	5,05	5,01	5,01
a₀b₂	6,60	5,82	5,23	5,17	5,12	5,08	5,06	5,03	4,99	4,96	4,95
a₁b₀	6,61	5,97	5,35	5,28	5,23	5,18	5,15	5,13	5,10	5,09	5,08
a₁b₁	6,59	5,88	5,32	5,26	5,21	5,17	5,14	5,10	5,07	5,04	5,03
a₁b₂	6,61	5,82	5,23	5,18	5,13	5,08	5,05	5,02	5,00	4,97	4,96
a₂b₀	6,56	5,85	5,30	5,21	5,14	5,10	5,06	5,02	4,99	4,96	4,93
a₂b₁	6,58	5,74	5,26	5,18	5,11	5,07	5,03	5,00	4,95	4,92	4,90
a₂b₂	6,62	5,78	5,15	5,09	5,04	5,00	4,96	4,93	4,90	4,87	4,85

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla B4. Valores de acidez (% ácido láctico) determinados en muestras de salami

T	R	Tiempo (días)										
		0	0,5	1	2	5	8	12	15	19	22	25
a₀b₀	1	0,59	1,22	1,76	2,03	2,12	2,16	2,25	2,34	2,43	2,48	2,52
	2	0,54	1,17	1,71	1,98	2,07	2,16	2,25	2,34	2,43	2,48	2,52
a₀b₁	1	0,54	1,26	1,85	2,07	2,16	2,21	2,34	2,43	2,52	2,57	2,61
	2	0,59	1,31	1,94	2,12	2,21	2,30	2,39	2,48	2,57	2,61	2,66
a₀b₂	1	0,59	1,35	1,89	2,16	2,25	2,34	2,43	2,52	2,57	2,66	2,70
	2	0,63	1,35	1,94	2,21	2,30	2,39	2,48	2,57	2,61	2,66	2,75
a₁b₀	1	0,54	1,13	1,67	1,98	2,07	2,12	2,16	2,25	2,34	2,39	2,43
	2	0,63	1,17	1,71	2,03	2,12	2,16	2,21	2,30	2,39	2,43	2,52
a₁b₁	1	0,59	1,22	1,71	2,03	2,12	2,16	2,30	2,39	2,52	2,52	2,61
	2	0,63	1,22	1,76	2,07	2,12	2,21	2,30	2,39	2,48	2,52	2,61
a₁b₂	1	0,59	1,31	1,85	2,12	2,21	2,30	2,39	2,48	2,57	2,61	2,66
	2	0,59	1,35	1,89	2,16	2,25	2,34	2,43	2,52	2,61	2,66	2,75
a₂b₀	1	0,54	1,26	1,80	2,07	2,16	2,25	2,34	2,43	2,52	2,61	2,70
	2	0,63	1,31	1,85	2,12	2,21	2,30	2,39	2,48	2,57	2,66	2,70
a₂b₁	1	0,54	1,35	1,94	2,21	2,30	2,39	2,48	2,57	2,66	2,70	2,75
	2	0,63	1,35	1,94	2,21	2,30	2,39	2,48	2,57	2,66	2,70	2,75
a₂b₂	1	0,54	1,40	1,98	2,30	2,39	2,48	2,57	2,66	2,75	2,79	2,84
	2	0,54	1,35	1,94	2,25	2,34	2,43	2,52	2,61	2,70	2,75	2,79

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

T = Tratamiento

R = Réplica

Tabla B5. Valores promedio de acidez (% ácido láctico) determinados en muestras de salami

Tratamiento	Tiempo (días)										
	0	0,5	1	2	5	8	12	15	19	22	25
a₀b₀	0,56	1,19	1,73	2,00	2,09	2,16	2,25	2,34	2,43	2,48	2,52
a₀b₁	0,56	1,28	1,89	2,09	2,18	2,25	2,36	2,45	2,54	2,59	2,63
a₀b₂	0,61	1,35	1,91	2,18	2,27	2,36	2,45	2,54	2,59	2,66	2,72
a₁b₀	0,59	1,15	1,69	2,00	2,09	2,14	2,18	2,27	2,36	2,41	2,48
a₁b₁	0,61	1,22	1,73	2,05	2,12	2,18	2,30	2,39	2,50	2,52	2,61
a₁b₂	0,59	1,33	1,87	2,14	2,23	2,32	2,41	2,50	2,59	2,63	2,70
a₂b₀	0,59	1,28	1,82	2,09	2,18	2,27	2,36	2,45	2,54	2,63	2,70
a₂b₁	0,59	1,35	1,94	2,21	2,30	2,39	2,48	2,57	2,66	2,70	2,75
a₂b₂	0,54	1,37	1,96	2,27	2,36	2,45	2,54	2,63	2,72	2,77	2,81

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla B6. Promedios de los valores de a_w de los tratamientos de salami

Tratamiento	Tiempo (días)										
	0	0,5	1	2	5	8	12	15	19	22	25
a₀b₀	0,995	0,994	0,992	0,991	0,987	0,973	0,950	0,911	0,890	0,874	0,861
a₀b₁	0,995	0,993	0,992	0,990	0,988	0,974	0,952	0,910	0,892	0,875	0,863
a₀b₂	0,995	0,992	0,992	0,989	0,985	0,973	0,950	0,910	0,892	0,876	0,865
a₁b₀	0,995	0,993	0,992	0,992	0,987	0,976	0,952	0,914	0,892	0,876	0,863
a₁b₁	0,997	0,995	0,994	0,991	0,988	0,977	0,955	0,914	0,895	0,877	0,863
a₁b₂	0,994	0,992	0,991	0,990	0,986	0,974	0,950	0,913	0,891	0,873	0,862
a₂b₀	0,997	0,994	0,994	0,991	0,988	0,974	0,951	0,912	0,891	0,875	0,861
a₂b₁	0,996	0,994	0,993	0,991	0,988	0,976	0,954	0,916	0,893	0,875	0,863
a₂b₂	0,996	0,994	0,993	0,991	0,987	0,974	0,952	0,913	0,894	0,876	0,864

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla B7. ufc/g determinadas de las siembras microbiológicas en muestra de salami

T	R	Tiempo (días)										
		0	0,5	1	2	5	8	12	15	19	22	25
a ₀ b ₀	1	1,02 E7	1,88 E7	2,56 E7	3,70 E7	4,50 E7	6,10 E7	7,20 E7	8,30 E7	9,10 E7	1,07 E8	1,16 E8
	2	1,15 E7	2,05 E7	3,10 E7	4,20 E7	5,10 E7	7,90 E7	8,00 E7	9,20 E7	1,04 E8	1,22 E8	1,47 E8
a ₀ b ₁	1	2,27 E7	3,41 E7	4,32 E7	5,70 E7	7,90 E7	9,50 E7	1,19 E8	1,34 E8	1,52 E8	1,65 E8	1,77 E8
	2	2,31 E7	3,54 E7	4,70 E7	6,10 E7	7,80 E7	9,90 E7	1,22 E8	1,37 E8	1,55 E8	1,68 E8	1,79 E8
a ₀ b ₂	1	6,87 E7	8,24 E7	9,78 E7	1,36 E8	1,72 E8	2,01 E8	2,35 E8	2,68 E8	2,91 E8	3,06 E8	3,25 E8
	2	7,03 E7	8,40 E7	1,15 E8	1,44 E8	1,76 E8	2,15 E8	2,41 E8	2,79 E8	2,96 E8	3,12 E8	3,29 E8
a ₁ b ₀	1	9,80 E6	1,75 E7	2,45 E7	3,10 E7	3,90 E7	4,60 E7	5,70 E7	6,40 E7	8,70 E7	1,01 E8	1,12 E8
	2	1,12 E7	1,80 E7	3,10 E7	4,30 E7	6,10 E7	7,50 E7	8,90 E7	1,12 E8	1,31 E8	1,56 E8	1,98 E8
a ₁ b ₁	1	2,07 E7	3,32 E7	4,12 E7	4,80 E7	6,50 E7	8,10 E7	1,08 E8	1,28 E8	1,39 E8	1,46 E8	1,53 E8
	2	2,11 E7	3,25 E7	4,20 E7	5,10 E7	6,90 E7	8,50 E7	1,12 E8	1,31 E8	1,42 E8	1,49 E8	1,55 E8
a ₁ b ₂	1	6,40 E7	8,13 E7	9,69 E7	1,26 E8	1,65 E8	1,93 E8	2,31 E8	2,67 E8	2,83 E8	2,97 E8	3,15 E8
	2	6,48 E7	8,21 E7	1,16 E8	1,43 E8	1,82 E8	2,14 E8	2,52 E8	2,81 E8	3,02 E8	3,14 E8	3,33 E8
a ₂ b ₀	1	1,25 E7	2,06 E7	2,94 E7	4,90 E7	5,70 E7	7,50 E7	8,60 E7	1,02 E8	1,24 E8	1,35 E8	1,46 E8
	2	1,63 E7	2,15 E7	3,30 E7	5,10 E7	6,00 E7	7,80 E7	8,90 E7	1,07 E8	1,31 E8	1,49 E8	1,66 E8
a ₂ b ₁	1	2,41 E7	3,58 E7	5,44 E7	6,80 E7	9,70 E7	1,26 E8	1,46 E8	1,78 E8	1,99 E8	2,13 E8	2,19 E8
	2	2,43 E7	3,57 E7	5,60 E7	7,60 E7	1,03 E8	1,36 E8	1,53 E8	1,85 E8	2,01 E8	2,20 E8	2,21 E8
a ₂ b ₂	1	6,98 E7	9,45 E7	1,25 E8	1,87 E8	2,36 E8	2,85 E8	3,12 E8	3,45 E8	3,77 E8	3,94 E8	4,16 E8
	2	6,57 E7	9,10 E7	1,45 E8	1,93 E8	2,41 E8	2,92 E8	3,17 E8	3,51 E8	3,79 E8	3,99 E8	4,22 E8

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

T = Tratamiento

R = Réplica

Tabla B8. Promedio de las ufc/g determinadas de las siembras microbiológicas en las muestra de salami

Tiempo (días)	Tratamiento								
	a ₀ b ₀	a ₀ b ₁	a ₀ b ₂	a ₁ b ₀	a ₁ b ₁	a ₁ b ₂	a ₂ b ₀	a ₂ b ₁	a ₂ b ₂
0	1,09E7	2,29E7	6,95E7	1,05E7	2,09E7	6,44E7	1,44E7	2,42E7	6,78E7
0,5	1,97E7	3,48E7	8,32E7	1,78E7	3,29E7	8,17E7	2,11E7	3,58E7	9,28E7
1	2,83E7	4,51E7	1,06E8	2,78E7	4,16E7	1,06E8	3,12E7	5,52E7	1,35E8
2	3,95E7	5,90E7	1,40E8	3,70E7	4,95E7	1,35E8	5,00E7	7,20E7	1,90E8
5	4,80E7	7,85E7	1,74E8	5,00E7	6,70E7	1,74E8	5,85E7	1,00E8	2,39E8
8	7,00E7	9,70E7	2,08E8	6,05E7	8,30E7	2,04E8	7,65E7	1,31E8	2,89E8
12	7,60E7	1,21E8	2,38E8	7,30E7	1,10E8	2,42E8	8,75E7	1,50E8	3,15E8
15	8,75E7	1,36E8	2,74E8	8,80E7	1,30E8	2,74E8	1,05E8	1,82E8	3,48E8
19	9,75E7	1,54E8	2,94E8	1,09E8	1,41E8	2,93E8	1,28E8	2,00E8	3,78E8
22	1,15E8	1,67E8	3,09E8	1,29E8	1,48E8	3,06E8	1,42E8	2,17E8	3,97E8
25	1,32E8	1,78E8	3,27E8	1,55E8	1,54E8	3,24E8	1,56E8	2,20E8	4,19E8

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla B9. Promedio de la valoración en el salami mediante catación: Atributo Color

Catador	Tratamiento								
	a ₀ b ₀	a ₀ b ₁	a ₀ b ₂	a ₁ b ₀	a ₁ b ₁	a ₁ b ₂	a ₂ b ₀	a ₂ b ₁	a ₂ b ₂
1	3,5	3	3						
2				3,5	4	4			
3							4	3,5	3
4	3			3			3		
5		3,5			4,5			3	
6			3			3,5			4
7	4				3,5				3
8		3,5				3	3		
9			3	4				3	
10	3,5					3		2,5	
11		3,5		3					4
12			4,5		4		3,5		

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla B10. Promedio de la valoración en el salami mediante catación: Atributo Olor

Catador	Tratamiento								
	a_0b_0	a_0b_1	a_0b_2	a_1b_0	a_1b_1	a_1b_2	a_2b_0	a_2b_1	a_2b_2
1	4,5	3	3,5						
2				4	4	4,5			
3							4	4,5	4
4	4			3,5			4		
5		4			5			4,5	
6			4			4			3,5
7	3,5				3,5				3
8		3				4,5	4		
9			3,5	4,5				4	
10	3					4		3	
11		4,5		3,5					3,5
12			3,5		4,5		4,5		

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla B11. Promedio de la valoración en el salami mediante catación: Atributo Sabor

Catador	Tratamiento								
	a_0b_0	a_0b_1	a_0b_2	a_1b_0	a_1b_1	a_1b_2	a_2b_0	a_2b_1	a_2b_2
1	2	3,5	2,5						
2				3	3	3			
3							3	3	3
4	3			4			3,5		
5		3,5			3,5			3,5	
6			3,5			4			3,5
7	4				3,5				3,5
8		4				3	3,5		
9			4,5	4,5				3,5	
10	2,5					3,5		4,5	
11		3,5		4,5					3,5
12			3		4		3,5		

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla B12. Promedio de la valoración en el salami mediante catación: Atributo Textura

Catador	Tratamiento								
	a_0b_0	a_0b_1	a_0b_2	a_1b_0	a_1b_1	a_1b_2	a_2b_0	a_2b_1	a_2b_2
1	3	3,5	3						
2				3,5	3,5	4			
3							3,5	3,5	3
4	3,5			3,5			3		
5		3,5			3,5			3,5	
6			3,5			3,5			3,5
7	3,5				3,5				3
8		3				4	3,5		
9			3	4				3,5	
10	4,5					3		4	
11		4,5		3					3,5
12			3		3		3,5		

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla B13. Promedio de la valoración en el salami mediante catación: Atributo Aceptabilidad

Catador	Tratamiento								
	a_0b_0	a_0b_1	a_0b_2	a_1b_0	a_1b_1	a_1b_2	a_2b_0	a_2b_1	a_2b_2
1	2	2,5	2						
2				3,5	3	3			
3							2,5	3	3
4	3			3,5			3		
5		4			4			2,5	
6			3,5			4			4
7	5				3,5				3,5
8		4				3	3		
9			4,5	3				4	
10	3					3,5		4	
11		3,5		3,5					3
12			3		3,5		3,5		

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Diseño Experimental A x B

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + R_k + E_{ijk}$$

Hipótesis Nula (Ho)

Ho: $A_i = 0$

Ho: $B_j = 0$

Ho: $(AB)_{ij} = 0$

Hipótesis Alternativa (Hi)

Hi: $A_i \neq 0$

Hi: $B_j \neq 0$

Hi: $(AB)_{ij} \neq 0$

pH

Tabla B14. Análisis de varianza para los valores de pH

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Valor de F	Probabilidad
A:Microorganismo	0,0628	2	0,0314	86,62	0,0000
B:Concentración	0,0352	2	0,0176	48,60	0,0000
C:Réplica	0,0018	1	0,0018	4,97	0,0564
Interacción AB	0,0011	4	0,00027	0,74	0,5930
Error	0,0029	8	0,00037		
Total	0,1038	17			

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

A un nivel de confianza del 95% se rechazan las hipótesis nulas de los efectos de los factores A y B; se acepta la hipótesis nula del efecto combinado de los mismos.

$$DMS_{Tukey} = q \sqrt{\frac{CME}{n}}$$

Dónde:

DMS_{Tukey} = Diferencia Mínima Significativa

q = Valor de amplitud estudentizada

CME = Cuadrado medio del Error

n = Número de valores promedios

$$q_{(0,05;3;8)} = 4,04; \text{ CME} = 0,00037; n = 6$$

$$DMS_{Tukey} = 0,03140$$

Tabla B15. Medias aritméticas de las pruebas experimentales (Prueba de Tukey) para el Factor A: Tipo de Microorganismo. Análisis de pH.

		a₂	a₀	a₁
		4,89	5,01	5,02
a₂	4,89	0	0,12*	0,13*
a₀	5,01		0	0,01
a₁	5,02			0

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

* = Diferencia significativa

Tabla B16. Medias aritméticas de las pruebas experimentales (Prueba de Tukey) para el Factor B: Concentración del cultivo. Análisis de pH.

		b₂	b₁	b₀
		4,92	4,98	5,03
b₂	4,92	0	0,057*	0,108*
b₁	4,98		0	0,052*
b₀	5,03			0

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

* = Diferencia significativa

Acidez titulable (% ácido láctico)

Tabla B17. Análisis de varianza para los valores de acidez

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Valor de F	Probabilidad
A:Microorganismo	0,10081	2	0,05041	62,90	0,0000
B:Concentración	0,08031	2	0,04016	50,11	0,0000
C:Réplica	0,00294	1	0,00294	3,67	0,0918
Interacción AB	0,00882	4	0,00221	2,75	0,1040
Error	0,00641	8	0,00080		
Total	0,19929	17			

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

A un nivel de confianza del 95% se rechazan las hipótesis nulas de los efectos de los factores A y B; se acepta la hipótesis nula del efecto combinado e los mismos.

$$DMS_{Tukey} = q \sqrt{\frac{CME}{n}}$$

$$q_{(0,05;3;8)} = 4,04; CME = 0,000801389; n = 6$$

$$DMS_{Tukey} = 0,05321$$

Tabla B18. Medias aritméticas de las pruebas experimentales (Prueba de Tukey) para el Factor A: Tipo de Microorganismo. Análisis de acidez.

		a₁	a₀	a₂
		2,595	2,625	2,7525
a₁	2,595	0	0,03	0,1575*
a₀	2,625		0	0,13*
a₂	2,7525			0

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

* = Diferencia significativa

Tabla B19. Medias aritméticas de las pruebas experimentales (Prueba de Tukey) para el Factor B: Concentración del cultivo. Análisis de acidez.

		b₀	b₁	b₂
		2,57	2,66	2,75
b₀	2,57	0,00	0,098*	0,180*
b₁	2,66		0,00	0,083*
b₂	2,75			0,00

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

* = Diferencia significativa

Actividad de agua (a_w)

Tabla B20. Análisis de varianza para los valores de a_w

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Valor de F	Probabilidad
A:Microorganismo	0,0000103	2	0,00000516	2,95	0,1096
B:Concentración	0,00000133	2	6,66667E-7	0,38	0,6950
C:Réplica	0,0000045	1	0,0000045	2,57	0,1475
Interacción AB	0,0000123	4	0,00000308	1,76	0,2296
Error	0,000014	8	0,00000175		
Total	0,0000425	17			

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

A un nivel de confianza del 95% se aceptan las hipótesis nulas de los efectos de los factores A, B y del efecto combinado de los mismos.

Desarrollo de los cultivos starters (ufc/g)

Tabla B21. Análisis de varianza para los valores de ufc/g

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Valor de F	Probabilidad
A:Microorganismo	1,14174E16	2	5,70872E15	15,09	0,0018
B:Concentración	1,49793E17	2	7,48967E16	203,25	0,0000
C:Réplica	1,6245E15	1	1,6245E15	4,41	0,0690
Interacción AB	5,48089E15	4	1,37022E15	3,72	0,0539
Error	2,948E15	8	3,685E14		
Total	1,71264E17	17			

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

A un nivel de confianza del 95% se rechazan las hipótesis nulas de los efectos de los factores A y B; se acepta la hipótesis nula del efecto combinado de los mismos.

$$DMS_{Tukey} = q \sqrt{\frac{CME}{n}}$$

$$q_{(0,05;3;8)} = 4,04; CME = 3,685E14; n = 6$$

$$DMS_{Tukey} = 3,166E7$$

Tabla B22. Medias aritméticas de las pruebas experimentales (Prueba de Tukey) para el Factor A: Tipo de Microorganismo. Análisis de ufc/g

		a₁	a₀	a₂
		2,110E8	2,122E8	2,650E8
a₁	2,110E8	0	1,167E6	5,400E7*
a₀	2,122E8		0	5,283E7*
a₂	2,650E8			0

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

* = Diferencia significativa

Tabla B23. Medias aritméticas de las pruebas experimentales (Prueba de Tukey) para el Factor B: Concentración del cultivo. Análisis de ufc/g

		b₀	b₁	b₂
		1,475E8	1,840E8	3,567E8
b₀	1,475E8	0	3,650E7*	2,092E8*
b₁	1,840E8		0	1,727E8*
b₂	3,567E8			0

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

* = Diferencia significativa

Diseño Experimental de Bloques Incompletos

$$Y_{ij} = \mu + T_i + B_j + E_{ij}$$

Pruebas de Análisis Sensorial

Hipótesis Nula (H₀)

$$H_0: T_1 = T_2 = T_3 = T_4 = T_5 = T_6 = T_7 = T_8 = T_9 = 0$$

Hipótesis Alternativa (H_i)

$$H_i: T_1 \neq T_2 \neq T_3 \neq T_4 \neq T_5 \neq T_6 \neq T_7 \neq T_8 \neq T_9 \neq 0$$

Tabla B24. Análisis de varianza para el Atributo Color

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Valor de F	Valor de F - tablas
Tratamientos	1,77778	8	0,22222	1	2,59109
Catadores	3,24305	11	0,29482	1,32670	2,45636
Error	3,55556	16	0,22222		
Total	8,57639	35			

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

A un nivel de confianza del 95% se aceptan las hipótesis nulas de los efectos de los tratamientos y de los catadores.

Tabla B25. Análisis de varianza para el Atributo Olor

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Valor de F	Valor de F – tablas
Tratamientos	3,20371	8	0,40046	2,1625	2,59109
Catadores	3,88889	11	0,35353	1,90909	2,45636
Error	2,96296	16	0,18518		
Total	10,05556	35			

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

A un nivel de confianza del 95% se aceptan las hipótesis nulas de los efectos de los tratamientos y de los catadores.

Tabla B26. Análisis de varianza para el Atributo Sabor

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Valor de F	Valor de F – tablas
Tratamientos	2,51852	8	0,31481	1,32038	2,59109
Catadores	5,35416	11	0,48674	2,04148	2,45637
Error	3,81481	16	0,23842		
Total	11,6875	35			

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

A un nivel de confianza del 95% se aceptan las hipótesis nulas de los efectos de los tratamientos y de los catadores.

Tabla B27. Análisis de varianza para el Atributo Textura

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Valor de F	Valor de F – tablas
Tratamientos	1,05556	8	0,13194	0,61290	2,59109
Catadores	1,38889	11	0,12626	0,58651	2,45637
Error	3,44444	16	0,21528		
Total	5,88889	35			

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

A un nivel de confianza del 95% se aceptan las hipótesis nulas de los efectos de los tratamientos y de los catadores.

Tabla B28. Análisis de varianza para el Atributo Aceptabilidad

Fuente de Variación	Suma de Cuadrados	Grados de Libertad	Cuadrados Medios	Valor de F	Valor de F – tablas
Tratamientos	1,222	8,000	0,153	0,463	2,591
Catadores	8,000	11,000	0,727	2,205	2,456
Error	5,278	16,000	0,330		
Total	14,500	35,000			

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

A un nivel de confianza del 95% se aceptan las hipótesis nulas de los efectos de los tratamientos y de los catadores.

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Tabla B29. Resultados microbiológicos. Identificación de *Staphylococcus aureus*

Tratamiento	Unidad	Resultado	Requisito	Referencia
a₀b₀	ufc/g	< 10	1x10 ²	NTE INEN 1338:2010
a₀b₁	ufc/g	< 10	1x10 ²	NTE INEN 1338:2010
a₀b₂	ufc/g	< 10	1x10 ²	NTE INEN 1338:2010
a₁b₀	ufc/g	< 10	1x10 ²	NTE INEN 1338:2010
a₁b₁	ufc/g	< 10	1x10 ²	NTE INEN 1338:2010
a₁b₂	ufc/g	< 10	1x10 ²	NTE INEN 1338:2010
a₂b₀	ufc/g	< 10	1x10 ²	NTE INEN 1338:2010
a₂b₁	ufc/g	< 10	1x10 ²	NTE INEN 1338:2010
a₂b₂	ufc/g	< 10	1x10 ²	NTE INEN 1338:2010

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla B30. Resultados microbiológicos. Identificación de *Clostridium perfringens*

Tratamiento	Unidad	Resultado	Requisito	Referencia
a₀b₀	ufc/g	< 10	1x10 ³	NTE INEN 1338:2010
a₀b₁	ufc/g	< 10	1x10 ³	NTE INEN 1338:2010
a₀b₂	ufc/g	< 10	1x10 ³	NTE INEN 1338:2010
a₁b₀	ufc/g	< 10	1x10 ³	NTE INEN 1338:2010
a₁b₁	ufc/g	< 10	1x10 ³	NTE INEN 1338:2010
a₁b₂	ufc/g	< 10	1x10 ³	NTE INEN 1338:2010
a₂b₀	ufc/g	< 10	1x10 ³	NTE INEN 1338:2010
a₂b₁	ufc/g	< 10	1x10 ³	NTE INEN 1338:2010
a₂b₂	ufc/g	< 10	1x10 ³	NTE INEN 1338:2010

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla B31. Resultados microbiológicos. Identificación de *Salmonella*

Tratamiento	Unidad	Resultado	Requisito	Referencia
a₀b₀	Aus/Pres	Ausencia	Ausencia	NTE INEN 1338:2010
a₀b₁	Aus/Pres	Ausencia	Ausencia	NTE INEN 1338:2010
a₀b₂	Aus/Pres	Ausencia	Ausencia	NTE INEN 1338:2010
a₁b₀	Aus/Pres	Ausencia	Ausencia	NTE INEN 1338:2010
a₁b₁	Aus/Pres	Ausencia	Ausencia	NTE INEN 1338:2010
a₁b₂	Aus/Pres	Ausencia	Ausencia	NTE INEN 1338:2010
a₂b₀	Aus/Pres	Ausencia	Ausencia	NTE INEN 1338:2010
a₂b₁	Aus/Pres	Ausencia	Ausencia	NTE INEN 1338:2010
a₂b₂	Aus/Pres	Ausencia	Ausencia	NTE INEN 1338:2010

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

* Aus/Pres = Ausencia/Presencia

Tabla B32. Resultados microbiológicos. Identificación de Coliformes totales /*Escherichia coli*

Tratamiento	Unidad	Resultado	Requisito (ufc/g)	Referencia
a₀b₀	Aus/Pres	Ausencia	1x10 ²	NTE INEN 1343:96
a₀b₁	Aus/Pres	Ausencia	1x10 ²	NTE INEN 1343:96
a₀b₂	Aus/Pres	Ausencia	1x10 ²	NTE INEN 1343:96
a₁b₀	Aus/Pres	Ausencia	1x10 ²	NTE INEN 1343:96
a₁b₁	Aus/Pres	Ausencia	1x10 ²	NTE INEN 1343:96
a₁b₂	Aus/Pres	Ausencia	1x10 ²	NTE INEN 1343:96
a₂b₀	Aus/Pres	Ausencia	1x10 ²	NTE INEN 1343:96
a₂b₁	Aus/Pres	Ausencia	1x10 ²	NTE INEN 1343:96
a₂b₂	Aus/Pres	Ausencia	1x10 ²	NTE INEN 1343:96

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

* Aus/Pres = Ausencia/Presencia

ANÁLISIS DE COSTOS

Tabla B33. Materiales directos e indirectos

Materiales	Unidad	Cantidad	Precio Unitario (\$)	Precio Total (\$)
Carne de res	Kg	1,20	4,00	4,80
Carne de cerdo	Kg	1,20	4,40	5,28
Grasa	Kg	0,60	3,00	1,80
Condimentos	Kg	0,18	0,10	1,80
Químicos	g	1,05	0,01	0,01
Tripa de fibrosa	m	2,30	1,20	2,76
Inoculo (a ₂ b ₀)	g	0,03	7,50	0,23
Inoculo (a ₂ b ₁)	g	0,15	7,50	1,13
TOTAL (a₂b₀) (\$)				16,68
TOTAL (a₂b₁) (\$)				17,58

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla B34. Equipos y utensilios (Tratamientos a₂b₀ y a₂b₁)

Equipo	Costo (\$)	Vida Útil (años)	Costo Anual (\$)	Costo Día (\$)	Costo Hora (\$)	Horas uso (h)	Costo uso (\$)
Balanza 10 Kg.	53	10	5,30	0,02	0,00	0,50	0,00
Balanza de 25 Kg.	100	10	10,00	0,04	0,00	0,66	0,00
Cuchillos de acero Inoxidable	24	5	4,80	0,02	0,00	0,60	0,00
Molino # 22	745	10	74,50	0,28	0,03	0,75	0,03
Embutidora 9 lt.	1136	10	113,60	0,42	0,05	1,00	0,05
Piola de amarre	15	5	3,00	0,01	0,00	0,66	0,00
Cocina industrial doble quemador	60	10	6,00	0,02	0,00	0,33	0,00
Quemador industrial para horno	35	5	7,00	0,03	0,00	0,33	0,00
Tinas grandes	20	5	4,00	0,01	0,00	1,00	0,00
Utensilios	126	5	25,20	0,09	0,01	0,66	0,01
Congelador	1200	10	120,00	0,44	0,06	0,75	0,04
Refrigerador	1200	10	120,00	0,44	0,06	0,75	0,04
Horno Ahumador (Construcción)	2000	25	80,00	0,30	0,04	24,0	0,89
Cámara de Maduración (Construcción)	2000	25	80,00	0,30	0,04	264	9,78
TOTAL(\$)							10,85

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla B35. Suministros (Tratamientos a_2b_0 y a_2b_1)

Servicio	Unidad	Consumo	Valor Unitario (\$)	Valor Total (\$)
Agua	m3	3	0,01	0,03
Luz	Kw-h	12,5	0,13	1,63
Gas	Kg	3	0,6	1,80
			TOTAL (\$)	3,46

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla B36. Personal (Tratamientos a_2b_0 y a_2b_1)

Personas	Sueldo (\$)	Costo Día (\$)	Costo Hora (\$)	Horas empleadas (h)	Total (\$)
Obrero	280,00	14,00	1,75	3,00	5,25
Obrero	280,00	14,00	1,75	3,00	5,25
Técnico	400,00	20,00	2,50	1,00	2,50
Secretaria	300,00	15,00	1,88	0,50	0,94
Gerente	600,00	30,00	3,75	0,50	1,88
				TOTAL(\$)	15,81

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla B37. Inversión estimada para el procesamiento de Salami

Capital de Trabajo	Valor (\$)
Materiales Directos e Indirectos (a_2b_0)	16,87
Materiales Directos e Indirectos (a_2b_1)	10,85
Equipos y Utensilios	3,46
Suministros	15,81
Personal	16,87
a_2b_0	
TOTAL	46,98
Capacidad de producción por parada (Kg)	3,18
COSTO UNITARIO POR 1 Kg.	14,77
Utilidad 20%	2,95
PRECIO DE VENTA POR 1 Kg.	17,73
PRECIO DE VENTA POR 250 g.	4,43
a_2b_1	
TOTAL	47,69
Capacidad de producción por parada (Kg)	3,18
COSTO UNITARIO POR 1 Kg.	15,00
Utilidad 20%	3,00
PRECIO DE VENTA POR 1 Kg.	18,00
PRECIO DE VENTA POR 250 g.	4,50

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla B38. Valores de ufc/g obtenidos del análisis microbiológico del cultivo starter (45 días de almacenamiento) – Dilución 10^{-3}

Tratamiento	Número de colonias	ufc/g
a₀b₀	176	1,76E6
a₀b₁	187	1,87E6
a₀b₂	145	1,45E6
a₁b₀	114	1,14E6
a₁b₁	287	2,87E6
a₁b₂	130	1,30E6
a₂b₀	231	2,31E6
a₂b₁	245	2,45E6
a₂b₂	234	2,34E6

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla B39. Resultados microbiológicos. Calidad microbiológica (45 días de almacenamiento)

Tratamiento	Unidad	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Clostridium perfringens</i>	<i>Salmonella</i>	<i>Escherichia coli</i>
a₀b₀	ufc/g	< 10	< 10	Ausencia	Ausencia
a₀b₁	ufc/g	< 10	< 10	Ausencia	Ausencia
a₀b₂	ufc/g	< 10	< 10	Ausencia	Ausencia
a₁b₀	ufc/g	< 10	< 10	Ausencia	Ausencia
a₁b₁	ufc/g	< 10	< 10	Ausencia	Ausencia
a₁b₂	ufc/g	< 10	< 10	Ausencia	Ausencia
a₂b₀	ufc/g	< 10	< 10	Ausencia	Ausencia
a₂b₁	ufc/g	< 10	< 10	Ausencia	Ausencia
a₂b₂	ufc/g	< 10	< 10	Ausencia	Ausencia

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla B40. Valores de pH, cantidad de NaOH y acidez durante el período de almacenamiento (45 días)

Tratamiento	pH	ml NaOH (0.1N)	Acidez (%)
a₀b₀	5,21	2,55	2,30
a₀b₁	5,20	2,60	2,34
a₀b₂	5,15	2,70	2,43
a₁b₀	5,20	2,55	2,30
a₁b₁	5,18	2,65	2,39
a₁b₂	5,12	2,70	2,43
a₂b₀	5,09	2,75	2,48
a₂b₁	5,07	2,80	2,52
a₂b₂	5,04	2,85	2,57

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla B41. Valores obtenidos para realizar el modelo matemático para definir el crecimiento del cultivo starter

Tratamiento a₂b₀: *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* – 0.01 g/Kg

Tiempo (días)	a ₂ b ₀ (ufc/g)	log(ufc/g)	log ₂ (ufc/g)
0	1,44E7	7,1584	23,7796
0,5	2,11E7	7,3233	24,3278
1	3,12E7	7,4942	24,8956
2	5,00E7	7,6990	25,5760
5	5,85E7	7,7672	25,8025
8	7,65E7	7,8837	26,1895
12	8,75E7	7,9420	26,3834
15	1,05E8	8,0191	26,6395
19	1,28E8	8,1055	26,9265
22	1,42E8	8,1523	27,0819
25	1,56E8	8,1931	27,2176

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Tabla B42. Análisis proximal del salami

Tratamiento a₂b₀: *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* – 0.01 g/Kg

Parámetro	Unidad	Resultado
Proteína	%	32,74
Grasa	%	29,32
Humedad	%	26,51
Ceniza	%	8,94
Carbohidratos	%	2,49

Fuente: Centro de Servicios Técnicos y Transferencia Tecnológica Ambiental

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

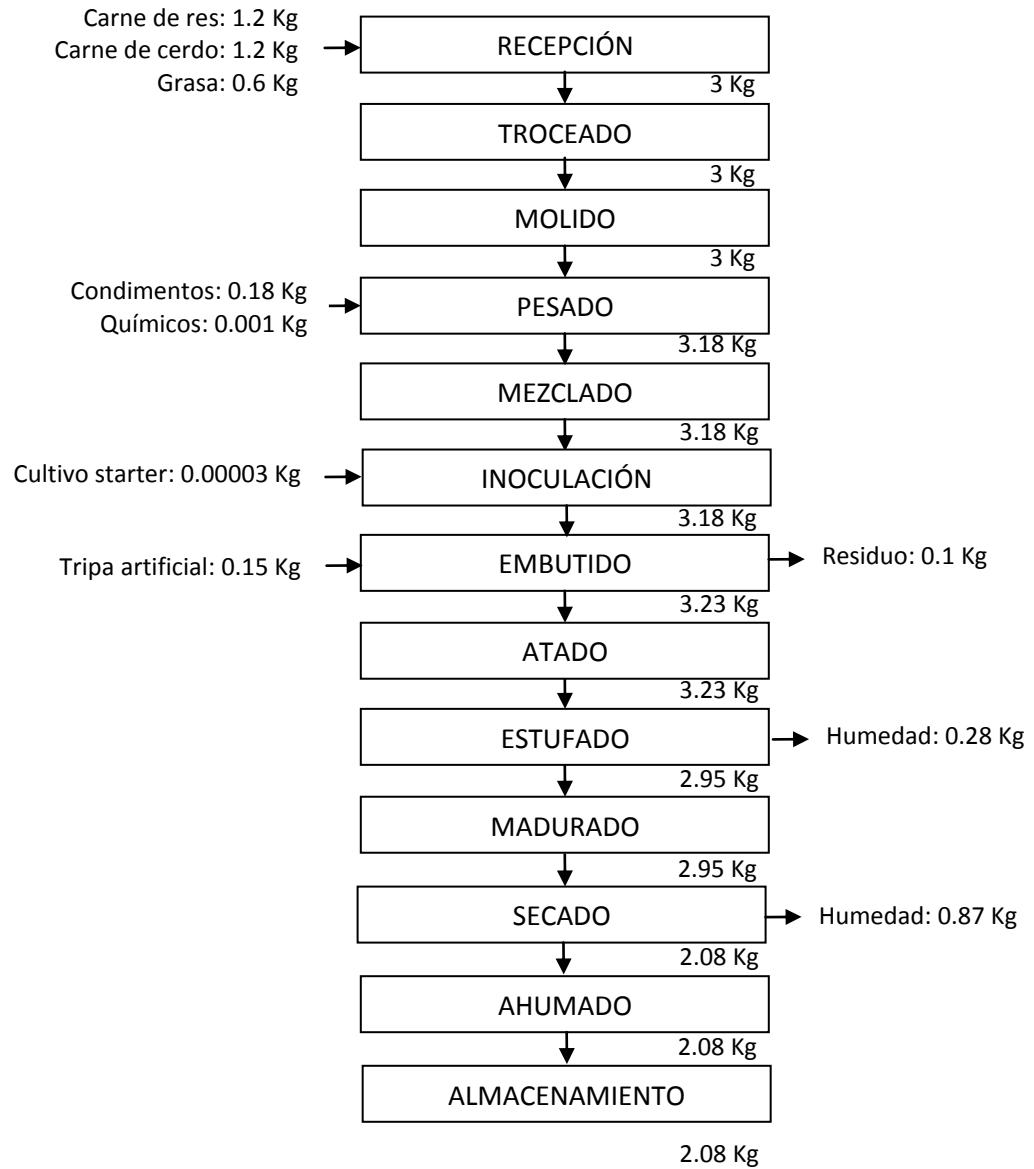
Tabla B43. Variación de los valores de porcentaje de pérdida de peso durante el período de almacenamiento para salami utilizados para la determinación de vida útil

Tratamiento a₂b₀: *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* – 0.01 g/Kg

Tiempo (días)	Pérdida de peso (%)
15	32,86
19	34,03
22	34,77
25	35,37

Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

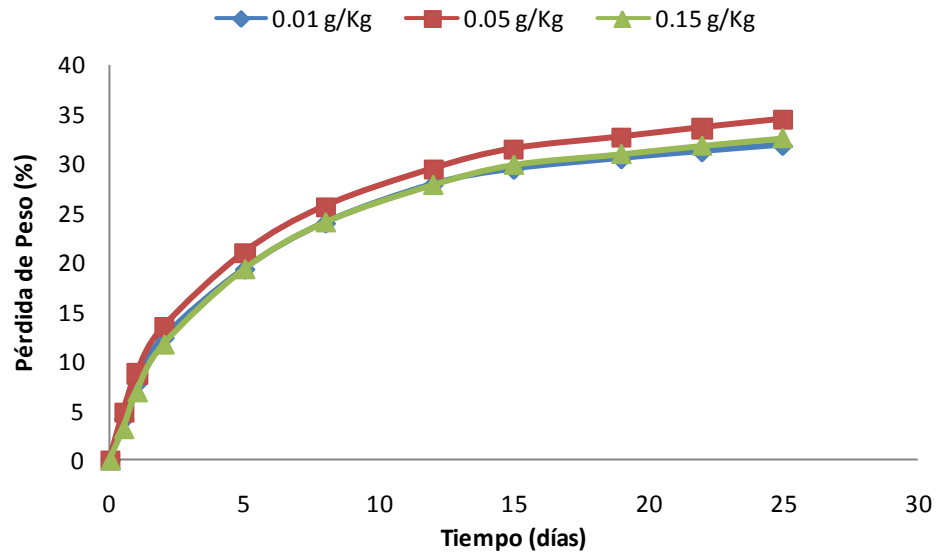
Gráfico B1. Balance de materiales para la elaboración de Salami
Tratamiento a₂b₀: *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* – 0.01 g/Kg



Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

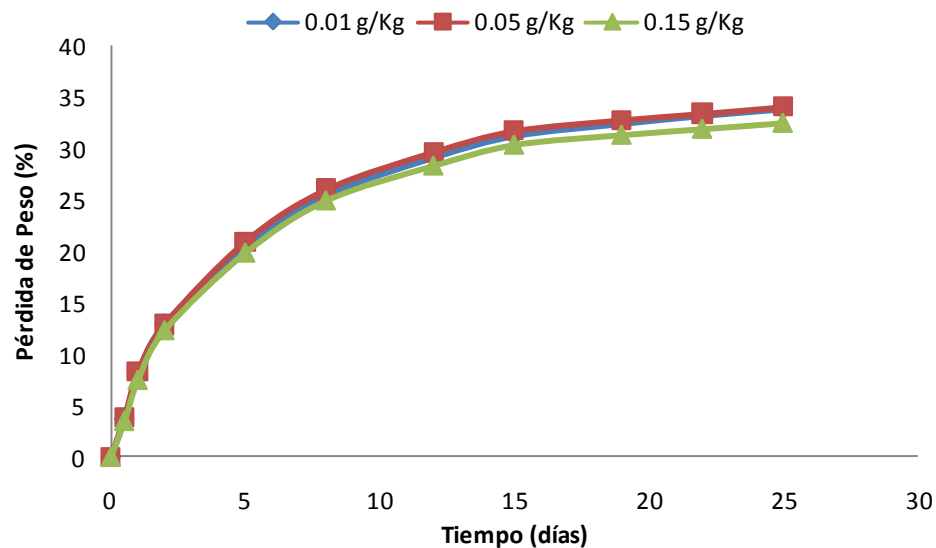
ANEXO C

Gráfico C1. Variación de pérdida de peso (%) en las muestras de salami empleando microorganismo starter específico: *Lactobacillus plantarum*



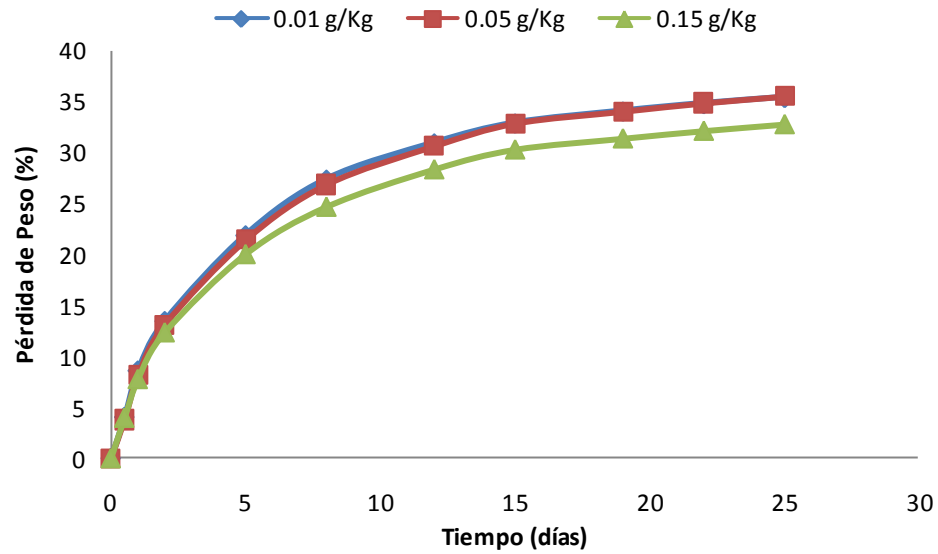
Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Gráfico C2. Variación de pérdida de peso (%) en las muestras de salami empleando microorganismo starter probiótico: *Lactobacillus rhamnosus*



Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

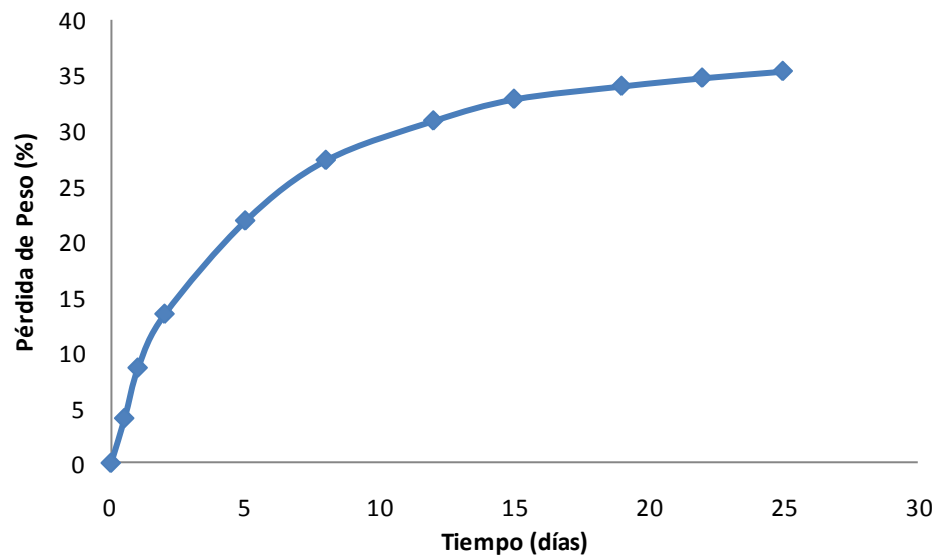
Gráfico C3. Variación de pérdida de peso (%) en las muestras de salami empleando microorganismo starter probiótico: *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*



Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

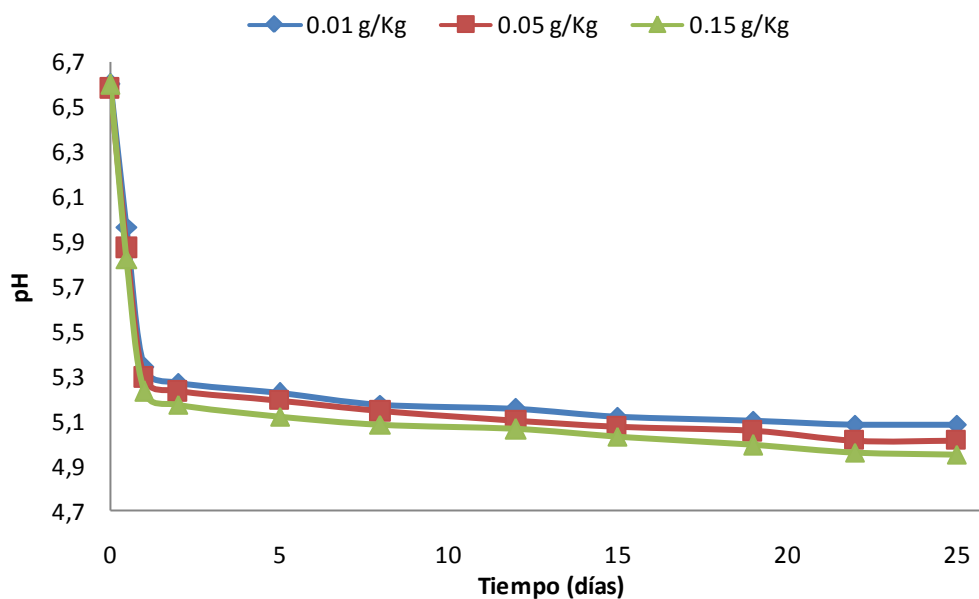
Gráfico C4. Variación de pérdida de peso (%) en las muestras de salami empleando microorganismos starter probiótico

Tratamiento a₂b₀: *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* – 0.01 g/Kg



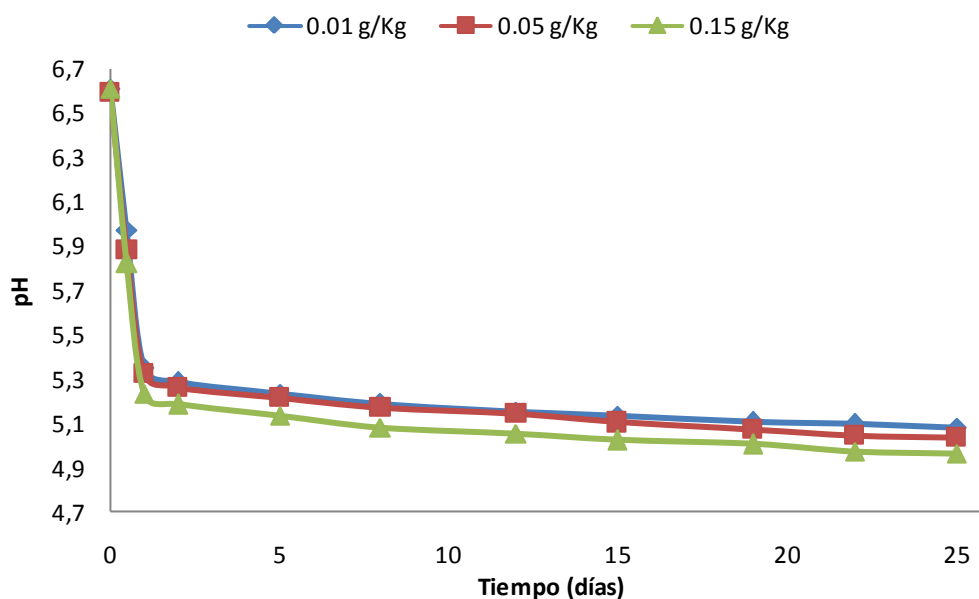
Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Gráfico C5. Variación de pH en las muestras de salami empleando microorganismos starter específico: *Lactobacillus plantarum*



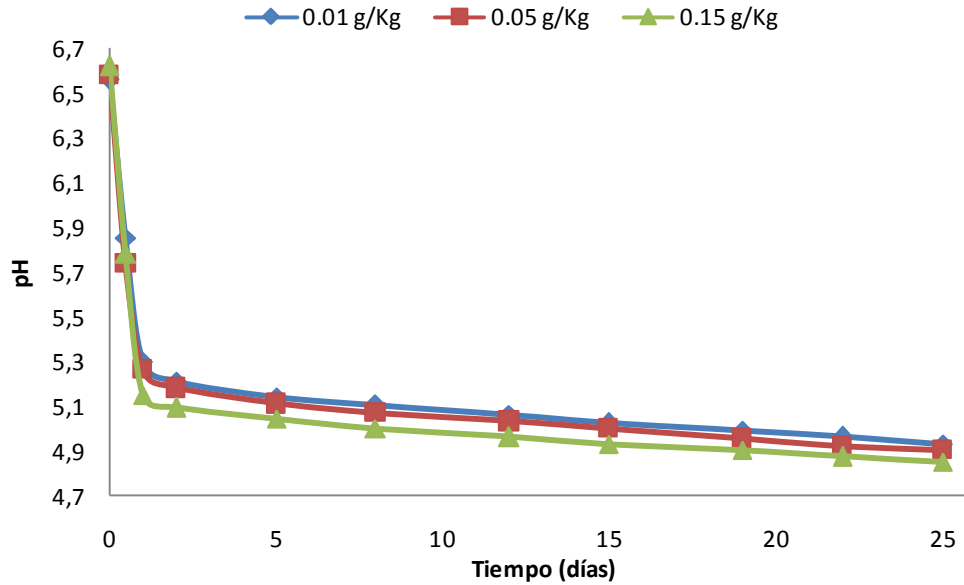
Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Gráfico C6. Variación de pH en las muestras de salami empleando microorganismos starter probiótico: *Lactobacillus rhamnosus*



Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

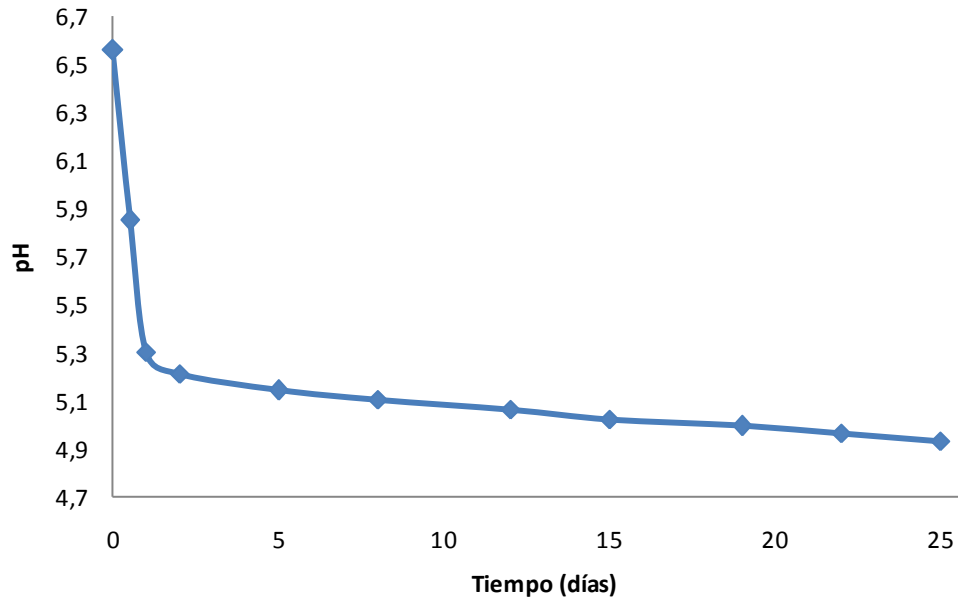
Gráfico C7. Variación de pH en las muestras de salami empleando microorganismos starter probiótico: *Bifidobacterium animalis spp. lactis*



Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

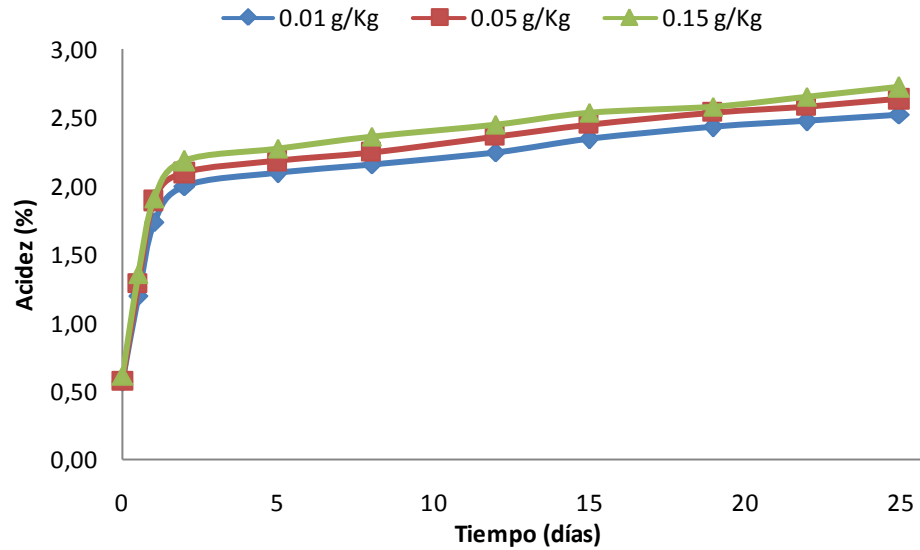
Gráfico C8. Variación de pH en las muestras de salami empleando microorganismos starter probiótico

Tratamiento a₂b₀: *Bifidobacterium animalis spp. lactis* – 0.01 g/Kg



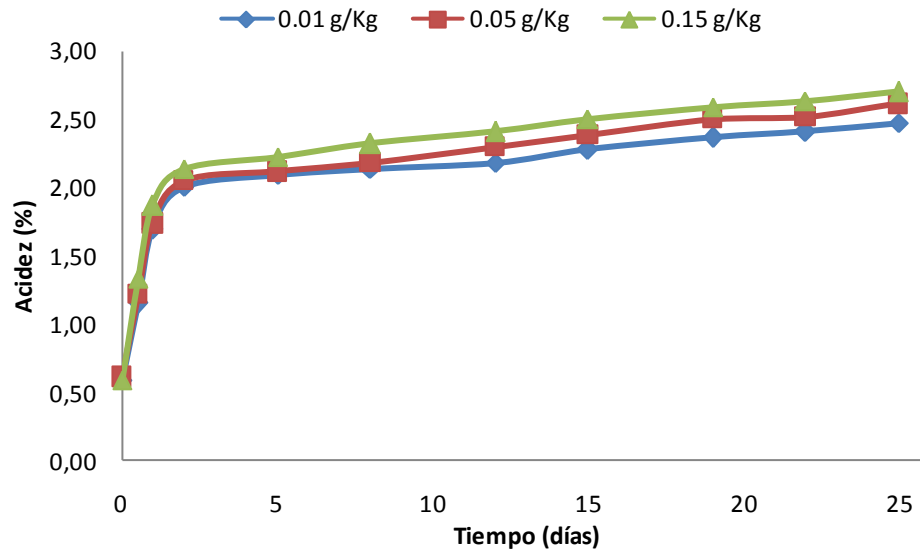
Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Gráfico C9. Variación de acidez (% ácido láctico) en las muestras de salami empleando microorganismos starter específico: *Lactobacillus plantarum*



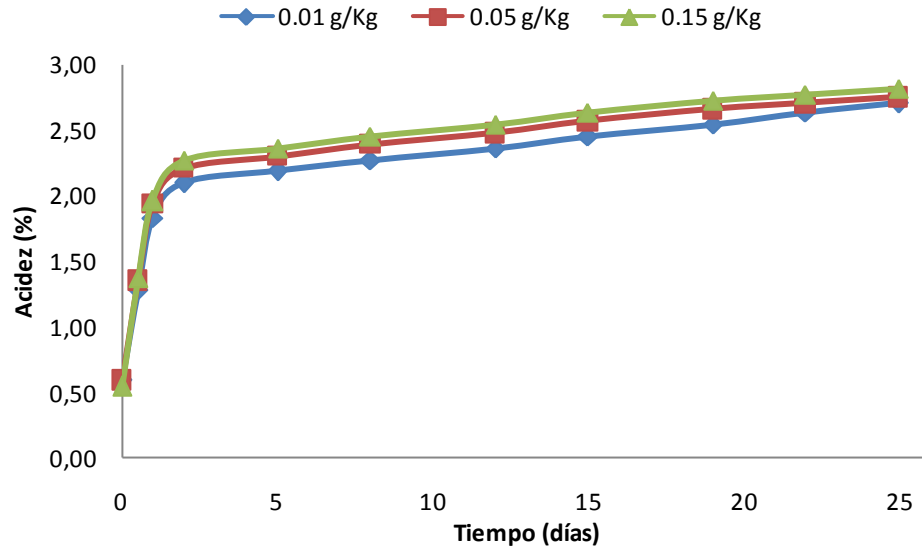
Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Gráfico C10. Variación de acidez (% ácido láctico) en las muestras de salami empleando microorganismos starter probiótico: *Lactobacillus rhamnosus*



Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

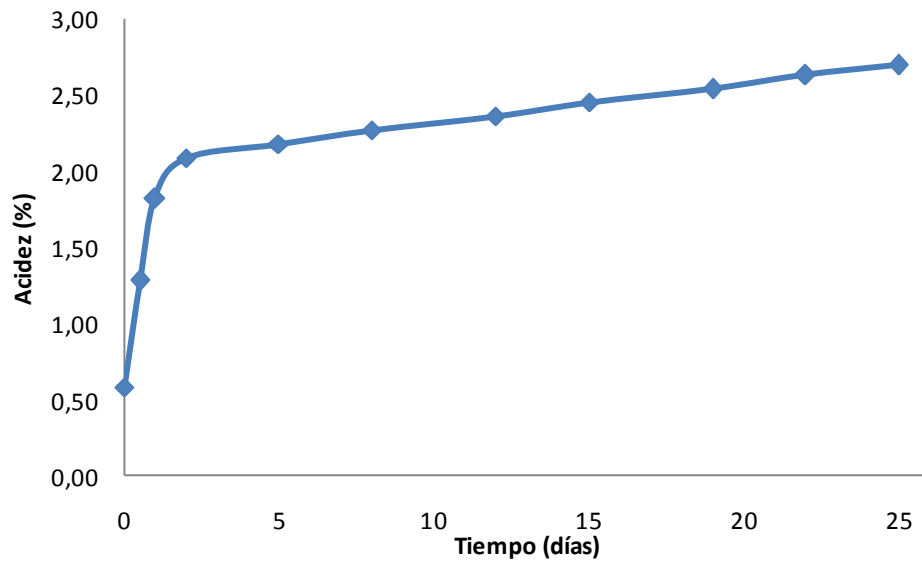
Gráfico C11. Variación de acidez (% ácido láctico) en las muestras de salami empleando microorganismos starter probiótico: *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*



Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

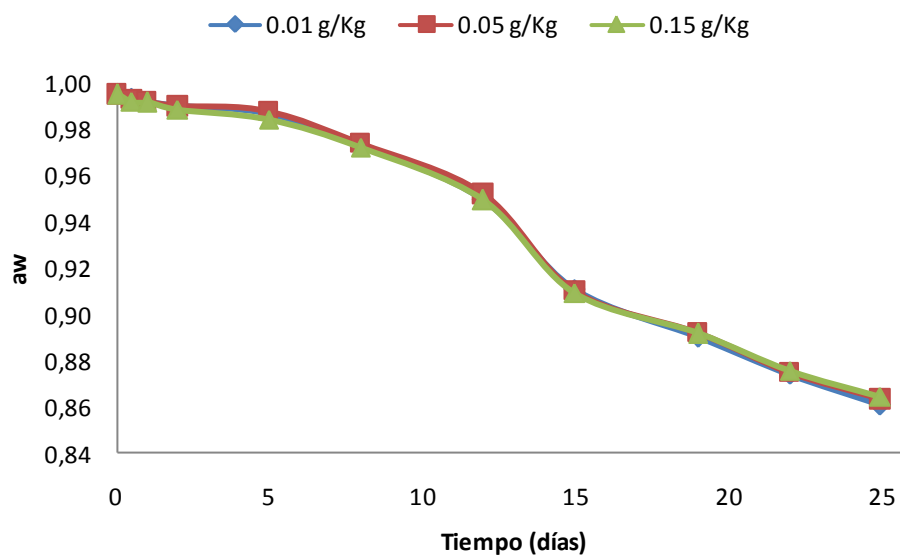
Gráfico C12. Variación de acidez (% ácido láctico) en las muestras de salami empleando microorganismos starter probiótico

Tratamiento a₂b₀: *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* – 0.01 g/Kg



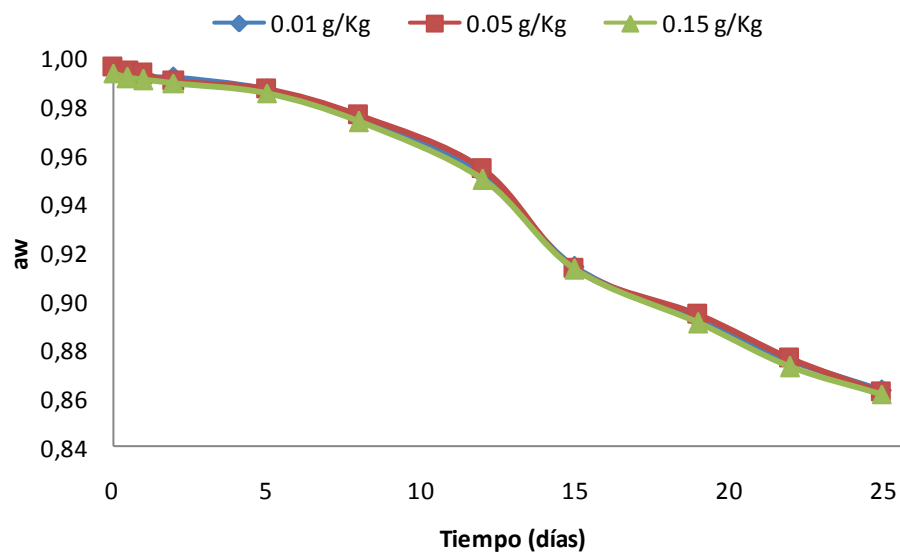
Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Gráfico C13. Variación de a_w en las muestras de salami empleando microorganismos starter específico: *Lactobacillus plantarum*



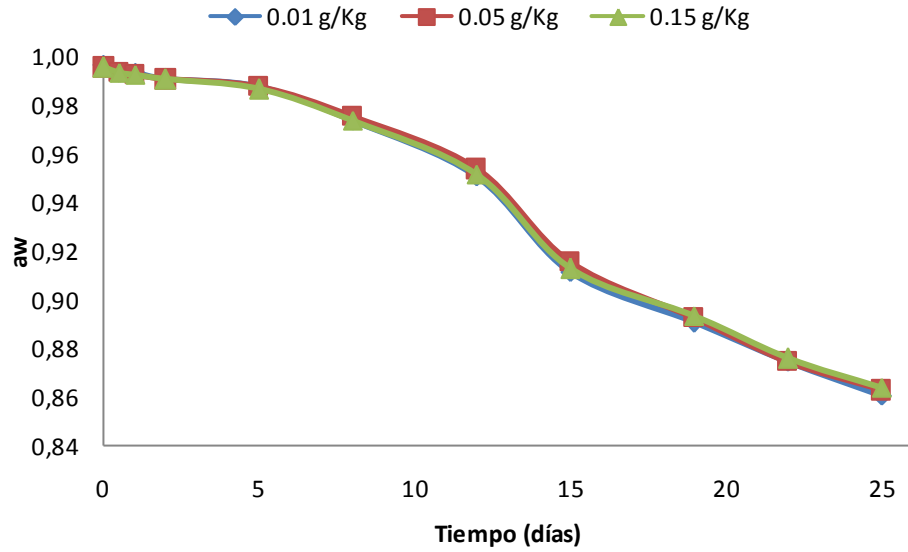
Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Gráfico C14. Variación de a_w en las muestras de salami empleando microorganismos starter probiótico



Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

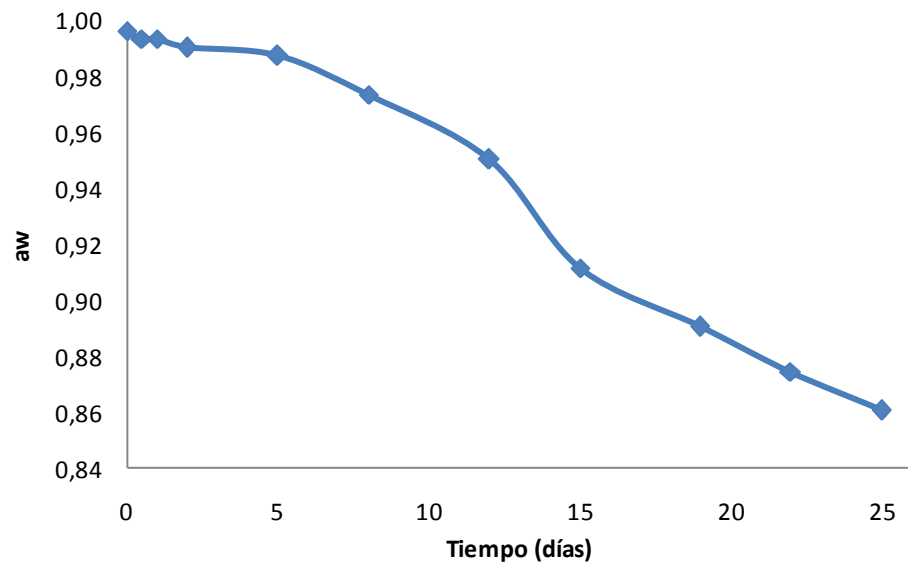
Gráfico C15. Variación de a_w en las muestras de salami empleando microorganismos starter probiótico: *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*



Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

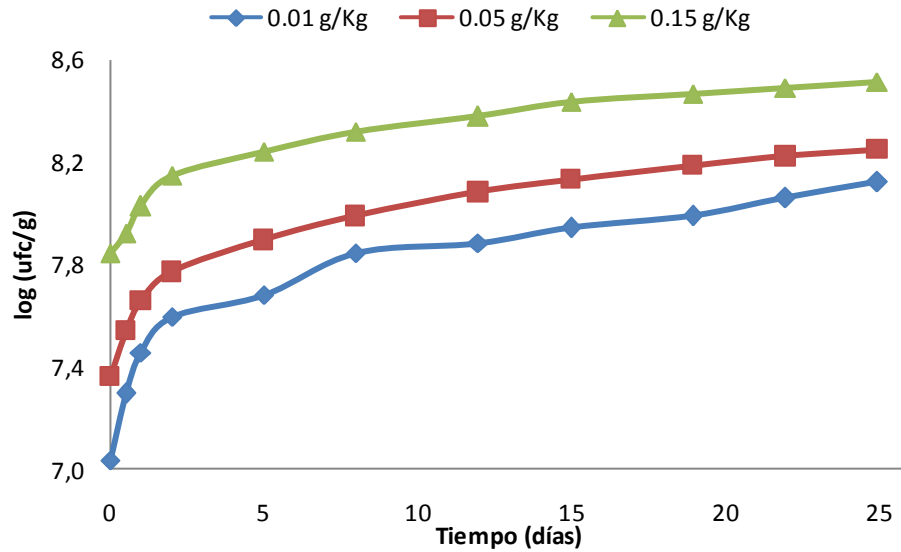
Gráfico C16. Variación de a_w en las muestras de salami empleando microorganismos starter probiótico

Tratamiento a_2b_0 : *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* – 0.01 g/Kg



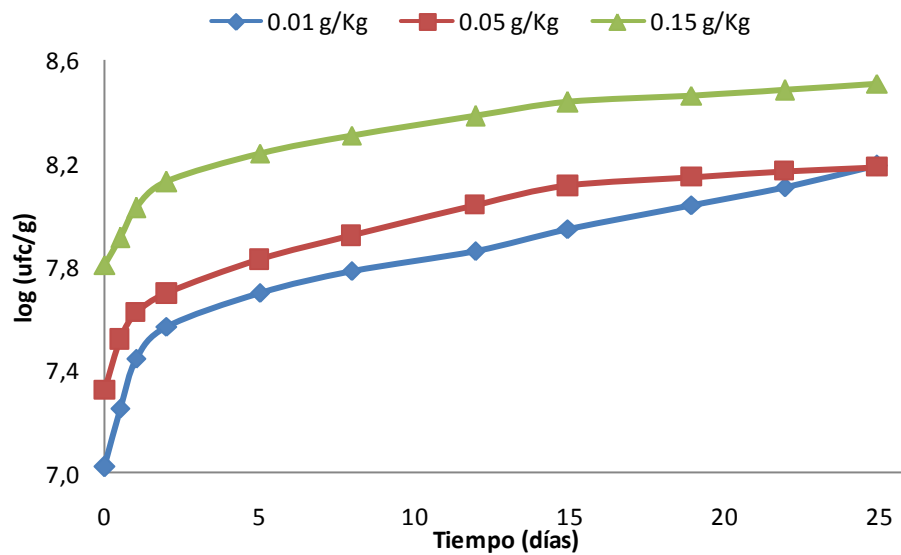
Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Gráfico C17. ufc/g determinadas de las siembras microbiológicas de las muestra de salami empleando el microorganismos starter específico: *Lactobacillus plantarum*



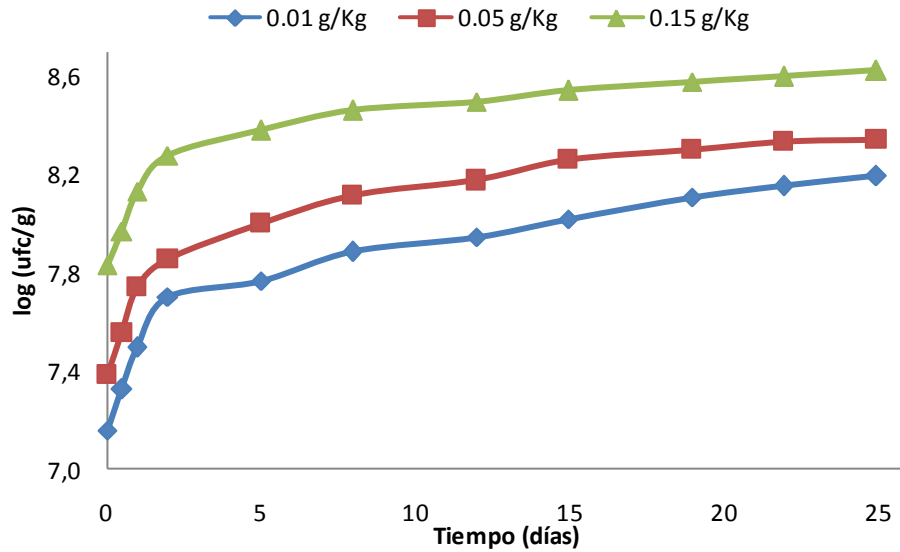
Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Gráfico C18. ufc/g determinadas de las siembras microbiológicas de las muestra de salami empleando el microorganismos starter probiótico: *Lactobacillus rhamnosus*



Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

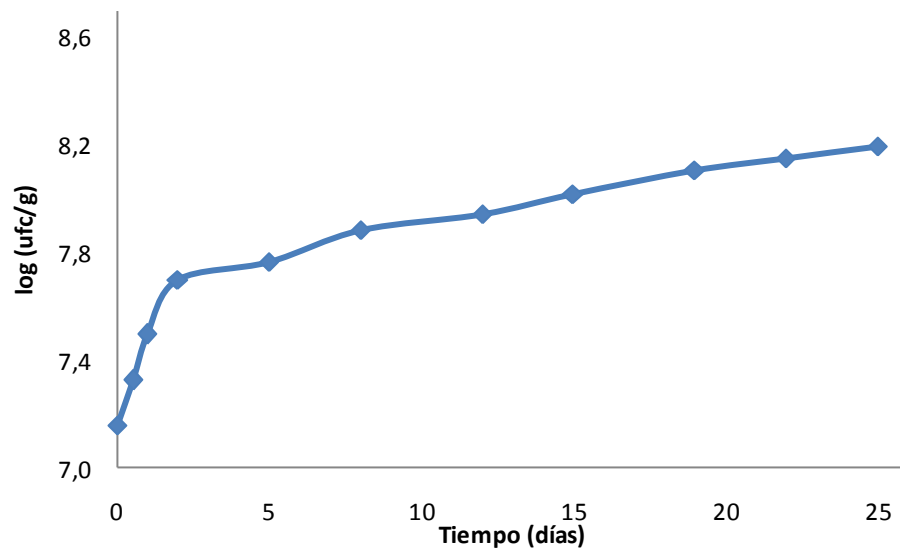
Gráfico C19. ufc/g determinadas de las siembras microbiológicas de las muestra de salami empleando el microorganismos starter probiótico: *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis*



Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Gráfico C20. ufc/g determinadas de las siembras microbiológicas en las muestra de salami

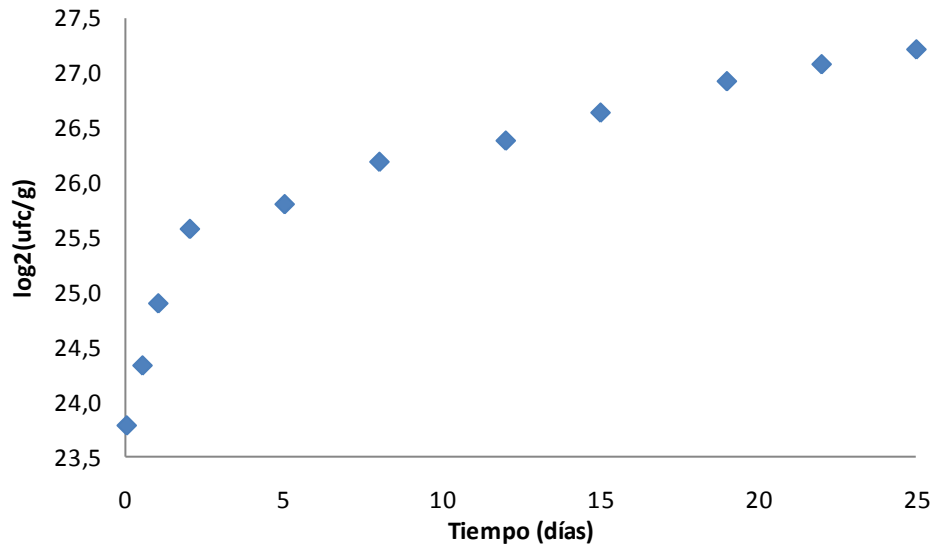
Tratamiento a₂b₀: *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* – 0.01 g/Kg



Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Gráfico C21. ufc/g determinadas de las siembras microbiológicas en las muestra de salami – Logaritmo en base dos (\log_2)

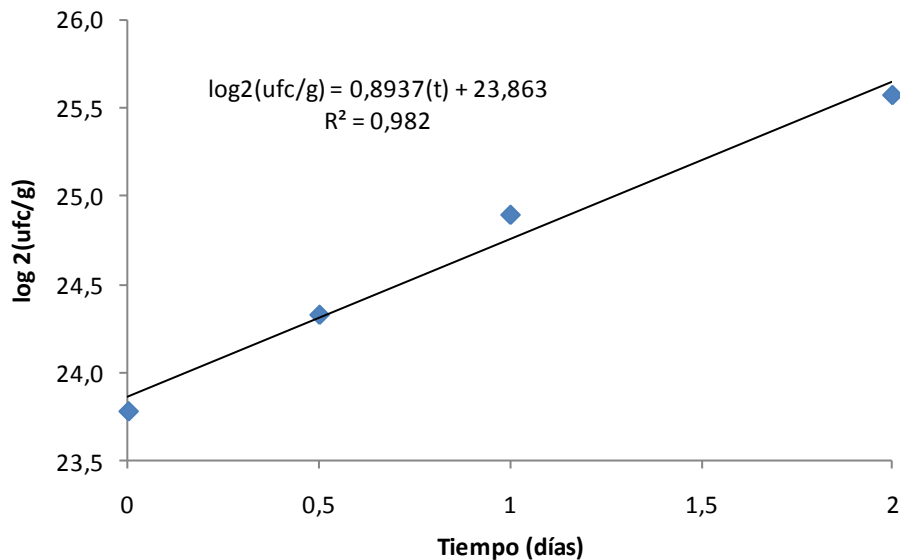
Tratamiento a_2b_0 : *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* – 0.01 g/Kg



Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Gráfico C22. Regresión lineal para la determinación de un modelo matemático para el desarrollo microbiano – Tiempo: 0 a 2 días

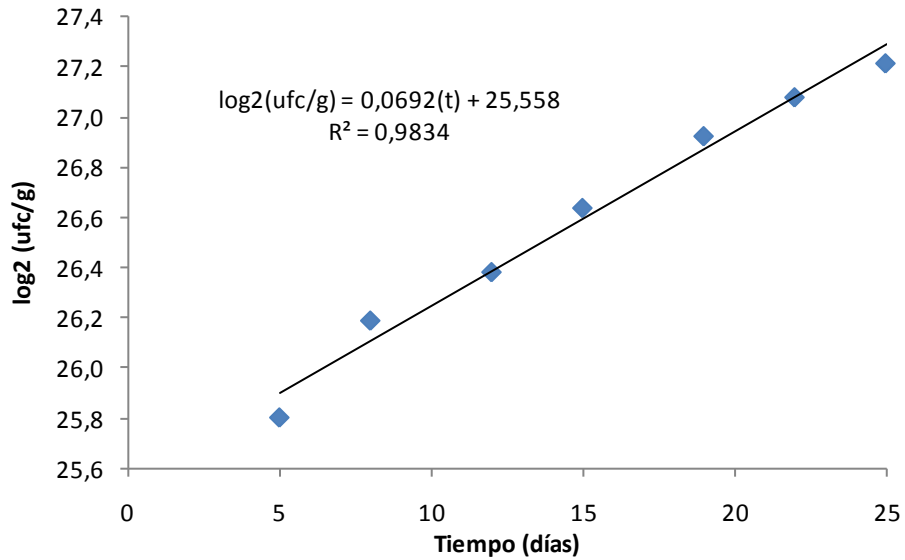
Tratamiento a_2b_0 : *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* – 0.01 g/Kg



Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Gráfico C23. Regresión lineal para la determinación de un modelo matemático para el desarrollo microbiano – Tiempo: 5 a 25 días

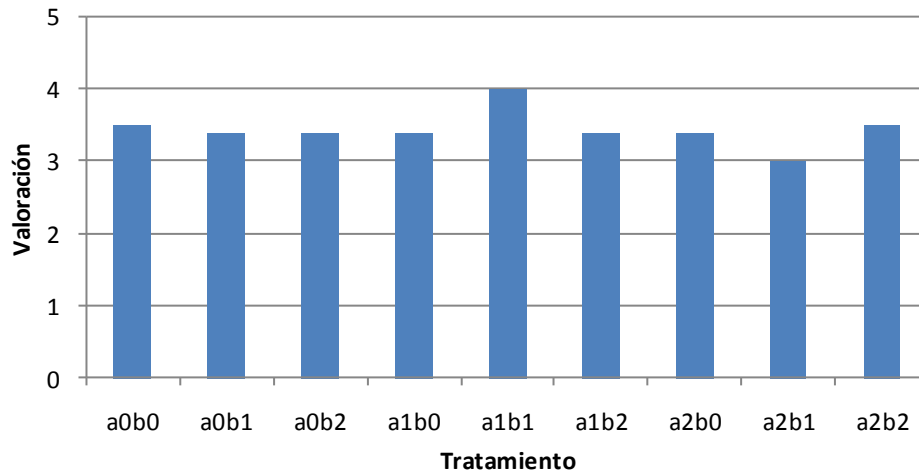
Tratamiento a₂b₀: *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* – 0.01 g/Kg



Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

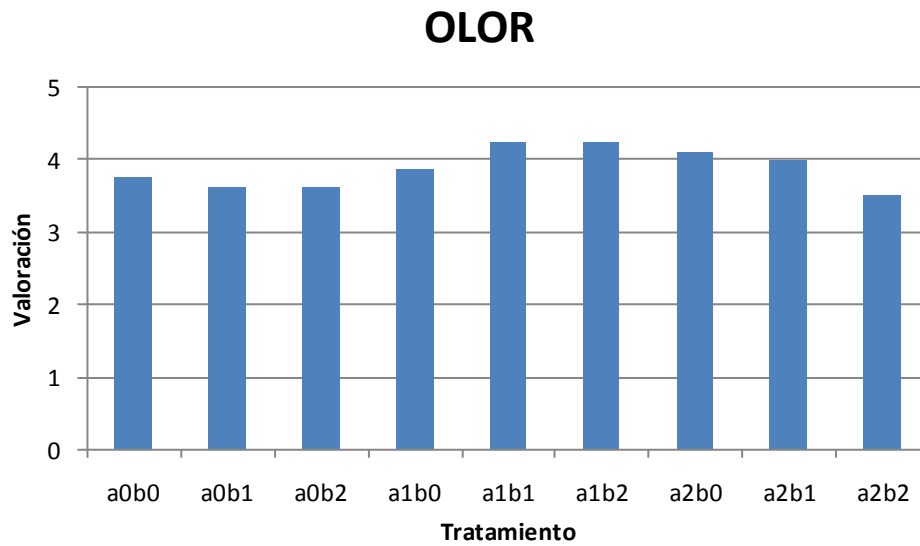
Gráfico C24. Promedio de las valoraciones del salami por catación: Atributo Color

COLOR



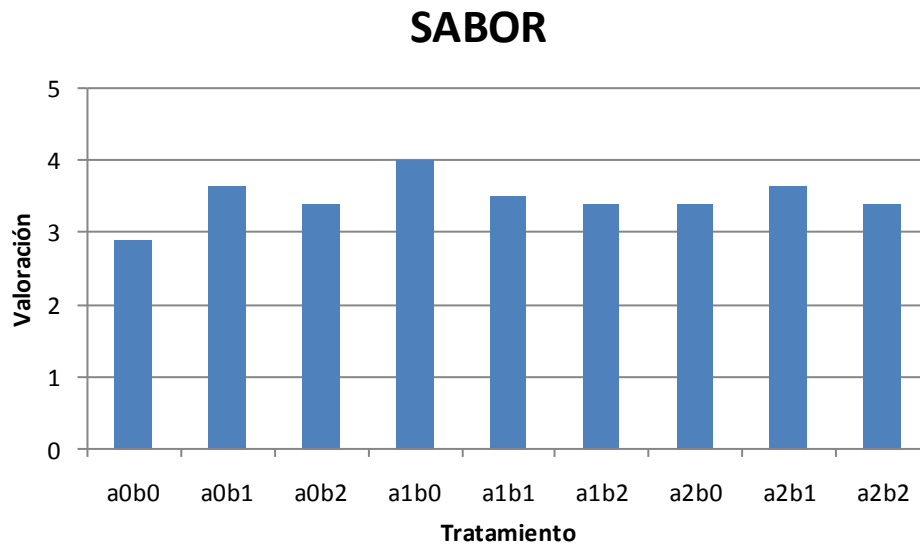
Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Gráfico C25. Promedio de las valoraciones del salami por catación: Atributo Olor



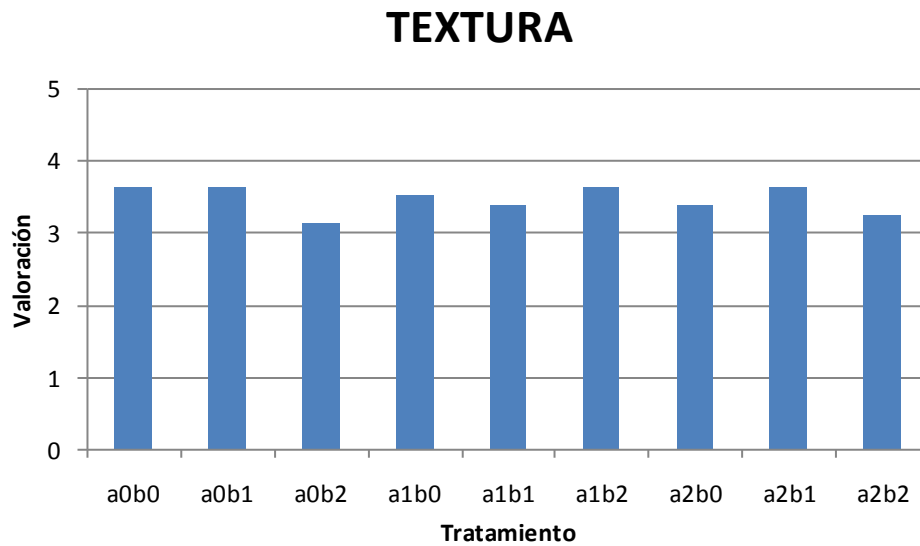
Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Gráfico C26. Promedio de las valoraciones del salami por catación: Atributo Sabor



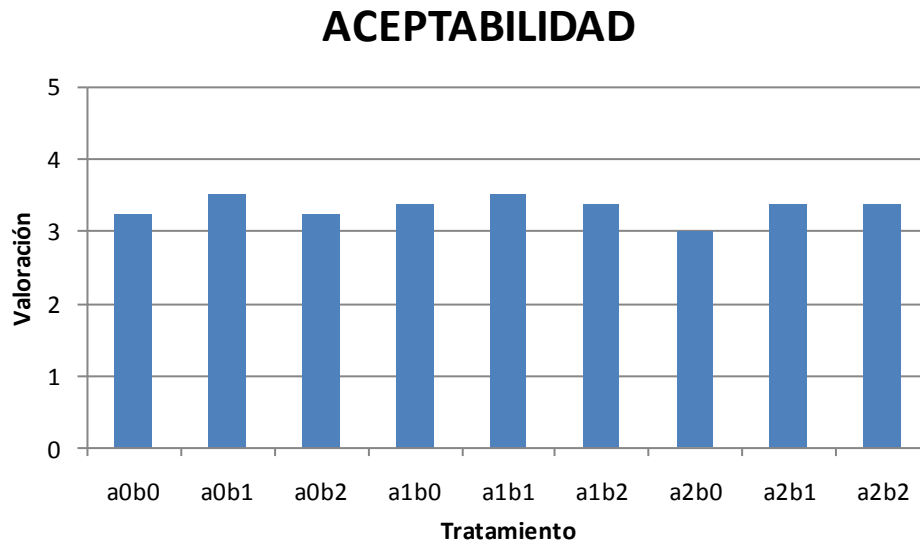
Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Gráfico C27. Promedio de las valoraciones del salami por catación: Atributo Textura



Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

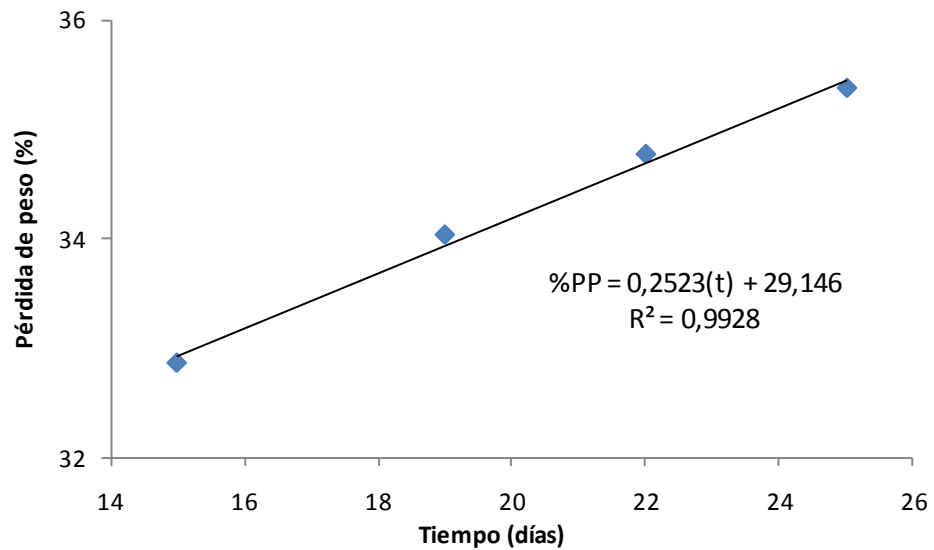
Gráfico C28. Promedio de las valoraciones del salami por catación: Atributo Aceptabilidad



Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

Gráfico C29. Variación de los valores de porcentaje de pérdida de peso durante el período de almacenamiento para salami utilizados para la determinación de vida útil

Tratamiento a₂b₀: *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* – 0.01 g/Kg



Elaborado por: Víctor Rodríguez, 2011

ANEXO D

FOTOGRAFÍAS

Equipos empleados para la elaboración de Salami



Fotografía D1. Balanza



Fotografía D2. Molino de carne



Fotografía D3. Embutidora



Fotografía D4. Horno



Fotografía D5. Cámara de maduración



Fotografía D6. Estufaje
t = 0h



Fotografía D7. Estufaje
t = 24h



Fotografía D11. Maduración



Fotografía D12. Secado



Fotografía D14. Mohos en la
superficie del salami



Fotografía D15. Final del
proceso de elaboración



Fotografía D16. Medidor de temperatura y %HR



Fotografía D17. Medidor de actividad de agua



Fotografía D16. Medición de Acidez



Fotografía D17. Medición de pH



Fotografía D18. Prueba de Análisis Sensorial



Fotografía D19. Catadores



Fotografía D20. Rojo curado - Producto terminado



Fotografía D21. Siembras microbiológicas



Fotografía D22. Colonias de m/o en Agar Rogosa



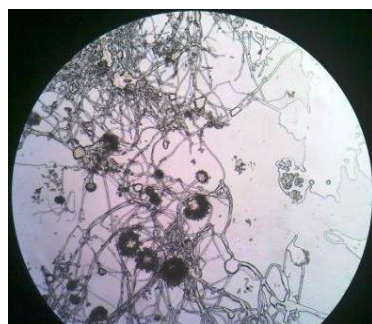
Fotografía D23. *Lactobacillus plantarum* (400x)



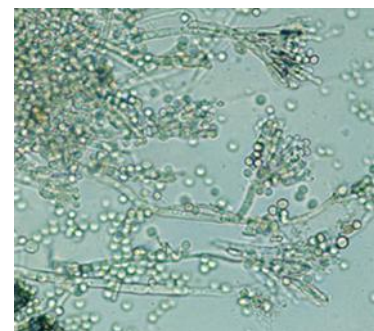
Fotografía D24. *Lactobacillus rhamnosus* (1000x)



Fotografía D25. *Bifidobacterium animalis* spp. *lactis* (400x)



Fotografía D26. *Aspergillus* sp. (400x)



Fotografía D27. *Penicillium* sp. (400x)

ANEXO E

ANEXO E1

DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE PÉRDIDA DE PESO

El porcentaje de pérdida de peso (%PP) se da, principalmente, por la eliminación de agua durante el período de secado del salami.

MATERIALES

- Muestras de salami
- Balanza analítica

PROCEDIMIENTO

- Ubicar una muestra en la cámara de maduración, sobre la cual se aplicara el análisis durante el período que se mantenga dentro de la cámara.
- Extraer la muestra de la cámara de maduración.
- Pesar la muestra en la balanza analítica según el período de tiempo determinado.
- Registrar los pesos marcado en la balanza analítica.
- Determinar el porcentaje de peso que perdió la muestra mediante la siguiente ecuación

$$\%PP = \frac{W_o - W_i}{W_o} \times 100\%$$

Dónde:

%PP = Porcentaje de pérdida de peso

W_o = Peso inicial

W_i = Peso registrado

ANEXO E2

DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TITULABLE Expresado como porcentaje de Ácido Láctico

Al utilizar bacterias productoras de ácido láctico como cultivos starters para la elaboración de salami, se consideró expresar el valor de acidez como porcentaje de ácido láctico.

MATERIALES

- Muestra de salami
- Vasos de precipitación de 250 ml
- Matraz de aforo de 250 ml
- Bureta graduada de 50 ml
- Probetas de 50 ml
- Balanza analítica

REACTIVOS

- Solución de Hidróxido de Sodio (NaOH) 0.1 N
- Fenolftaleína
- Agua destilada

PROCEDIMIENTO

- Pesar 10 g de muestra en la balanza analítica.
- Colocar la muestra en un vaso de precipitación, añadir 100 ml de agua destilada y dejar en reposo durante 30 min.
- El contenido del vaso de precipitación se transfiere a un matraz aforado de 250 ml, se afora, se agita y se filtra.
- Del filtrado se toma una alícuota de 25 ml en un vaso de precipitación.
- Añadir de 3 gotas de la solución de fenolftaleína, finalmente se valora con solución de NaOH 0.1 N hasta que adquiera coloración rosada que perdure durante 30 segundos.

- Los resultados se expresan en porcentaje de acidez en función del ácido láctico y se calculan empleando la siguiente expresión:

$$\text{Acidez (\%)} = \frac{a \times N \times \text{meq}}{b} \times 100$$

Dónde:

- a = Volumen en ml consumido de solución de NaOH 0.1 N.
- N = Normalidad de la solución de NaOH.
- meq = Masa molar expresada en g/mmol. Para el ácido láctico, meq= 0.090 g/mmol
- b = Masa en gramos de la muestra en la alícuota valorada, determinado con la siguiente ecuación:

$$b = \frac{m \times V}{250}$$

Dónde:

- m = Masa inicial de la muestra (g)
- V = Volumen de alícuota tomada (ml)

ANEXO E3

DETERMINACIÓN DEL VALOR DE ACTIVIDAD DE AGUA

Los valores de actividad de agua en productos cárnicos madurados, como el salami, son bajos y su determinación ayuda a controlar el adecuado proceso de secado.

MATERIALES

- Muestra de salami
- Balanza analítica
- Equipo de determinación de actividad de agua

REACTIVOS

- Cloruro de bario ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)

PROCEDIMIENTO

- Calibrar el equipo empleando cloruro de bario, cuyo valor de actividad de agua conocido es de 0.90; si la aguja no se encuentra dispuesta a ese valor, regularla con el aditamento hasta que se indique dicho valor.
- Colocar 20 g de la muestra dentro del equipo, tapar herméticamente y esperar aproximadamente 45 minutos para obtener una lectura adecuada del valor de actividad de agua registrado.
- El valor que indica la aguja representa el valor de agua de la muestra analizada.
- Para realizar otra medición no es necesario volver a calibrar el equipo.

ANEXO E4

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS CULTIVOS STARTERS

Mediante este análisis se realizó la identificación de los microorganismos de los cultivos starter empleados para la elaboración de salami. Una de las características principales que presentan estos microorganismos son es la formación de ácido láctico por lo que son consideradas como bacterias ácido lácticas.

MATERIALES

- Muestras de salami
- Tubos bacteriológicos
- Cajas petri
- Jarra Masón estéril
- Micropipeta
- Puntas estériles para micropipeta
- Autoclave
- Mechero
- Embudos de vidrio estériles
- Algodón estéril
- Balanza
- Probeta estéril
- Vasos de precipitación estériles

REACTIVOS

- Agua estéril
- Agar Rogosa

PROCEDIMIENTO

- Pesar asépticamente 10 g de muestra en las jarras Masón estériles y añadir 90 ml de agua estéril y luego proceder a licuar.
- Filtrar con la ayuda de algodón y embudo estériles en un vaso de precipitación.
- Realizar las diluciones correspondientes en 9 ml de agua que contienen los tubos bacteriológicos, necesarias para la identificación de los microorganismos (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , etc.)
- Agregar 1ml de las diluciones preparadas en cajas Petri estériles y verter de 15 a 20 ml de Agar Rogosa previamente temperado.
- Colocar las cajas Petri en la caja para condiciones anaerobias y extraer el aire con la ayuda de una bomba de vacío.
- Incubar a 37° C por 72 horas consecutivas.
- Contar las colonias formadas y determinar el número de microorganismos (ufc/g)
- Realizar la tinción de Gram e identificar el tipo de microorganismos desarrollado.

Elaborado por: Víctor Rodríguez; 2011

ANEXO E5

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE *Staphylococcus aureus*

La identificación de *Staphylococcus aureus* en alimentos es de vital importancia para prevenir intoxicaciones, en el consumidor, provocados por ingesta de estos.

MATERIALES

- Muestras de salami
- Tubos bacteriológicos
- Cajas petri
- Jarra Masón estéril
- Micropipeta
- Puntas estériles para micropipeta
- Autoclave
- Mechero
- Embudos de vidrio estériles
- Algodón estéril
- Balanza
- Probeta estéril
- Vasos de precipitación estériles

REACTIVOS

- Agua estéril
- Agar Manitol Sal

PROCEDIMIENTO

- Pesar asépticamente 10 g de muestra en las jarras Masón estériles y añadir 90 ml de agua estéril y luego proceder a licuar.
- Filtrar con la ayuda de algodón y embudo estériles en un vaso de precipitación.
- Realizar las diluciones correspondientes en 9 ml de agua que contienen los tubos bacteriológicos, necesarias para la identificación de los microorganismos (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , etc.)
- Agregar 1ml de las diluciones preparadas en cajas Petri estériles y verter de 15 a 20 ml de Agar Manitol Sal previamente temperado.
- Incubar a 37° C por 24 – 48 horas.
- Contar las colonias formadas y determinar los ufc/g.
- Si hubo resultados positivos realizar una tinción de Gram para confirmar la presencia de los microorganismos.

ANEXO E6

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE *Clostridium perfringens*

Por la producción de toxinas patogénicas, la identificación de *Clostridium perfringens* en embutidos madurados es importante para evitar intoxicaciones que se podrían dar por el consumo del producto contaminado.

MATERIALES

- Muestras de salami
- Tubos bacteriológicos
- Cajas petri
- Jarra Masón estéril
- Micropipeta
- Puntas estériles para micropipeta
- Autoclave
- Mechero
- Embudos de vidrio estériles
- Algodón estéril
- Balanza
- Probeta estéril
- Vasos de precipitación estériles

REACTIVOS

- Agua estéril
- Agar TSC (Triptosa Sulfito Cicloserina)

PROCEDIMIENTO

- Pesar asépticamente 10 g de muestra en las jarras Masón estériles y añadir 90 ml de agua estéril y luego proceder a licuar.
- Filtrar con la ayuda de algodón y embudo estériles en un vaso de precipitación.
- Realizar las diluciones correspondientes en 9 ml de agua que contienen los tubos bacteriológicos, necesarias para la identificación de los microorganismos (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , etc.)
- Agregar 1ml de las diluciones preparadas en cajas Petri estériles y verter de 15 a 20 ml de Agar TSC previamente temperado.
- Colocar las cajas Petri en la caja para condiciones anaerobias y extraer el aire con la ayuda de una bomba de vacío.
- Incubar a 37° C por 24 – 48 horas.
- Contar las colonias formadas y determinar los ufc/g.
- Si hubo resultados positivos realizar una tinción de Gram para confirmar la presencia de los microorganismos.

ANEXO E7

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE *Salmonella*

Las intoxicaciones por el consumo de alimentos contaminados con *Salmonella* es la primera causa de enfermedades transmitidos por alimentos, por lo que su identificación en embutidos madurados se hace indispensable.

MATERIALES

- Muestras de salami
- Tubos bacteriológicos
- Cajas petri
- Jarra Masón estéril
- Micropipeta
- Puntas estériles para micropipeta
- Autoclave
- Mechero
- Embudos de vidrio estériles
- Algodón estéril
- Balanza
- Probeta estéril
- Vasos de precipitación estériles

REACTIVOS

- Agua estéril
- Agar SS (*Salmonella* – *Shigella*)

PROCEDIMIENTO

- Pesar asépticamente 10 g de muestra en las jarras Masón estériles y añadir 90 ml de agua estéril y luego proceder a licuar.
- Filtrar con la ayuda de algodón y embudo estériles en un vaso de precipitación.
- Realizar las diluciones correspondientes en 9 ml de agua que contienen los tubos bacteriológicos, necesarias para la identificación de los microorganismos (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , etc.)
- Agregar 1ml de las diluciones preparadas en cajas Petri estériles y verter de 15 a 20 ml de Agar SS previamente temperado.
- Incubar a 37° C por 24 – 48 horas.
- Contar las colonias formadas y determinar los ufc/g.
- Si hubo resultados positivos realizar una tinción de Gram para confirmar la presencia de los microorganismos.

ANEXO E8

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE Coliformes totales

La contaminación con *Escherichia coli* indica una inadecuado manipulación, tanto de las materias primas como el proceso de elaboración.

MATERIALES

- Muestras de salami
- Tubos bacteriológicos
- Campanas de Durham
- Cajas petri
- Asa en forma de ojal
- Jarra Masón estéril
- Micropipeta
- Puntas estériles para micropipeta
- Autoclave
- Mechero
- Embudos de vidrio estériles
- Algodón estéril
- Balanza
- Probeta estéril
- Vasos de precipitación estériles

REACTIVOS

- Agua estéril
- Caldo Mc Conkey
- Caldo LBVB
- Agar Mc Conkey

PROCEDIMIENTO

- Pesar asépticamente 25 g de muestra en las jarras Masón estériles y añadir 225 ml de agua estéril y luego proceder a licuar.
- Filtrar con la ayuda de algodón y embudo estériles en un vaso de precipitación.
- Realizar las diluciones correspondientes en 9 ml de agua que contienen los tubos bacteriológicos, necesarias para la identificación de los microorganismos (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3}).
- Trabajar por triplicado, tomar 1ml de las diluciones preparadas en el caldo Mc Conkey.
- Incubar a 37° C por 48 horas.


- Identificar el viraje de color y la formación de precipitado en los tubos que contiene caldo Mc Conkey.
- De los tubos en los cuales se identificó el viraje de color, inocular una asada en tubos por triplicado en las diluciones respectivas, de acuerdo a la dilución de la cual se tomó para la siembra de coliformes fecales, en tubos con el Caldo LBVB que contengan en su interior una campana de Durham invertida.
- Incubar a 45.5° C por 24 – 48 horas.
- Observar la presencia o ausencia de gas en el interior de la campana de Durham.
- De los tubos donde se observó la presencia de gas, tomar 1ml y agregarlo en cajas Petri estériles y verter de 15 a 20 ml de Agar Mc Conkey previamente temperado.
- Incubar a 37° C por 24 – 48 horas.
- Contar las colonias formadas y determinar los ufc/g.
- Si hubo resultados positivos realizar una tinción de Gram para confirmar la presencia de los microorganismos.

ANEXO E9

ANÁLISIS PROXIMAL DEL MEJOR TRATAMIENTO

Tratamiento a₂b₀:

Bifidobacterium animalis spp. *lactis* – 0.01 g/Kg

 <p>LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL E INSPECCIÓN LAB-CESTTA</p>	<p>ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO</p> <p>CENTRO DE SERVICIOS TÉCNICOS Y TRANSFERENCIA TECNOLÓGICA AMBIENTAL</p> <p>FACULTAD DE CIENCIAS Panamericana Sur Km. 1 ½ Teléfono: (03) 2 998232 RIOBAMBA - ECUADOR</p>	 <p>ENSAYOS No. OAE LE 2C 06-008</p>
--	---	---

INFORME DE ENSAYO No: 0903
ST: 11 – 0050 ANÁLISIS DE ALIMENTOS

Nombre Peticionario: Sr. Víctor Rodríguez
Atn: -
Dirección: Av. Colombia y Chile, Ambato, Tungurahua

FECHA: 26 de Abril de 2011
NUMERO DE MUESTRAS: 1
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB: 2011 / 04 / 19 – 12:40
FECHA DE MUESTREO: 2011 / 04 / 19 – 09:30
FECHA DE ANÁLISIS: 2011 / 04 / 19 - 2011 / 04 / 26
TIPO DE MUESTRA: Salame
CÓDIGO LAB-CESTTA: LAB-Alm 157-11
CÓDIGO DE LA EMPRESA: N.A.
PUNTO DE MUESTREO: Universidad Técnica Ambato
ANÁLISIS SOLICITADO: Análisis Proximal
PERSONA QUE TOMA LA MUESTRA: Sr. Víctor Rodríguez
CONDICIONES AMBIENTALES: T máx.: 25.0 °C. T mín.: 21.0°C


RESULTADOS ANALÍTICOS:

PARÁMETRO	MÉTODO /NORMA	UNIDAD	RESULTADO	VALOR LIMITE PERMISIBLE	INCERTIDUMBRE (k=2)
*Proteína	PEE /LAB-CESTTA/104 AOAC/ Volumétrico	%	32,74	--	--
*Grasa	PEE /LAB-CESTTA/102 AOAC/ Gravimétrico	%	29,82	--	--
*Humedad	PEE/LAB-CESTTA/80 AOAC/ Gravimétrico	%	26,51	--	--
*Cenizas	PEE /LAB-CESTTA/101 AOAC/ Gravimétrico	%	8,94	--	--


OBSERVACIONES:

- Los ensayos marcados con (*) no están incluidos en el alcance de acreditación del OAE
- Muestra receptada en laboratorio

RESPONSABLES DEL INFORME:


BQF. Ximena Carrión
RESPONSABLE TÉCNICO

LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL
E INSPECCIÓN
LAB - CESTTA
ESPOCH


Dra. Nancy Veloz M
JEFE DE LABORATORIO