

FORMATO N° 10

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO

**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y
MATEMÁTICA**

UNIDAD DE INVESTIGACIÓN



INFORME FINAL DE INVESTIGACIÓN

**“MODELAMIENTO DE CURVAS DE SUPERVIVENCIA
NO LINEAL PARA DETERMINAR LA INACTIVACIÓN
TÉRMICA DE Salmonella ssp., Escherichia coli Y
BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS EN LA CARNE MOLIDA
DE POLLO”**

AUTOR: EDGAR ZÁRATE SARAPURA

**(PERIODO DE EJECUCIÓN: Del 01 mayo de 2020 al 30 de
abril de 2021)**

(Resolución de aprobación N° 304-2020-R)

Callao, 2021

PERÚ

DEDICATORIA

El presente trabajo es dedicado a mi esposa, a mis hijos y nietos, quienes han sido parte fundamental para desarrollar este proyecto, ellos son quienes me dan su tiempo, comprensión y aliento para seguir entendiendo la complejidad de la naturaleza y ser los principales protagonistas de este “sueño alcanzado”.

AGRADECIMIENTO

Gracias a la universidad y a los colegas docentes, muy amigables al cederme el uso de sus laboratorios a su cargo quienes me dieron confianza y permitieron el logro de los objetivos y poder terminar este proyecto.

También agradezco a los alumnos practicantes en el campo de la microbiología predictiva y tesis de posgrado por su participación en los experimentos.

A todo el personal administrativo de la unidad de Investigación y de laboratorios de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática.

A todas aquellas personas que me proporcionaron un entorno propicio para el desarrollo de mis experimentos.

| | N° |
|--|--------|
| | Página |
| ÍNDICE | 1 |
| RESUMEN | 6 |
| INTRODUCCIÓN | 8 |
| CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA | 11 |
| 1.1. Descripción de la realidad problemática | 11 |
| 1.2. Formulación del problema | 16 |
| 1.2.1. Problema General | 16 |
| 1.2.1. Problemas Específicos | 16 |
| 1.3. Objetivos | 17 |
| 1.3.1. Objetivo General | 17 |
| 1.3.2. Objetivos Específicos | 17 |
| 1.4. Limitantes de la Investigación | 17 |
| CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO | 18 |
| 2.1. Antecedentes | 18 |
| 2.1.1. Internacionales | 18 |
| 2.1.2. Nacionales | 21 |
| 2.2. Marco | 25 |
| 2.2.1. Teórico | 25 |
| 2.2.2. Conceptual | 32 |
| 2.3. Definición de términos básico | 34 |
| CAPÍTULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES | 38 |
| 3.1. Hipótesis | 38 |
| 3.1.1 Hipótesis General | 38 |
| 3.1.2 Hipótesis Específicas | 39 |
| 3.2. Definición conceptual de variables | 39 |
| 3.3. Operacionalización de variables | 39 |
| CAPÍTULO IV: DISEÑO METODOLÓGICO | 40 |
| 4.1. Tipo y diseño de la investigación | 40 |
| 4.2. Método de investigación | 41 |

| | | |
|--|---|-----|
| 4.3. | Población y muestra | 43 |
| 4.4. | Lugar de estudio y periodo desarrollado | 43 |
| 4.5. | Técnicas e Instrumentos para la recolección de la información | 43 |
| 4.6 | Análisis y procesamiento de datos | 48 |
| CAPÍTULO V: RESULTADOS | | 49 |
| 5.1. | Resultados descriptivos | 49 |
| 5.2. | Resultados inferenciales | 51 |
| CAPÍTULO VI: DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS | | 72 |
| 6.1 | Contrastación y demostración de la hipótesis con los resultados | 72 |
| 6.2 | Contrastación de los resultados con otros estudios similares. | 73 |
| 6.3. | Responsabilidad ética | 90 |
| CONCLUSIONES | | 91 |
| RECOMENDACIONES | | 91 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | | 93 |
| ANEXOS | | 104 |



INDICE DE TABLAS DE CONTENIDO

| | | N° Página |
|----------|---|--------------|
| Tabla 1 | Valoración descriptiva de la calidad microbiológica de la carne de pollo molida en 10 ensayos analíticos | 50 |
| Tabla 2 | Supervivencia de Salmonella ssp. en carne molida de pollo. | 51 |
| Tabla 3 | Parámetros de supervivencia de Salmonella sp. en carne de pollo molida según Modelo de Gompertz | 52 |
| Tabla 4 | Comportamiento del pH en la carne molida de pollo durante el tiempo de supervivencia de Salmonella sp. a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C | 53 |
| Tabla 5 | Supervivencia de Escherichia coli. en carne molida de pollo | 54 |
| Tabla 6 | Parámetros de supervivencia de Escherichia coli en carne molida de pollo según Modelo de Gompertz | 55 |
| Tabla 7 | Comportamiento del pH en la carne molida de pollo durante el tiempo de supervivencia de E. coli a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C. | 56 |
| Tabla 8 | Supervivencia de Bacterias ácido lácticas en carne molida de pollo | 57 |
| Tabla 9 | Parámetros de supervivencia de Bacterias ácido lácticas en carne de pollo molida según Modelo de Gompertz | 58 |
| Tabla 10 | Comportamiento del pH en la carne molida de | 59 |



pollo durante el tiempo de supervivencia de Bacterias ácido lácticas a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C.

| | | |
|----------|--|----|
| Tabla 11 | . Parámetros cinéticos de la destrucción térmica de Salmonella sp, $-k_{max}$ (Log UFC/g/m y LOG ₁₀ (N ₀), a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C, en la carne molida de pollo | 62 |
| Tabla 12 | Tiempo de reducción decimal (Factor D) óptimo para inactivar Salmonella sp | 62 |
| Tabla 13 | Parámetros cinéticos de la destrucción térmica de Escherichia coli: $-k_{max}$ (Log UFC/g/m y LOG ₁₀ (N ₀), a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C, en la carne de gallina molida. | 65 |
| Tabla 14 | Tiempo de reducción decimal (Factor D) óptimo para inactivar E. coli | 66 |
| Tabla 15 | Parámetros cinéticos de la destrucción térmica de Bacterias ácido lácticas, Velocidad de muerte celular $-k_{max}$ (Log UFC/g/m) a partir de la población inicial (LOG ₁₀ (N ₀), a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C, en la carne molida de pollo. | 69 |
| Tabla 16 | Tiempo de reducción decimal (Factor D) óptimo para inactivar Bacterias ácido lácticas | 69 |

INDICE DE TABLAS DE FIGURAS

| | | N° Página |
|----------|--|--------------|
| Figura 1 | Ajuste lineal del comportamiento del pH en la carne de pollo molida durante la estimación de la sobrevivencia de Salmonella ssp. a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C | 53 |
| Figura 2 | Ajuste lineal del comportamiento del pH en la carne de pollo molida durante la estimación de la sobrevivencia de E. coli a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C | 56 |
| Figura 3 | Ajuste lineal del comportamiento del pH en la carne de pollo molida durante la estimación de la sobrevivencia de Bacterias ácido lácticas a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C | 59 |
| Figura 4 | Curvas de destrucción térmica de Salmonella ssp. a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C | 60 |
| Figura 5 | Determinación del valor D de Salmonella ssp. a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C, según modelo de Bigelow | 63 |
| Figura 6 | Curvas de destrucción térmica de Escherichia coli a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C en carne de pollo molida. | 64 |
| Figura 7 | Determinación del valor D de Escherichia coli a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C, según modelo de Bigelow | 67 |
| Figura 8 | Curvas de destrucción térmica de Bacterias ácido lácticas a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C en carne de pollo molida. | 68 |
| Figura 9 | Determinación del valor D para las Bacterias ácido lácticas a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C, según modelo de Bigelow | 69 |



RESUMEN

La presencia de microorganismos patógenos o alterantes en la carne molida de pollo se debe a la contaminación cruzada y es típica para ella y requieren de control apropiado por proceso de calentamiento. El objetivo general fue el modelamiento de curvas de supervivencia no lineal para determinar la inactivación térmica de *Salmonella ssp* (Sss), *Escherichia coli* (EC) y bacterias ácido lácticas (BAL) en la carne molida de pollo (CMP). Se establecieron tres grupos experimentales de CMP; un grupo fue inoculado con Sssp, otro con EC y el último con BAL, todos ellos contenían niveles de 6 Log UFC/g. Los grupos se expusieron a temperaturas de 55, 60, 65 °C. Se analizaron a diferentes intervalos de tiempo para obtener curvas sigmoidales de muerte celular, ajustados con el modelo de Gompertz. Los resultados demuestran que las BAL y Sssp son más sensibles a las temperaturas de 65 °C con $-k_{max}$ de 0.6 y 0.51 Log UFC/g/m', respectivamente; mientras que EC resiste a dicha temperatura con $-k_{max} = 0.351$ Log UFC/g/m'. La disminución de la población bacteriana, como Unidades Logarítmicas (UL Log UFC/g) y con variación de pH de la CMP es mayor para BAL 5.35 UL y Δ pH/t de 0.16, Ssp con 4.83 UL y Δ pH/t 0.24; y EC con 4.89 UL y Δ pH/t 0.24. Los tratamientos térmicos al final del tiempo letal denotan la existencia de supervivientes. El modelo de Bigelow permitió obtener los valores D para cada temperatura. El $D_{65\text{ °C}}$, tuvo mayor efecto sobre Ssp y BAL con 0.78 y 0.82 minutos; mientras que el valor $D_{65\text{ °C}}$ para EC fue de 0.93 minutos. Se llega a la conclusión que las temperaturas mayores a 65 °C tienen efecto, en mayor grado, sobre Ssp y las BAL; mientras que EC muestra ligera resistencia a cada una de las temperaturas experimentadas. Los procesos de supervivencia de Ssp, EC y BAL presentaron curvas de tipo sigmoideo que fueron ajustados con el modelo de Gompertz y se pueden linealizar con el modelo de Bigelow.



Palabras clave: Efecto térmico sobre bacterias, Supervivencia bacteriana, microbiología predictiva

ABSTRACT

The presence of pathogenic or spoilage microorganisms in ground chicken meat is due to cross contamination and is typical for it and requires appropriate control by heating process. The general objective was the modeling of non-linear survival curves to determine the thermal inactivation of *Salmonella* ssp (Sss), *Escherichia coli* (EC) and lactic acid bacteria (BAL) in ground chicken meat (CMP). Three experimental groups of CMP were established; one group was inoculated with Sssp, another with EC and the last with BAL, all of them contained levels of 6 Log CFU / g. The groups were exposed to temperatures of 55, 60, 65 ° C. They were analyzed at different time intervals to obtain sigmoidal cell death curves, adjusted with the Gompertz model. The results show that BAL and Sssp are more sensitive to temperatures of 65 ° C with $-k_{max}$ of 0.6 and 0.51 Log CFU / g / m', respectively; while EC resists at said temperature with $-k_{max} = 0.351$ Log CFU / g / m'. The decrease of the bacterial population, as Logarithmic Units (UL Log CFU / g) and with variation of pH of the CMP is greater for BAL 5.35 UL and $\Delta \text{pH} / t$ of 0.16, Ssp with 4.83 UL and $\Delta \text{pH} / t$ 0.24; and EC with 4.89 UL and $\Delta \text{pH} / t$ 0.24. Heat treatments at the end of the lethal time denote the existence of survivors. The Bigelow model allowed obtaining the D values for each temperature. D65 ° C had a greater effect on Ssp and BAL with 0.78 and 0.82 minutes; while the D65 ° C value for EC was 0.93 minutes. It is concluded that temperatures above 65 ° C have an effect, to a greater degree, on Ssp and BAL; while EC shows slight resistance to each of the temperatures experienced. The survival processes of Ssp, EC and BAL presented sigmoid-type curves that were fitted with the Gompertz model and can be linearized with the Bigelow model.



Keywords: Thermal effect on bacteria, Bacterial survival, predictive microbiology

INTRODUCCION

Una de las vías de entrada más importantes de los microorganismos al ser humano es a través de la cadena alimentaria. De los microorganismos ingeridos, son los patógenos los que producen enfermedades transmitidas por alimentos. En la industria de alimentos, se procura usar cualquier tecnología alternativa o la combinación de varias tecnologías tradicionales y no tradicionales, así como la optimización de métodos tradicionales para el procesamiento de alimentos; sin embargo, se requieren de datos científicos acerca de la respuesta microbiana a dichos tratamientos.

Las canales de pollo presentan unos índices de carga microbiana después del sacrificio muy superiores al de otras especies no avícolas. Esto se debe a que la piel sin ningún tipo de tratamiento agresivo, y por tanto con su flora microbiana, llega al producto final. Existen una serie de grupos microbianos cuya evaluación en las canales puede indicarnos la calidad microbiológica, el grado de higiene en los procesos y el mantenimiento o no del frío, así como ayudarnos a predecir la posible vida comercial del producto.

La carne de aves en general, y la de pollo en particular, es un vehículo muy importante de microorganismos patógenos para el hombre, principalmente *Salmonella* spp. quien es el microorganismo de mayor incidencia en carne de ave y a la vez responsable de la mayor parte de enfermedades gastroentéricas al año en el humano. La habilidad de *Salmonella* para sobrevivir en la cadena agroalimentaria se debe en parte a su capacidad para responder efectivamente a los cambios medioambientales. Por otro lado, *Escherichia coli* (*E. coli*) es una bacteria



entérica y algunas de ellas, como E. coli productora de toxina Shiga, pueden causar graves enfermedades a través de los alimentos. Se transmite al hombre principalmente por el consumo de alimentos contaminados, como productos de carne picada cruda o poco cocida, leche cruda, y hortalizas y semillas germinadas crudas contaminadas.

Compartiendo la matriz cárnica existen microorganismos en la carne de pollo refrigerados, como causantes del deterioro, estas son las bacterias ácido lácticas, que se encuentran en forma común ejerciendo en algunos casos efectos sinérgicos para el deterioro o inhibición de bacterias patógenas.

Todos estos grupos bacterianos, de posible presencia en la carne molida de pollo, favorecen la presencia de las enfermedades transmitidas por los alimentos, cuando el peligro microbiano no se ha disminuido o eliminado; por lo tanto, se hace necesario conocer y valorar las estrategias para lograr eliminarlos de la carne molida de pollo utilizando las técnicas de inactivación térmica.

Teniendo en cuenta las ventajas de este tratamiento varias investigaciones se han enfocado en la evaluación de la resistencia térmica bacteriana sobre matrices cárnicas, proporcionando información interesante, como el indicar que las cepas presentes en los productos cárnicos logran una resistencia térmica, debido a la presencia de sales, grasa adicionada y texturizantes, afectando la cinética de penetración del calor a los alimentos; por tal motivo, la estimación de los parámetros de inactivación, como valor D o tiempo de reducción decimal, permite designar un tratamiento térmico adecuado basado en la sensibilidad o la resistencia del microorganismo.

La resistencia de las bacterias a tratamientos térmicos es debido a que estas cuando ingresan a entornos que le ofrecen condiciones adversas a



su crecimiento y desarrollo. genera la resistencia generando mecanismos de defensa para acondicionarse a situaciones adversas

La mayoría de las investigaciones reporta información siguiendo cálculos utilizando formulas cuyas variables requieren de numerosos ensayos experimentales, exigencias de materiales y tiempo prolongados; así como la relación de dos o más variables no son confiables.

El presente estudio evaluó cuantitativamente el comportamiento del crecimiento, supervivencia o inactivación de microorganismos en la carne molida de pollo utilizando modelos matemáticos predictivos para optimizar su utilización en la elaboración de sus productos y desarrollar tratamientos de inactivación, nuevas formulaciones de productos y condiciones de conservación y envasado más seguro.

Se utilizó el modelo de Baranyi & Roberts contenido en el Software Combase que ajusta datos experimentales cuyo comportamiento es de tipo sigmoideo; para lo cual, fue necesario obtener un conjunto de datos de muerte celular en función del tiempo y condiciones adversas de temperatura y pH, que ofrece la carne de pollo molida, obteniendo los parámetros de velocidad de muerte celular y la población de células bacterianas sobrevivientes. El evento descrito por el modelo de Baranyi & Roberts sirvió de base para determinar el tiempo de destrucción térmica utilizando el modelo Bigelow y de esta forma obtener una respuesta de expresión matemática de tipo lineal, que permita describir el evento como una ecuación de primer orden.

Numerosos estudios indican que las bacterias que se encuentran en la carne molida de pollo *son más* resistentes al calor cuando se encuentra dentro de los alimentos, debido a los factores intrínsecos del alimento en comparación con los valores obtenidos dentro de un medio de cultivo o



matriz sintética de laboratorio (Casadei *et al.* 1998; Doyle *et al* 2001). Siguiendo éste criterio, este estudio se realizó en una matriz real como la carne molida de pollo para encontrar los parámetros supervivencia e inactivación para *Salmonella ssp.*, *Escherichia coli* y Bacterias ácido lácticas y, de esta manera, se obtuvieron datos que puedan ser utilizados en procesos térmicos industriales.

I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

El proyecto de investigación surge a raíz de la problemática de la calidad y seguridad microbiológica de la carne de pollo y la necesidad de contar con niveles de referencia actualizados para el tratamiento térmico que se debe utilizar cuando es incorporado en productos cárnicos elaborados a escala industrial o artesanal para garantizar la calidad y seguridad microbiológica.

Son tres los tipos generales de microorganismos que constituyen la población microbiana de las canales de aves de corral: la flora natural de la piel, la flora transitoria de las plumas que pasa a la piel en el momento del sacrificio, y los contaminantes a la piel que se adquieren durante el procesamiento (Ordoñez y García de Fernando, 2014).

Como indicadores microbiológicos para evaluar la seguridad, las condiciones de saneamiento durante el procesamiento y mantenimiento de la calidad en aves de corral se han utilizado microorganismos y distintos grupos microbianos entre los que se pueden destacar: mesófilos, psicrótrofos, coliformes, *Escherichia coli* y estafilococos coagulasa positivos (ICMSF, 1980, 1983; Bermúdez y Rodríguez, 2001; Mead, 2005).

Como herramienta de control en la industria de alimentos, se han implementado los tratamientos térmicos con el objetivo de destruir



poblaciones de microorganismos presentes en los alimentos y así garantizar la inocuidad y la vida útil de los mismos (Asselt & Zwietering, 2006; Wilson & Droby, 2001).

Teniendo en cuenta las ventajas de este tratamiento varias investigaciones se han enfocado en la evaluación de la resistencia térmica de *L. monocytogenes* sobre matrices alimentarias en productos lácteos y cárnicos, proporcionando información interesante, como el indicar que las cepas presentes en productos curados o con aditivos logran una resistencia térmica, debido a la presencia de sales, de grasa adicionada y de texturizantes, como la proteína de soya, afectando la cinética de penetración del calor a los alimentos (Soyutemiz & Etünkaya, 2005; Passos & Kuaye, 2002).

Los problemas de las enfermedades transmitidas por los alimentos (ETAs) por consumo de carne de pollo es un problema el cual se debe afrontar por todos los agentes que intervienen en la cadena alimentaria, debiéndose establecer criterios microbiológicos que permitan determinar la aceptabilidad o rechazo del producto en cuestión. El Codex Alimentarius establece que el criterio microbiológico para un alimento define la aceptabilidad de un producto o un lote de un alimento basada en la ausencia o presencia, o en la cantidad de microorganismos, incluidos parásitos, y/o en la cantidad de sus toxinas/metabolitos, por unidad o unidades de masa, volumen, superficie o lote (FAO, OMS, 2009)

Las canales de pollo presentan índices de contaminación microbiana después del sacrificio debido a que la piel sin ningún tipo de tratamiento agresivo, y por tanto con su flora microbiana, llega al producto final. Existen una serie de grupos microbianos cuya evaluación en la superficie de las canales puede indicarnos la calidad microbiológica, el grado de higiene en los procesos y el mantenimiento o no del frío, así como



ayudarnos a predecir la posible vida comercial del producto. (Dainty y col. 1992, Fung 2003).

Por otro lado, cuando se refiere a la forma de evaluar la seguridad alimentaria, las condiciones de saneamiento durante el procesamiento y mantenimiento de la calidad en aves de corral, se han utilizado como indicadores microbiológicos distintos grupos microbianos entre los que se pueden destacar: mesófilos, psicrótrofos, coliformes, *Escherichia coli* y estafilococos coagulasa positivos (ICMSF, 1980, 1983; Alvarez -Astorga, et al., 2002; Bermúdez y Rodríguez, 2001; Mead, 2005).

Son tres los tipos generales de microorganismos que constituyen la población microbiana de las canales de aves de corral: la flora natural de la piel, la flora transitoria de las plumas que pasa a la piel en el momento del sacrificio, y los contaminantes a la piel que se adquieren durante el procesamiento (Ordoñez y García de Fernando, 2014).

Se han propuesto varios mecanismos, para explicar la presencia de bacterias en las canales de aves de corral, retención, adhesión y atrapamiento (Thomas et al., 1987; ICMSF, 1998; Brown et al., 2014); cada una ellas constituyen problemas que deben ser atendidos a fin de evitar la pérdida de su inocuidad.

Desde el inicio de la obtención de la carne del pollo se observa que el nivel de contaminación está relacionado directamente con la concentración microbiana del agua de procesamiento, generando la retención bacteriana que se produce cuando las canales entran en contacto con agua que contiene bacterias, debido a que una película de agua se retiene en la superficie de la canal. (McMeekin y Thomas, 1978).



Los tejidos por su parte tienen la propiedad de atrapar bacterias (piel, tejido conjuntivo, músculo) y esto se produce cuando absorben agua y comienzan a hincharse produciéndose fisuras por donde las bacterias penetran quedando atrapadas (Thomas y McMeekin, 1980,1984; Lillard, 1989; Benedict et al., 1991). Cuanto mayor es el daño físico de la epidermis y la exposición de la capa dérmica, mayor es el riesgo de atrapamiento y adhesión a la piel (Kim y Doores, 1993;).

Así mismo, el tipo de tejido favorece la adhesión bacteriana en sus superficies. Este mecanismo solo es posible en algunas bacterias. Campbell et al., (1987) observó que todas las cepas estudiadas de Salmonella tenían la capacidad de adherirse a la fascia muscular o tejido conjuntivo que se encuentra bajo la piel del pollo. Las bacterias parecen adherirse preferentemente al tejido conjuntivo en lugar de a las fibras musculares (Benedict et al., 1991).

Respecto al escaldado, proceso que facilita el desplumado de las aves, puede ser un punto importante de contaminación (Cox y Pavic, 2010). El escaldado por inmersión es el más común, el tiempo de escaldado y la temperatura harán distintas funciones. La piel sin cutícula es el sustrato más adecuado para la fijación de Salmonella (Kim et al., 1993), y del crecimiento de organismos alterantes (Ziegler and Stadelman, 1955; Essary et al., 1958; Clark, 1968; Berner et al., 1969).

Durante el escaldado, el polvo de las plumas, la materia fecal de las patas y el contenido del tracto intestinal son liberados en el agua del escaldador. Además, el agua del escaldador es recogida por las plumas y la piel durante el escaldado, al tener los poros abiertos de la piel permite que una gran variedad de bacterias que se ha encontrado en el agua del escaldador como por ejemplo: *Clostridium*, *Micrococcus*, *Proteus*,



Pseudomonas, *Salmonella*, estafilococos, entre otros pueden contaminar los tejidos.

El siguiente paso en la cadena de sacrificio es el eviscerado automático. En esta etapa los microorganismos se transmiten directamente de la canal a los equipos de extracción (Galton et al., 1955). La evisceración mecánica, requiere un mantenimiento adecuado y una limpieza continua de la maquinaria para evitar un aumento de la contaminación de las canales de aves (Simonsen, 1975; Cox y Pavic, 2010). Lo más importante en la evisceración automática es la uniformidad de las aves sacrificadas, ya que la variación en el tamaño de las aves aumenta la probabilidad de rasgados cloacales inadecuados, intestinos dañados y contaminación de la canal por rotura del paquete intestinal.

La refrigeración de las canales es necesaria para retrasar el crecimiento de bacterias alterantes y psicrotrofas, así como para prevenir el crecimiento de microorganismos patógenos. Una vez enfriadas las canales, éstas pueden ser vendidas en canal o en despiece y a su vez a granel o en bandejas, así como transformada en una amplia variedad de productos. La contaminación microbiana puede ocurrir durante la manipulación y el procesamiento en la planta. La vida útil del producto se ve afectada significativamente por el grado de contaminación de bacterias psicrotrofas, y de los diversos instrumentos en contacto con las canales como son ganchos transportadores, cuchillos y mesas. El equipo puede ser un medio de contaminación cruzada con patógenos entéricos durante el resto del proceso. La contaminación con psicrotrofos que persisten en última instancia en el ambiente de trabajo frío puede influir significativamente en la vida útil del producto (Mead, 2005; Bolton et al., 2014).



A pesar del gran volumen de comercialización y las diferencias entre países relacionados con los estándares microbiológicos de la carne de pollo, no hay publicaciones científicas que demuestren los riesgos reales para la salud humana relacionados con su consumo. El objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad microbiológica de carne molida de pollo como producto para el consumo humano utilizando pruebas cuantitativas bajo el entorno del modelamiento matemático y la microbiología predictiva.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿De qué forma se puede valorar la inactivación térmica sobre de *Salmonella ssp*, *Escherichia coli* y Bacterias ácido lácticas en la carne molida de pollo?

1.2.2. Problemas específicos

- ¿De qué forma se puede establecer las características de la supervivencia de *Salmonella ssp*?, *Escherichia coli* y Bacterias ácido lácticas en la carne molida de pollo?
- ¿Cuál es la barrera térmica que se requiere para inactivar a *Salmonella ssp*?, *Escherichia coli* y Bacterias ácido lácticas en la carne molida de pollo?



1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

Modelar curvas de supervivencia no lineal de *Salmonella ssp.*, *Escherichia coli* y Bacterias ácido lácticas para determinar su inactivación térmica en la carne molida de pollo

1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar los parámetros cinéticos de la supervivencia de *Salmonella ssp.*, *Escherichia coli* y Bacterias ácido-lácticas en la carne molida de pollo a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C, mediante el modelo matemático de Gompertz
- Modelar las curvas de supervivencia no lineal de *Salmonella ssp.*, *Escherichia coli* y Bacterias ácido lácticas en carne molida de pollo para determinar la inactivación térmica a 55 °C, 60 °C y 65 °C, utilizando el modelo de Bigelow
- Establecer el tiempo de reducción decimal (Factor D) óptimo para inactivar *Salmonella ssp.*, *Escherichia coli* y Bacterias ácido lácticas en la carne molida de pollo, sometidas a 55 °C, 60 °C y 65 °C.

1.4. Limitantes de la investigación

El presente estudio se basa en los alcances teóricos existentes sobre la supervivencia de bacterias que ocasionalmente puedan estar presentes en la carne molida de pollo, y que su control y conservación dependen de la aplicación de temperaturas de cocción estandarizadas que no modifiquen las propiedades sensoriales del alimento y ser apetecibles por el consumidor, confiando que los tratamientos térmicos utilizados son suficientes para garantizar la inocuidad del alimento. El diseño experimental establecido en este estudio confronta a las teorías sobre supervivencia y tiempo de destrucción térmica bacteriana, para cumplir con las condiciones de inocuidad del alimento en una matriz natural.



El estudio se realizó en el laboratorio de Ciencias Naturales en el cual existe la infraestructura para ser investigación experimental asistido, además, por equipos y sensores de pH y Temperatura e infraestructura básica técnicas de microbiología predictiva. Así mismo, se ha considerado trabajar dentro del limitante temperatura de 55 °C, 60 °C y 65°C que se aplicará a la matriz de la carne molida de pollo para controlar *Salmonella* ssp, *Escherichia coli* y Bacterias ácido lácticas; en las cuales se busca disminuir la carga bacterianas patógenas y alterantes en función del tiempo y el pH de la matriz.

El tiempo del estudio comprendió doce meses de ensayos repetitivos para etapas de adecuación de métodos y ensayos experimentales para obtener resultados de supervivencia y tiempo de destrucción térmica, de las bacterias ensayadas.

II. MARCO TEORICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. Antecedentes internacionales

Al aplicar los tratamientos térmicos a los alimentos para su conservación, surgieron diversos enfoques, iniciándose con la selección de temperaturas que mantengan la estabilidad de alimento desde el punto de vista físico químico, considerando dentro de estos tratamientos el control de los microorganismos. El transcurrir del tiempo a demostrado que muchos microorganismos son resistentes a temperaturas de conservación y en muchos casos se reactivan por mecanismos de adaptación y alteran los alimentos.

El desarrollo de tecnologías en la industria de los alimentos tratados térmicamente a temperaturas altas sea por pasteurización o esterilización basados en la penetración de calor, actualmente se realizan mediante



métodos clásicos como el método de integración gráfica de Bigelow, el método analítico de Ball, y el método de Patashnik. (Aguado, 1999)

Últimamente los estudios están atendiendo los mecanismos metabólicos y genéticos de las bacterias nativas o contaminantes de los alimentos, lo cual requiere hacer estudios de tratamientos térmicos in vitro, en medios sintéticos y cuyos resultados se extrapolan a la elaboración de alimentos a escala industrial.

Investigaciones recientes como el de Marcen ((2018), utilizando *Escherichia coli* como microorganismo modelo, estudió de manera directa o indirecta la aparición de desequilibrios oxidativos tras los diversos tratamientos térmicos. Los resultados obtenidos mostraron generación de estrés oxidativo en todos los tratamientos estudiados (calor, APH, PEAV y acidez). Además, se analizó la presencia de daños en otras estructuras como las membranas, proteínas y ADN, poniéndose de manifiesto la gran importancia de los fenómenos relacionados con el daño al ADN para las células tratadas por acidez, y de la agregación de proteínas citoplasmáticas en el caso de las células tratadas por altas presiones.

La utilización de modelos predictivos para predecir el comportamiento de microorganismos frente a factores intrínsecos y extrínsecos ha sido más estudiada en el caso de los patógenos, sin embargo, son más reducidas las investigaciones que han desarrollado modelos predictivos referentes al comportamiento de microorganismo alterantes en alimentos (Wijtzes, Rombouts, Kant- Muermans, Van't Riet, y Zwietering, 2001) entre estos estudios encontramos el realizado por Rodríguez (2003) en el que evaluó el comportamiento del crecimiento de alterantes como *Leuconostoc mesenteroides*

Actualmente el tratamiento térmico es el método más utilizado para la preservación de los alimentos y garantizar la destrucción de los patógenos, reducir los riesgos microbianos a niveles seguros, y



proporcionar seguridad alimentaria (Doyle et al., 2001; Van Zuijlen et al., 2010; Garre et al., 2017). Sin embargo, la aplicación de un tratamiento térmico conlleva una reducción de las propiedades nutricionales y organolépticas de los alimentos tratados, lo cual choca con las tendencias actuales del mercado (demanda de productos mínimamente procesados) (McMeekin et al., 2007).

La aplicación de temperatura letales a matrices coloidales como la carne molida de pollo debe ser efectivas e inmediatas para evitar el crecimiento de la carga bacteriana existente en su matriz tratando de eliminar la mayor cantidad de unidades celulares y mantener una carga bacteriana con menor cantidad de sobrevivientes. Prescott et al. (2000), definen el tiempo de muerte térmica (TMT) como el tiempo más corto necesario para destruir todos los organismos de una suspensión microbiana, a una temperatura específica y en condiciones específicas. No obstante, al tratarse de una destrucción logarítmica, no es posible “destruir completamente” los microorganismos por lo que es más preciso el uso del tiempo de reducción decimal (valor D), definido como el tiempo necesario para reducir en un 90% la población microbiana (Prescott et al., 2000).

La naturaleza de la carne molida de pollo ofrece condiciones intrínsecas como la humedad y pH que puede modificarse por la carga bacteriana existente utilizando mecanismos metabólicos en un tiempo muy corto convirtiendo su entorno en un factor de estrés subletal y predisponerlos a la resistencia térmica posterior. O’Driscoll et al. (1996), demostró en su estudio como las células del microorganismo adaptadas al entorno ácido al que se sometió la bacteria (pH 5.5 tratamiento sub-letal, pH 3.5 tratamiento letal) incrementó su resistencia a otros estreses, tales como el estrés térmico y osmótico y los compuestos cristal violeta y etanol (O’Driscoll et al., 1996; Davis et al., 1996).



Clemente (2017), determinó el efecto de un choque ácido en *Salmonella* entérica a pH 4,5 y a pH 7 exponiéndolo posteriormente a distintas temperaturas, así como también, el efecto de la termorresistencia de este microorganismo, en un medio de calentamiento a pH 4,5 y pH 7 y determinar si se produce o no daño subletal. Demostró que un choque ácido previo disminuye la termorresistencia de *Salmonella* entérica provocado daños en la membrana externa de la célula. En un tratamiento con medio de calentamiento a pH 4,5 y pH 7 se vio que no causaba daño subletal en la membrana externa de la célula.

La estimación de los parámetros de inactivación térmica de los microorganismos permite designar un tratamiento de control adecuado dentro de los procesos de transformación en la producción de alimentos. Botina y col (2007), determinaron parámetros de inactivación, a partir de la constante de velocidad de destrucción térmica (k), utilizando el modelo de inactivación de Bigelow en diferentes cepas de *Listeria monocytogenes*. que fueron expuestas a temperaturas de 55°, 60°, 65°, 70° y 72°C durante tiempos definidos para cada una de ellas, de igual forma, se sometió a reto térmico la mezcla de las seis cepas utilizadas. Los valores D obtenidos a 55°, 60°, 65°, 70° y 72°C oscilaron entre 5-12,79; 2,64-3,86; 1,51-2,39; 0,91-1,75 y 0,66-1,03min. respectivamente. Se observó que los valores D más altos en todas las temperaturas fueron los presentados por las cepas de alimentos y de ambientes de plantas procesadoras, en comparación con aquellos pertenecientes a la cepa referencia.

Xingning, (2019), describió las reducciones de *Salmonella* inoculadas en pollo durante el proceso de escaldado en China utilizando el modelo de Weibull, exponencial y lineal. Las reducciones de *Salmonella* en las pechugas de pollo en un tratamiento de 100 s fueron 1.12 ± 0.07 , 1.38 ± 0.01 y 2.17 ± 0.11 log UFC/g a temperaturas de escaldado de 50, 60 y 70 °C, respectivamente. Para las alitas de pollo, se obtuvieron reducciones

de $0,87 \pm 0,02$, $0,99 \pm 0,14$ y $1,11 \pm 0,17$ log UFC / g a 50, 60 y 70 °C después del tratamiento de 100 s, respectivamente. El modelo Weibull mostró el mejor ajuste según lo indicado por los valores el pseudo- R^2 , el error cuadrático medio (RMSE) y el error estándar de predicción (SEP).

2.1.2. Antecedentes nacionales

La carne fresca del pollo y la mayoría de los productos elaborados con ella está considerada dentro del grupo de los alimentos altamente perecederos y fácilmente contaminables y ofrecen las condiciones necesarias para el crecimiento de microorganismos involucrados en daños y enfermedades de origen alimentario, permitiendo que los microorganismos se multiplican con rapidez, especialmente a temperaturas por encima de la de refrigeración, resultando en pérdidas de calidad y/o problemas de salud pública (Arango y Restrepo, 1999).

Actualmente los consumidores exigen alimentos mínimamente tratados y procesados y son los tratamientos térmicos los que han demostrado ser efectivos cuando se trata de controlar los microorganismos patógenos en la carne de pollo, por lo tanto existe necesidad de que el efecto térmico debe minimizarse reduciendo el tiempo e intensidad de calor y de esta forma poder eliminar el uso de los aditivos químicos; así como, mantener la estructura de la carne en condiciones de desnaturalización por cocción pero cautelando su valor nutritivo y condiciones organolépticas naturales.

Según las cifras del Sistema Integrado de Estadísticas Agrarias del Ministerio de Agricultura y Riego (Minagri), durante el periodo enero-abril del año pasado la producción nacional de carne de pollo fue de aproximadamente 520 mil toneladas, en el mismo espacio de tiempo el consumo per cápita nacional fue de 16 kg y de Lima fue de 27 kg. Al



cierre del año 2019 el consumo per cápita nacional fue de 51 kg y 87 kg en Lima Metropolitana.

El nivel alto de consumo de la carne de pollo obliga a buscar alternativas de conservación como la refrigeración o ponerlo directamente a la venta en estado de fresco. En nuestro medio y mercados los estantes de refrigeración son programados a 7 y 10°C y en algunos casos se mantienen apagados por la noche. Por otro lado, vemos que los supermercados han implementado tecnologías, “pasillos fríos” para disminuir el diferencial de temperatura entre el anaquel y el medio ambiente, logrando establecer temperaturas por encima de los 15°C. Situación que preocupa al vendedor porque contradice las condiciones de conservación que él mismo obliga en sus etiquetas de venta, debido a que la ruptura de la cadena de frío conduce a su alteración de tipo microbiano.

Los estudios realizados a la fecha se dedican a medir el efecto térmico sobre bacterias exclusivamente patógenas, en forma individual y en medios sintéticos; así mismo, es poca la atención que se les presta al comportamiento del crecimiento de microorganismos alterantes. Sus resultados se extrapolan a tecnologías de productos cárnicos a escala industrial en los cuales no se puede garantizar la inocuidad de la carne de pollo la que después será utilizada para elaborar productos como hamburguesas, salchichas, etc. En estos productos la contaminación bacteriana sobreviviente será capaz de reactivarse y producir enfermedades de origen alimentario.

En nuestro país existen reportes científicos que demuestran la incidencia y esfuerzos por controlar los patógenos presentes en la carne de pollo. Lavado, (2017), propone la revisión y adecuación de la Norma Técnica Sanitaria peruana para productos cárnicos, a valores que constituyan una



protección al consumidor frente al riesgo para la salud que significa la contaminación microbiana presente en la carne de aves comercializada en nuestros mercados.

Lavado, (2017), realizó un estudio comparativo entre la carne de pollo comercializada bajo cadena de frío en supermercados y muestras de carne de pollo comercializada sin cadena de frío, procedentes de mercados de abasto y mercadillos zonales. Encontró que los parámetros de mesófilos de supermercado se encuentran entre 0.02×10^7 y 0.18×10^7 UFC/g, valores que están dentro de los límites permisibles establecidos en la Norma técnica peruana que establece rangos aceptable y máximo de 10^5 y 10^7 UFC/g respectivamente (NTS 071-MINSA/DIGESA-V.01.); mientras que en los otros tipos de mercado la carga microbiana es mayor que el límite permisible.

Domínguez, (2014), observó que la superficie de las canales de pollo refrigerado contaminado con *L. monocytogenes* fue descontaminado con ácido láctico 2.5%. demostrando la acción bactericida del ácido láctico, pero su uso no reemplazaría las buenas prácticas ni a la higiene durante el proceso de beneficio o el almacenamiento en las cámaras frigoríficas.

Huanca y Sanchez, (2019). Demostró que la presencia de *Salmonella* sp. tiene ligero predominio de 57,7% en las muestras de músculo de la carne de pollo (*Gallus gallus domesticus*) beneficiada. En cuanto a su presencia en los tipos de mercado (Jaén, Perú), se observó que la presencia de *Salmonella* sp. fue más frecuente en el Mercado Sol Divino en el 78,6% de muestras, seguido por el Mercado Central en el 75,0% de las muestras. Por otro lado, el número de *Escherichia coli* en vísceras de pollo beneficiada tuvieron mayores recuentos (mediana: 51×10^7 UFC/g). Asimismo, el Mercado Sol Divino y Mercado Central fueron los que



mostraron los mayores recuentos de *E. coli*: medianas de 29.8×10^8 UFC/g y 8.1×10^8 UFC/g, respectivamente.

Muñoz, (2017), demostró que la carne de pollo con recubrimiento con goma de tara contaminadas con bacterias psicrófilas, aumentaron 61.8 UFC/ml a través de 20 días, mientras que el control alcanzó 617.2 UFC/ml. Se comprobó que el tratamiento de higienización de la muestra disminuyó el microbiota natural, pero no la eliminó completamente

2.2. Marco

2.2.1. Teórico

Los datos epidemiológicos sobre las infecciones transmitidas por los alimentos han demostrado un aumento significativo de la salmonelosis en los últimos treinta años, incluso en países con excelentes servicios de salud. El pollo y las carnes rojas se consideran las principales rutas de transmisión de la salmonelosis, y la contaminación de los alimentos para animales se ha reconocido como la principal ruta de transmisión de enfermedades para los animales, resultando en una gran cantidad de portadores de *Salmonella* spp. clínicamente sanos, posibles diseminadores de este microorganismo, incluso durante el procesamiento de los cadáveres (SILVA, 1998).

Debido a que las carnes mantienen una carga microbiana diversa contaminante se debe tener formas de estimarlas para valorar la inocuidad y calidad de los alimentos y la forma más simple es numerando los microorganismos indicadores. Así tenemos que la numeración de mesófilos aerobios proporciona una estimación de la población microbiana total y cuando estos son altos generalmente están relacionados con la baja calidad y la vida útil de los alimentos se reduce (GILL, 1998; Jay, 2000). Los recuentos de Coliformes Totales y *Escherichia coli* pueden estimar las fallas de higiene e indicar la contaminación de origen fecal, y



los recuentos altos de estos grupos de microorganismos pueden estar relacionados con niveles significativos de enteropatógenos, como *Salmonella* spp. (Jay, 2000; Eisel, 1997).

El proceso tecnológico para obtener la carne de pollo tiende a sostener o incrementar la contaminación cruzada la cual se instala por todas sus etapas. Durante el desplume la carga bacteriana que se encuentra en las plumas es muy alta haciendo que en las siguientes etapas permitirá la sobrevivencia de muchos tipos bacterianos incluyendo a los patógenos. Kotula y col (1995), encontraron en las plumas, piel y patas contenían un promedio de bacterias aeróbicas de 8 UFC log/g, un nivel en el cual los cadáveres de los pollos se considerarían en mal estado. La incidencia de *E. coli* varió de 42.5 a 100%, *Salmonella* spp. varió de 27.5 a 75%, y *C. jejuni/coli* varió de 45 a 82.5%.

El siguiente paso después del desplume los cadáveres del pollo pasan por el pre enfriador en donde la carga microbiana no disminuye, destacando la presencia de las bacterias siccófilas y resistencia al frío por parte de las bacterias patógenas. Lopes y col. (2007) aislaron *Salmonella* spp. en cadáveres de pollos antes y después de pasar por el enfriador. El valor promedio de Coliformes Totales en las canales antes del preenfriador y después de dejar el enfriador y en el agua de estos tanques fue de 3.74 NMP/g, Coliformes termo Tolerantes 3.65 NMP/g; Aerobios Mesófilos 6.40 UFC/g; Microorganismos psicrótróficos 4.21 UFC / g. Concluye que en el refrigerador estudiado no hubo reducción en la contaminación bacteriana de los cadáveres durante el paso a través de los tanques.

Producto de la supervivencia de las bacterias presentes en los cadáveres de pollo se admite que es por la contaminación cruzada producida mayormente por factores extrínsecos, principalmente por su conservación en frío. Jarvis et al. (2016), demostró que, si la carne de ave listo para el



horno está contaminada por Salmonella con 10 UFC/g o incluso menos, se considera un nivel probable de contaminación natural. Un mayor número de UFC/g (100-1,000/g) significa que la multiplicación de células bacterianas es consecuencia de almacenamiento inadecuado a temperaturas más altas.

Cocinar la carne se considera como la forma más efectiva de eliminar los microorganismos que causan enfermedades transmitidas por los alimentos (De Jonge 2019). Sin embargo, al menos el 30% de los consumidores no cocinan la carne de manera adecuada (Roccatto et al. 2015). En general, se acepta que cuando la carne (incluidas las hamburguesas o cualquier otra carne triturada) se somete a una temperatura interna de 70 °C durante 2 minutos o se somete a un tratamiento térmico equivalente a 2 minutos a 70 °C, se logrará una temperatura considerable para la inactivación (reducción de 6 logs) de patógenos (Lahou et al. 2015)

Pesciaroli (2019), menciona que, la eliminación de células bacterianas durante la cocción de la carne depende de varios factores, como la resistencia térmica de las bacterias presentes, la velocidad de transferencia de calor, la composición del producto (contenido de grasa, valor de pH, etc.) y el tamaño y forma de la carne cocida. Por otro lado, los resultados de los experimentos de calentamiento, incluso los isotérmicos, están sujetos a una gran variabilidad atribuidos al método de calentamiento, la composición del producto y el diseño experimental del estudio (Stringer et al., 2000). Así también, la exposición previa de las células bacterianas a temperaturas sub-letales (46 °C) o de refrigeración (4 °C) (de Jong et al., 2012; Duffy et al., 2006b) aumenta su capacidad para contrarrestar el proceso de calentamiento. Alto contenido de grasa, alto contenido mineral o pH (Huang y Juneja, 2003) en el rango de 5-6, disminuyen la inactivación de las células bacterianas.



Actualmente se reconoce que las bacterias relacionadas con los alimentos se protegen contra las amenazas muchas veces formando biopelículas que se incrementa cuando las bacterias son metabólicamente más activas produciendo más biopelícula y así volverse más fuertes y resistentes; este comportamiento es un paso importante hacia la comprensión de interacciones complejas de bacterias y el desarrollo de nuevos modelos de tratamiento para nuevas tecnologías alimentarias.

El tratamiento térmico aplicado directamente sobre una matriz de carne molida de pollo busca impedir que la bacteria reajuste su metabolismo para compensar su debilidad convirtiéndose en una estrategia eficaz en la lucha contra los patógenos resistentes a temperaturas de cocción de los alimentos y evitar la supervivencia. Juneja y col. (2003), analizaron la supervivencia de una mezcla de *Salmonella* spp. a temperaturas fijas entre 55 °C y 71.1 °C en matrices de carne molida que contienen concentraciones de sales y concentraciones de lactato de sodio entre 0 y 4.5%. A 60 °C, al aumentar la concentración de sal de 0 a 4.5%, se predice que el tiempo para alcanzar una reducción relativa de $-\log_{10} 6.5$ aumentará de 20 min a 48 min, 2.4 minutos a 71.1 °C. El modelo predice que se necesitan más de 0.5 min para lograr una reducción relativa de $6.5-\log_{10}$.

De Jonge (2019) contaminó artificialmente con cultivos de *Salmonella* 10^9 UFC/ml chuletas de pechuga de pollo (140-175 g) y los filetes de cerdo (100-175 g), se dejaron durante la noche a 5 °C y luego sumergido en 4 L de agua caliente ($t > 90$ °C) durante 0-18 min. La superficie de la carne alcanzó una temperatura de 70 °C en 30 s. Se midió una temperatura de 90 °C después de 1 minuto y *Salmonella* todavía era detectable. Se registró un período más largo de supervivencia de *Salmonella* en la carne de aves en comparación con la carne de cerdo. El autor lo explica por la



menor conductividad térmica de las chuletas de pechuga de pollo en comparación con la carne de cerdo. La adherencia de las bacterias a la carne aumentó su resistencia térmica.

La muerte de microorganismos a una temperatura elevada es generalmente aceptada por la cinética de primer orden, la cual se basa en que a una temperatura constante el rango de muerte de los microorganismos es directamente proporcional con la concentración presente en un tiempo en particular. El resultado de la cinética de primer orden es definido por el tiempo durante el cual el número de microorganismos muere de uno a diez del número inicial en un intervalo de tiempo, independientemente del número actual (Rees y Bettison, 1991). (valor D = el tiempo en minutos necesario a una temperatura dada para reducir el número de bacterias presentes en un 90%)

Cuando se aplican temperaturas letales a bacterias patógenas presentes en las matrices de carne molida de pollo su efecto no siempre es igual para todas las bacterias presente en sus matrices, así tenemos que, Jarvis et al. (2016) establecieron valores D para *Salmonella* para varios tipos de carne de aves y varias temperaturas. Para la pechuga de pollo los valores medios de 24.0 min para D₅₅ (es decir, a 55 °C), 3.83 min para D₆₀ y solo 0.10 minutos para D₇₀. Tiempos similares se aplican para la pechuga de pavo a las mismas temperaturas (24.1, 3.83 y 0.10). Se requiere un tiempo un poco más largo (28.6, 6.79 y 0.11) para *Salmonella* en la carne de pato. De Jonge (2019), declaró un valor medio de D₇₀ de 0.147 min (es decir, 8.8 s) para *Salmonella* ssp.

Del mismo modo, Kim y col. (2019), evaluaron la tolerancia térmica de *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica* y *Staphylococcus aureus* incubados durante la noche en caldo de soja trípico a cuatro temperaturas (15, 25, 35 y 45 ° C). Después de la incubación, las bacterias fueron sometidas a tratamientos térmicos a 55,



60 y 65 ° C. Entre las cuatro especies bacterianas, E. coli generalmente tenía valores D más largos que otras bacterias. La adaptación de las bacterias a ciertas tensiones puede reducir la efectividad de los obstáculos de preservación aplicados durante las etapas posteriores del procesamiento y almacenamiento de alimentos.

Existe una necesidad urgente de información sobre los efectos de varios parámetros intrínsecos de los alimentos sobre la inactivación térmica de bacterias en sus matrices, para esto se requiere la predicción precisa y oportuna de la tasa de destrucción térmica de los patógenos transmitidos por los alimentos para que los procesadores de alimentos garanticen la seguridad alimentaria adecuada. El conocimiento de un análisis microbiológico en un solo acto es insuficiente debido a que los microorganismos supervivientes se adaptan y luego sobreviene un crecimiento bacteriano que estará sometido a un estrés térmico sobre todo durante el almacenamiento, esfuerzos subletales y la aclimatación térmica, provocando marcadas diferencias en su tolerancia posterior al tratamiento térmico.

Los modelos predictivos describen el comportamiento de los microorganismos en los alimentos cuantificando matemáticamente los efectos de las interacciones entre dos o más factores; además, permiten la interpolación de combinaciones que no se han probado explícitamente (Whiting, 1995). Estos modelos ayudan en la formulación o reformulación de productos con mayor seguridad (Ross, 1994).

La estimación de los parámetros de inactivación térmica de los microorganismos permite designar un tratamiento de control adecuado dentro de los procesos de transformación en la producción de alimentos. Los parámetros cinéticos de los modelos matemáticos se estiman por regresión de datos experimentales obtenidos en la mayoría de los casos con experimentos isotérmicos (Rhim et al., 1989a; Nunes et al., 1991).



Xiao, (2019), comparó los modelos Weibull, exponencial y logarítmico lineal para describir la reducción bacteriana en las pechugas de pollo a 70 °C y el modelo Weibull mostró el mejor ajuste según lo indicado por el pseudo-R², el error cuadrático medio (RMSE) y valores del error estándar de predicción (SEP). Para las alitas de pollo, se podría usar una distribución logística (-0.95, 0.07) para describir la reducción bacteriana a 50-70 ° C. Los modelos predictivos desarrollados podrían proporcionar partes de los datos de entrada para la evaluación del riesgo microbiano de la cadena de suministro de aves de corral en China.

El estudio de Botina (2007), determinó los parámetros de inactivación térmica de bacterias a partir de la constante de velocidad de destrucción térmica (k), utilizando el modelo de inactivación de Bigelow en seis cepas de *L. monocytogenes* sembradas individualmente que fueron expuestas a temperaturas de 55°, 60°, 65°, 70° y 72°C durante tiempos definidos para cada una de ellas, de igual forma, se sometió a reto térmico la mezcla de las seis cepas utilizadas. Los valores D obtenidos a 55°, 60°, 65°, 70° y 72°C oscilaron entre 12,79 - 2,64, 3,86 - 1,51, 2,39 - 0,91-1,75 y 0,66-1,03min. respectivamente. Se observó que los valores D más altos en todas las temperaturas fueron los presentados por las cepas de alimentos y de ambientes de plantas procesadoras, en comparación con aquellos pertenecientes a la cepa referencia.

Estos métodos tienen ventajas significativas: minimización de los requisitos experimentales, superación de los problemas de retraso térmico y proporcionar una situación dinámica más cercana a la realidad de la mayoría de los procesos térmicos. Además se consideró que las respuestas tienen una tasa de primer orden con una dependencia de la temperatura del tipo Arrhenius debido a que los perfiles lineales de



temperatura son muy comunes y son muy fáciles de obtener experimentalmente.

Se debe considerar que los modelos predictivos de cinética de inactivación térmica predicen la supervivencia del patógeno o alterante objetivo dentro de un intervalo entre el valor máximo y mínimo específico de las variables que integran la formulación de un alimento. Los modelos de última generación contribuyen a comprender y determinar en qué forma los procesos térmicos tradicionales que aún existen podrían modificarse para una variedad de alimentos cocinados. Los modelos de cinética de inactivación permiten a los procesadores de alimentos y a las instituciones reguladoras garantizar márgenes críticos de inocuidad alimentaria al predecir efectos combinados de múltiples variables que participan de la formulación de alimentos.

2.2.2. Conceptual

Inocuidad: Es definida por el Codex Alimentarius como la garantía de que un alimento no causará daño al consumidor cuando el mismo sea preparado e ingerido de acuerdo con el uso a que se destine”. La inocuidad forma parte del concepto de calidad de un alimento, junto con otros atributos sensoriales y nutricionales. Sin embargo, a diferencia de lo que puede ser un atributo sensorial (color de la carne, terneza, etc.), la inocuidad es un atributo oculto (no se puede detectar a través de los sentidos) e implícito (ninguna persona desea consumir un alimento que le haga daño a la salud).

Bacterias Índices: Su presencia en un alimento indica la posible presencia simultánea de microorganismos patógenos ecológicamente relacionados. Así, por ejemplo, E. coli ha venido utilizándose como índice de posible presencia de patógenos de procedencia entérica (entre ellos, Salmonela) en el agua y los alimentos.



Bacterias Indicadores: Son bacterias que ponen de manifiesto deficiencias en la calidad microbiológica de un determinado alimento en términos más generales. Por ejemplo, presencia de bacterias del grupo coliformes en la leche pasteurizada, en número que exceda a un valor de referencia experimentalmente establecido, puede advertir diversas deficiencias de este producto: un tratamiento térmico insuficiente, una contaminación posterior al tratamiento o un almacenamiento del producto final a una temperatura demasiado elevada.

Alimentos perecederos: Se integran esencialmente por los productos que tienen una vida útil muy corta, lo cual produce que entren en un proceso de descomposición muy rápido. Los productos de primera necesidad que se venden frescos son los que están más expuestos. Algunos ejemplos de este tipo de alimentos son la leche, las carnes, los huevos, las frutas y las hortalizas. Desde su obtención hasta consumo o procesado, pueden tener una vida útil (tiempo que dura el alimento con calidad aceptable) de horas o días a temperatura ambiente.

Tratamientos Térmicos: Son todos los procedimientos que tienen entre sus fines la destrucción de los microorganismos por el calor. Refiriéndose tanto a la Pasteurización y a la Esterilización, cuya finalidad principal es la destrucción microbiana, como al Escaldado y a la Cocción, procesos en los que también se consigue una cierta reducción de la flora microbiana, pero que sus objetivos principales son la variación de las propiedades físicas del alimento.

Pasteurización: se define como el “tratamiento térmico al que se someten los productos, consistente en una adecuada relación de temperatura y tiempo que garantice la destrucción de organismos patógenos y la inactivación de enzimas de algunos alimentos”. En este método, la aplicación de calor es poco drástica, pues se efectúa a temperaturas por



debajo del punto de ebullición del agua (100°C), es decir, es un tratamiento térmico de baja intensidad (en un rango de 60 a 80°C).

Esterilización comercial: es el proceso que permite guardar a temperatura ambiente los productos envasados en latas y similares. Durante la esterilización térmica de alimentos, la población de microorganismos presente en los mismos disminuye en función de la temperatura del producto. La población de bacterias, tales como *E. coli*, *Salmonella* o *Listeria monocytogenes*, disminuirá de manera logarítmica. La población de esporas microbianas disminuirá de forma similar tras un período de retraso inicial.

Microbiología Predictiva: Es una rama de la Microbiología de los Alimentos que estudia las respuestas microbianas frente a varios factores ambientales que se pueden controlar, dando como resultado respuestas que son cuantificadas y resumidas mediante ecuaciones matemáticas. Debido a que la aplicación de los modelos matemáticos al crecimiento de los microorganismos permite predecir su comportamiento en las condiciones de almacenamiento, su aplicación supone una mayor precisión en la fijación de la vida comercial del producto.

2.3. Definición de términos básicos

Bacterias Acido Lácticas (BAL). Grupo bacteriano caracterizados por ser Gram-positivas, comúnmente produce ácido láctico a partir de los carbohidratos. El grupo de bacterias lácticas asociadas con los alimentos incluyen cocos de géneros: *Lactococcus* *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* y bacilos de los géneros *Lactobacillus* y *Carnobacterium*. La utilización de los carbohidratos disponibles en el alimento y la reducción del pH a causa de los ácidos orgánicos producidos, son el principal mecanismo de antagonismo microbiano de las bacterias lácticas. No obstante, estas bacterias también producen otras sustancias antagonistas



dentro de las cuales se destacan el diacetilo, peróxido de hidrógeno, acetaldehído, compuestos no proteicos de bajo peso molecular y las bacteriocinas

Actividad de agua (Aw). La Aw mide la disponibilidad de agua del medio donde se encuentran los microorganismos, lo que es igual a la relación entre la presión de vapor de agua de la solución y la presión de vapor de agua del agua pura. El Aw de la carne fresca es de 0.98 - 0.99, cifras que son sumamente favorables para la multiplicación de todas las especies microbianas.

Modelo microbiológico predictivo, es una expresión matemática que describe el crecimiento, la supervivencia, la inactivación o proceso bioquímico de un microorganismo de origen alimentario (McDonald y Sun, 1999). El desarrollo de los modelos matemáticos no solo se basa en encontrar la ecuación que describa el comportamiento de un conjunto de datos sino en determinar modelos precisos y versátiles al mismo tiempo (Sun, 2012).

Modelo matemático. Se refiere a un conjunto básico de hipótesis en los procesos estudiados, algunos de ellos representados por medio de funciones y ecuaciones (diferenciales). Por lo tanto, desde un punto de vista mecanística, función y modelo no son términos equivalentes. Función es una abstracción matemática que hace más fácil la descripción de un modelo particular (Baranyi y Roberts, 1994). Los modelos están generalmente basados en diversas hipótesis biológicas, en la interpretación de las diferentes fases de crecimiento microbiano, donde el principal objetivo está direccionado para estudiar la fase de latencia cuya significancia biológica aun es pobre (Baty et al., 2004).



Modelos cinéticos. son aquellos modelos que se desarrollan para explicar el crecimiento de los microorganismos en términos de las variables ambientales tales como la temperatura, el pH o la actividad de agua. Igualmente, pueden ser incluidas otras variables como la atmosfera gaseosa o el potencial redox, la humedad relativa, el contenido de nutrientes y las propiedades antimicrobianas. Estos modelos son útiles al momento de explicar el comportamiento de los microorganismos durante el tiempo de proceso o almacenamiento, sin embargo, son de difícil construcción, debido a que requieren de gran cantidad de datos de recuentos microbianos. (Mcdonald y Sun, 1999).

Modelos de crecimiento microbiano. El modelado del crecimiento microbiano se realiza usualmente en dos pasos. En primer lugar, la relación entre el tamaño de la población microbiana (N) y el tiempo (t) se describe a través de un modelo matemático (modelo primario). El crecimiento suele ilustrarse a través de la curva de crecimiento, que es la representación del logaritmo del número de microorganismos con respecto al tiempo. El crecimiento adopta la forma sigmoideal que usualmente se observa para esta curva bajo condiciones constantes favorables para el crecimiento. En un segundo paso, la relación entre los parámetros del modelo primario y las condiciones ambientales se describe a través de un segundo modelo matemático (modelo secundario).

Tiempo de reducción decimal D. Es el tiempo necesario para reducir en un 90% la población microbiana. Cuando se representa la población microbiana en coordenadas semilogarítmicas, el valor de D es el tiempo necesario para la reducción de un orden logarítmico del número de microorganismos. El valor de D no depende de la población microbiana inicial ya que únicamente depende de la pendiente de la línea recta. La exposición de la población microbiana a mayores temperaturas produce



una disminución en el valor D. En base a la definición de tiempo de reducción decimal, puede utilizarse la siguiente ecuación:

$$n = \text{Log}N_0 - \text{Log}N = \frac{t}{D} \rightarrow D = \frac{t}{\text{Log}N_0 - \text{Log}N} \rightarrow \frac{N}{N_0} = 10^{-\frac{t}{D}} \quad (1)$$

Dónde:

n=Número de ciclos logarítmicos reducidos.

N_0 =Número inicial de microorganismo.

N = Número de microorganismos sobrevivientes.

Modelo de Bigelow

$$\text{Log}_{10}N = \text{Log}_{10} \left((N_0 - N_{res}) (e^{-k_{max}t}) \left(\frac{e^{k_{max}St}}{1 + (e^{k_{max}St} - 1)(e^{-k_{max}t})} \right) + N_{res} \right) \quad (2)$$

Ecuación modificada de Gompertz

La aplicación inicial de la ecuación modificada de Gompertz está dada para la descripción de curvas de crecimiento con forma sigmoidal (Gibson et al., 1987). La utilidad de la fórmula en curvas de supervivencia fue demostrada por Bhaduri et al. (1991) en la inactivación de L. monocytogenes tras tratamientos térmicos, y la fórmula empírica empleada presenta la siguiente forma:

$$\text{Log}_{10}(N) = A - Ce^{-e^{-B(t-M)}}$$

donde N (UFC/mL) representa la concentración final de células; A es el valor más alto de la asíntota (UFC/mL); B es la velocidad de muerte relativa a M (1/unidad de tiempo); C es la diferencia entre el valor más alto y más bajo de la asíntota (UFC/mL); M es el tiempo (min) en el cual la velocidad absoluta de muerte es máxima; el signo de menos antes del parámetro C significa inactivación de microorganismos; t es el tiempo (min).

El método de muestreo sucesivo consiste en un sustrato e inóculo calentado en un baño de agua a temperatura controlada en el cual, a sucesivos intervalos de tiempo, se remueve una alícuota, usualmente con pipeta y luego se hacen diluciones apropiadas y plaquean. El resultado es una curva del grado de destrucción del número de supervivientes con el tratamiento de calor; es bastante complicado en la práctica, debido a que el sustrato y el inóculo deberían estar a la temperatura de ensayo en un tiempo conocido y reproducible; por otro lado, cuando se estudian organismos sensibles al calor, los tiempos son cortos, requiriendo tiempo preciso y control de temperatura y cuando se refiere a la resistencia térmica de los esporos por encima de 100°C requiere de un sistema de presión.

Escala McFarland. Consiste básicamente en una serie de tubos estandarizados que contienen una suspensión de un precipitado fino que se asemejan a suspensiones bacterianas en opacidad. Los estándares que se utilizan son precipitados de Sulfato de bario que se obtiene al mezclar Cloruro de Bario con Ácido Sulfúrico; mezclando distintas cantidades de reactivo se obtiene diez estándares con diferente turbiedad. Las suspensiones bacterianas se comparan visualmente con los estándares hasta encontrar al más similar en turbiedad y se lo relaciona con el número de células de acuerdo a cada estándar. Se debe tomar en cuenta que al momento de comparar los estándares con una suspensión bacteriana se debe utilizar tubos similares en diámetro para eliminar los errores (McFarland, 1907)

III. HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1. HIPÓTESIS

3.1.1. Hipótesis general

El Modelamiento de las curvas de supervivencia no lineal permitiría determinar el tiempo que se requiere para la Inactivación térmica



de *Salmonella* ssp., *Escherichia coli* y Bacterias ácido lácticas en la carne molida de pollo.

3.1.2. Hipótesis específicas

- El impacto de temperaturas mayores que el óptimo, de *Salmonella* ssp., *Escherichia coli* y Bacterias ácido lácticas presentes en la carne molida de pollo, modificarían sus parámetros de mortalidad generando unidades celulares sobrevivientes, que alterarían las condiciones de inocuidad del alimento.
- La supervivencia no lineal de *Salmonella* ssp., *Escherichia coli* y Bacterias ácido lácticas en carne molida de pollo, sometidas a temperaturas por encima de sus óptimos, podrían ser caracterizadas mediante modelamiento matemático.
- Los mecanismos de la resistencia y su inactivación, a temperaturas mayores que sus óptimos, de *Salmonella* ssp., *Escherichia coli* y Bacterias ácido lácticas, presentes en la carne molida de pollo, se podrían establecer por la aplicación de un modelamiento matemático.

3.2. Definición conceptual de las variables

Variable dependiente

- Supervivencia y resistencia térmica de *Salmonella* ssp., *E. coli* y Bacterias ácido lácticas en la carne molida de pollo

Variable independiente

- Modelamiento del efecto térmico a 55, 60 y 65 °C.

3.2.1. Operacionalización de la variable:



| Variable | Dimensiones | Indicadores | Índices | Método | Técnica |
|--|-------------------------------------|--|--|---|--|
| Dependiente Supervivencia y resistencia térmica de Salmonella ssp., E. coli y Bacterias ácido lácticas en la carne molida de pollo | Letalidad térmica | Muerte celular | Número de UFC/g Sobreviviente/minuto. | Cultivo bacteriano | Numeración colonias en medios selectivos |
| Independiente Modelamiento Curvas de supervivencia no lineales y resistencia térmica bacteriana a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C | Sobrevivencia y resistencia térmica | -Log UFC/g/h N ₀ (población inicial) N _f (población final) | (-k _{max}) Log UFC/g/h -UL (Log UFC/g) | Ajuste de curvas no lineal de supervivencia y Tiempo de destrucción térmica (TDT) | Modelo de Gompertz modificado Modelo de Bigelow |

IV. DISEÑO METODOLÓGICO

4.1.1. Tipo de investigación

La investigación ejecutada es de naturaleza aplicada, prospectivo porque el registro de la información se va obteniendo según ocurra el experimento; así mismo, es longitudinal debido a que las variables se irán caracterizando en la medida que pase el tiempo y finalmente se considera experimental porque se introduce y se manipula la temperatura en función del tiempo sobre la carne molida de pollo.

4.1.2. Diseño de investigación

Los tratamientos en estudio fueron el resultado de combinar tres tipos de bacterias

y tres temperaturas (55 °C, 60 °C y 65 °C): mediante nueve tratamientos. Este procedimiento se repetirá para cada tipo bacteriano (*Salmonella* ssp., *E. coli* y Bacterias ácido lácticas) por separado y se evaluará la disminución de las Unidades formadoras de colonia (UFC/g) de cada tipo bacteriano en la carne molida de pollo.

Se aplicó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial 3x3, siendo los factores: Nivel de temperatura (55 °C, 60 °C, 65 °C) y Bacterias (*Salmonella* ssp. *Escherichia coli* y Bacterias ácido lácticas) generándose nueve tratamientos, con tres repeticiones por tratamiento.

El modelo que describe el diseño del experimento es:

$$y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

μ = media general de las observaciones

τ_i = efecto del i-ésimo tiempo de destrucción térmico

ε_{ij} = error experimental

4.2 Método de la investigación

El método de investigación fue empírico por utilizar una serie de procedimientos experimentales prácticos con el objeto de revelar el comportamiento de los tipos bacterianos, presentes, en la carne molida de pollo, cuando son tratados con temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65°C cuyas características intrínsecas de inocuidad se puedan modificar y que pueda ser accesibles al control microbiológico según norma DIGESA.



El “método de muestreo sucesivo” consistió en calentar en un baño de agua a temperatura controlada de 50, 60 y 65 °C, la carne molida de pollo y el inóculo en el cual, a sucesivos intervalos de tiempo de un minuto, se retiró una alícuota de 1 mL, con pipeta automática y luego se hicieron diluciones de hasta 10^{-6} y luego se distribuye en placas Petri estériles con medios selectivos.

El resultado es una curva del grado de destrucción del número de supervivientes con el tratamiento de calor; es bastante complicado en la práctica, debido a que el sustrato y el inóculo deberían estar a la temperatura de ensayo en un tiempo conocido y reproducible; por otro lado, cuando se estudian organismos sensibles al calor, los tiempos son cortos, requiriendo tiempo preciso y control de temperatura y cuando se refiere a la resistencia térmica de los esporos por encima de 100°C requiere de un sistema de presión.

Parte de la investigación utilizará el método de la modelación que opera en forma práctica o teórica con un objeto, no en forma directa, sino utilizando cierto sistema intermedio, auxiliar, natural o artificial. En este método se crean abstracciones con el objetivo de explicar la realidad. Los modelos que serán utilizados analizarán el número, cantidad o extensión del crecimiento de los microorganismos por evaluarse en la carne lida de pollo que permitirá la comprensión del efecto de la temperatura sobre los tipos bacterianos a experimentar los cuales se resolverán a través de los modelos matemáticos, obteniendo parámetros cinéticos del crecimiento negativo: Velocidad de la resistencia térmica ($-k_{max}$), utilizando el modelo de Gompertz. Para la estimación del factor D ó tiempo de destrucción térmica se relacionará los valores logarítmicos del crecimiento negativo en función del tiempo obteniendo pendientes lineales a partir de curvas no lineales, mediante el uso del modelo de GibeLOW.



4.3. Población y muestra

Población

La población está representada por 3 kilos de carne molida de pollo que servirán de sustrato para los fines experimentales del presente estudio.

Muestra

Las muestras fueron consideradas en número de 3 para cada tratamiento térmico a las cuales les correspondieron 300 g.

4.4. Lugar de estudio y periodo desarrollado.

El estudio fue realizado en el laboratorio de Ciencias Naturales de la Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Nacional del Callao, durante el periodo marzo 2020 hasta Abril 2021. (Primera etapa experimental Febrero Marzo 2020; Segunda etapa: Abril – Marzo 2021 Proceso de Modelamientos de datos.

4.5. Técnicas e instrumentos para la recolección de la información

4.5.1 Equipos y Materiales

- Estufa Incubadora 100 L. cap, temperatura hasta 250 °C,
- Vortex
- Autoclave capc 100 L ,
- Baño de agua termostatado hasta 100 °C
- Nevera -18 - 0 °C
- Balanza analítica sensibilidad 0.001 g
- Microscopio Binocular 15 x 100 aumentos
- Potenciómetro Hanna



Materiales

- Cajas de petri 14 x 90 mm
- Frascos tapa rosca de 500 mL
- Frascos tapa rosca de 100 mL
- Tubos de 16 x 150 mm
- Tubos 12 x 75 mm
- Asa. de siembra
- Pipeta automática de 10 a 100 μ L y de 100 a 1000 μ L
- Puntas para pipetas automáticas
- Gradillas
- Mechero
- Medios de cultivo:
 - Selectivos: Agar Cromogénico E. coli-Coliformes (CCA), Agar XLD, Agar MRS
 - Basales: caldo peptona, Plate count agar, agar nutritivo

4.5.2. Técnicas para la recolección de la información

Se describe la materia prima usada y luego se explica cómo está estructurada el diseño experimental y la realización de los ensayos microbiológicos de presencia/ausencia de *Salmonella* ssp. (Sssp), numeración de *Escherichia coli* (EC), numeración de bacterias lácticas. Se detalla cómo se realizó la experimentación para analizar la sobrevivencia y destrucción de los grupos bacterianos a exposiciones de tratamientos térmicos de 55 °C , 60 °C y 65 °C, utilizando modelos matemáticos de Gompertz y Begelow.

Preparación de la carne molida de pollo.

Calidad microbiológica de la CMP.

Se caracterizó la calidad microbiológica de la CMP, para lo cual se realizaron ensayos microbiológicos a 10 muestras de 1 kg de piezas de carne de pecho de pollo adquiridas en 5 mercados de abastos de Lima Metropolitana, que luego fueron molidas en el laboratorio en condiciones

de esterilidad, para determinar la presencia o ausencia de *Salmonella* ssp. (Sssp), Número más probable de *E. coli* (EC), y Numeración de Bacterias ácido lácticas (BAL).

La detección de Sssp, se basó en la metodología del Manual Analítico Bacteriológico (BAM) (FDA/CFSAN, 2001), para el caso de EC se utilizó la técnica del número más probable. ISO 7251:2005 y la numeración de BAL según Métodos de análisis de la AOAC International. 3rd ed. Volumen II. Maryland USA.

Medición del pH

La valoración de Ph se realizó siguiendo el método recomendado por la A.O.A.C 981.12. Se pesaron 10 gramos de carne, se transfirieron a un vaso de licuadora y se adicionó 100ml de agua, luego se homogenizó por 1 minuto. inmediatamente se Filtró el homogenizado con gasa estéril. Se toma la lectura del pH introduciendo el electrodo del potenciómetro, repitiendo tres veces la toma de pH.

Obtención de la cepa de *Salmonella* ssp.

De las muestras analizadas de CMP, 4 de ellas mostraron presencia de *Salmonella* ssp comprobándose fenotípicamente que correspondían al mismo género. Las cepas de Sssp aislada se guardaron, en forma de cultivo activo, en caldo triptona de soya estéril por intervalos de 3 días a temperaturas de refrigeración a 4.0 °C (Aleman y col , 2003), bajo aceite mineral hasta el momento de uso, en el cual, la cepa fue incubada en su medio óptimo a 35°C por 24 h, para reconstituirlas.

Obtención de las curvas de sobrevivencia

Se dispuso de 2.7 kilogramos de carne entera de pollo de piezas de pecho deshuesadas frescas; cuya condición de su calidad microbiológica intrínseca es contener concentraciones de Log UFC de EC y BAL, por



motivos de contaminación cruzada; sin embargo, es ausente la presentación de Sssp.

La cantidad total se dividió en tres porciones de 900 gramos cada una. Cada porción fue molida, por separado, utilizando un molino de Acero inoxidable Marca Hobart con accesorios desmontables, utilizando cedazos #12, tolva, cilindro y anillos de ajuste, todos ellos de Acero Inoxidable y desmontables, que previamente fueron esterilizados a 180 °C por espacio de 3 horas.

La primera porción fue destinada para la experimentación con Sssp, para lo cual se efectuó aplicando la técnica de la contaminación experimental (Espina, 2012); de tal forma que la población de Sssp alcanzó el valor de 6 Log UFC/g. Una vez logrado su homogenización se dispensa en 3 bolsas de plástico de polipropileno Ziploc para microondas calibre # 150, con mediciones de 18 x 25 cm., capacidad para 750 g., en cantidades de 300 g para cada una.

Para la segunda y tercera porción se utilizó el mismo procedimiento que la primera, excepto que no necesita contaminación, debido que la carga de EC y BAL que contiene como carga bacteriana intrínseca, es de aproximadamente cerca de 6 Log UFC/g, para cada una

Se dispusieron de 3 baños de agua de similares características (LW Scientific WBL-20LC-SSD1, sensor de temperatura, agitador incorporado, capacidad de 15 litros), conteniendo en la tina 12 litros de agua; de tal forma que, uno de ellos fue utilizado para mantener el volumen de agua a 55 °C, otro para 60 °C y el último a 65 °C.

En uno de los Baños de agua precalentado a 55 °C se colocaron 3 bolsas de ziploc con CMP contaminado con Sssp, 3 bolsas para numeración de



EC y 3 Bolsas para numeración de BAL. En los otros 2 baños de agua restante, se repite el paso anterior con la diferencia de que la temperatura es de 60 y 65 °C, respectivamente.

De cada una de las bolsas con CMP que se encuentran a la temperatura de 55 °C se procedió a obtener una muestra de 10 g, la que servirá para estimar las unidades formadoras de colonia expresados en términos logarítmicos (Log UFC/g). El muestreo se repitió por 10 iteraciones sucesivas, con intervalos de 1 minuto. Para los tratamientos a 60 °C y 65 °C se ejecuta de la misma forma que el anterior tratamiento.

Las muestras de 10 g de CMP se mezclaron con 90 mL de agua peptonada 1% (P/V) realizando diluciones seriadas, hasta 10^{-6} . De cada dilución se obtuvieron inóculos de 0.1 mL y utilizando la técnica de siembra en superficie en medios selectivos agar XLD para Sssp, con incubación a 37° C por 48 h, agar EMB y agar MRS para la cuantificación de EC y BAL, ambos incubados a 35° C por 48h. Al término del periodo de cultivo se realizó la identificación morfológica por tinciones de Gram y la numeración de colonias expresados en Log UFC/g.

Obtención de las curvas de sobrevivencia.

Se utilizó el método de muestreo sucesivo, explicado anteriormente, que consiste en que la CMP calentado en un baño de agua a temperatura controlada en el cual, a sucesivos intervalos de tiempo, se extrae una alícuota de 10 g, luego se hicieron 6 diluciones 1/10 y se plaquean en medios selectivos. El resultado es una curva del grado de destrucción del número de supervivientes con el tratamiento de calor. Se determinó el tiempo de para que la CMP debe estar a la temperatura de ensayo.



Cálculo del valor D:

Las curvas de supervivencia de las bacterias ensayadas se modelarán con el Programa Curvexpert 1.4 para obtener los parámetros de la cinética del comportamiento bacteriano por efecto letal de las temperaturas de 55, 60 y 65 °C que se aplicaron a la CMP.

La resistencia térmica de las cepas se estimó mediante la determinación de los valores D para cada una de las temperaturas evaluadas. Estos valores se obtuvieron a partir del modelo lineal, utilizando el negativo de la inversa multiplicativa de la pendiente $k / \ln 10$, cuyo valor se logró utilizando el programa "Inactivation Model Fitting Tool, Katholieke Universiteit Leuven, Bélgica, El programa contiene el modelo de GIBELOW el cual correlacionó los datos la disminución de Log UFC/g respecto al tiempo (minutos) obteniendo las pendientes de cada réplica, obteniendo así el Valor promedio D en función de la temperatura (55, 60 y 65 °C. el programa reportó los valores de $-k_{max}$ (.log UFC/g/h, valor D y el coeficiente de determinación R^2 .

4.6. análisis y procesamientos de datos

Las curvas de sobrevivencia serán ajustadas por el modelo de Gompertz y la bondad de ajuste será interpretada por el indicador estadístico Coeficiente de Determinación (R^2).

La medición de la desviación promedio entre el valor ajustado y el observado se realizará de acuerdo a la raíz del cuadrado medio del error (RMSE) que representa el "error estándar del modelo". Así mismo, la comparación de las velocidades de sobrevivencia, de las bacterias por investigarse, se realizará mediante el diseño de ANOVA y Tuckey.

Las diferencias estadísticamente significativas que se establecieron entre los tratamientos térmicos ensayados y las bacterias en la CMP se obtuvieron mediante el estadístico ANOVA, el cual analizó las varianzas



del $-k_{mx}$ y valor D. de Salmonella ssp., E. coli y Bacterias ácido-lácticas. La bondad de ajuste del modelo de Gompertz y Bigelow se establecieron por el coeficiente de determinación (R^2).

La medición de la desviación promedio entre el valor ajustado y el observado se realizará de acuerdo con la raíz del cuadrado medio del error (RMSE) que representa el "error estándar del modelo"

V. RESULTADOS

5.1 Resultados descriptivos.

Calidad microbiológica de la materia prima

Se realizó un muestreo aleatorizado de 10 muestreos de CMP para estimar su calidad microbiológica mediante la Numeración Escherichia coli NMP/g, Bacterias ácido lácticas/g, así como estimación de la ausencia o presencia de Salmonella/25 gramos. (Tabla 1)

Los resultados obtenidos demuestran que la CMP posee bacterias indicadoras de higiene, representado por Escherichia coli (EC) con promedio de 5.97 Log UFC/g con dispersión de 0.48 Log UFC/g respecto a la media; cuya relación entre ellas representa 16% de variación indicando que existe una mayor homogeneidad en los valores de la variable.

Los valores referentes a E. coli, como indicador de Higiene, la NTP señala que sus límites permisibles son m y M son 2.70 y 3.70 Log UFC/g, respectivamente; y el promedio obtenido fue de 5.97 UFC/g, el cual se ubica por encima del valor M = 3.7 Log UFC/g; sin embargo, esta respuesta debe ser tomado en consideración debido a que el indicador representa una situación de falta de higiene en el flujo de proceso para obtener el producto. (Tabla 1).



El indicador de alteración bacteriana presente en la carne de está representado por Bacterias Ácido-Lácticas (BAL) que muestra un promedio 6.34 Log UFC/g con desviaciones de 0.51 Log UFC/g y un coeficiente de variación de 15%. (Tabla 1).

Las BAL son reportadas como principal alterante de la calidad de las carnes y sus productos y por analogía se le atribuye los mismos considerandos a la carne de pollo molida. Los límites tolerantes del valor m y M son de 3.00 y 4.00 Log UFC/g, respectivamente y el valor promedio, hallados en las muestras analizadas es de 3.34 Log UFC/g, cantidad que lo ubica ligeramente superior valor “m”. Esta respuesta señala que la carne de pollo molida tiene condiciones de frescura y calidad apropiada para el consumo humano. (Tabla 1).

La presencia de patógenos como Salmonella sp. en las muestras se destaca en 40% del total, considerando que el hábitat natural del patógeno es la superficie de la carne de las aves motivado por los diversos factores que su entorno le otorga. (Tabla 1)

De acuerdo con estos resultados se infiere que las muestras gozan de las mismas características microbiológicas debido a que provienen de un mismo punto de acopio. El punto de muestreo no garantiza el cumplimiento de las buenas prácticas de manufactura (BPM). Los promedios encontrados son elevados y encierran un riesgo para el consumidor, pudiéndose generar enfermedades transmitibles por alimentos.

| TABLA 1. Valoración descriptiva de la calidad microbiológica de la carne de pollo molida en 10 ensayos analíticos | | | | |
|---|--------------------|---------|-----------------|----------------|
| Parámetros estadísticos | Mesófilos aerobios | E. coli | Bacterias Acido | Salmonella ssp |

| | | | | |
|-------------------------------|-------------------------|-------|----------|---------------|
| | | | lácticas | |
| Promedio (Log UFC/g) | 6.05 | 5.97 | 6.34 | |
| Desv. Estándar (Log UFC/g) | 0.67 | 0.48 | 0.51 | |
| Coefficiente de Variación (%) | 11.05 | 16.04 | 15.34 | |
| Nivel Confianza | 95% | 95% | 95% | |
| Límites permisibles | m = 6 Log UFC/g | 6.00 | 2.70 | 2.00 |
| | M = 7 Log UFC/g | 7.00 | 3.70 | 4.00 |
| | Ausencia/Presencia 25 g | | | Presencia n=4 |

Fuente: Elaboración propia

5.2. Resultados inferenciales.

La supervivencia de *Salmonella* ssp. Las concentraciones de *Salmonella* ssp., que se inocularon en la carne molida de pollo fueron inicialmente de 6.05 Log ufc/g para la temperatura de 50 °C, 5.97 Log ufc/g para 60 °C y 6.02 Log ufc/g para 65 °C. Cada temperatura tubo un tiempo de acción final característico de 7, 5 y 4 minutos, respectivamente; del mismo modo, los efectos sobre la población inicial fueron de disminuir a valores cuantificables de 1.29, 1.39 y 1.06 Log UFC/g, en forma correspondiente para cada temperatura. (Tabla 2)

Tratando de encontrar índices que relacionen el comportamiento poblacional de Sssp entre el estado inicial y final en función del tiempo encontramos el índice de variación poblacional ($\Delta N/t$) que para 55 °C es de 0.69 Log UFC/g/minuto, logrando una disminución de 4.08 Unidades Logarítmica, indicando que es una temperatura en donde la supervivencia es posible, comparado con las temperaturas de 60 y 65 °C, cuyos índices

$\Delta N/t$ son respectivamente 0.91 y 1.24 Log UFC/g/minuto en los cuales se obtuvieron 4.55 y 4.96 UL Log UFC/g considerados más elevados y más efectivos, ($p < 0.05$), para controlar la sobrevivencia de *Salmonella* ssp. (Tabla 2)

Considerando el pH como un factor intrínseco de la CMP se observa que cuando es sometido a un proceso de cocción, en el cual se incrementa la temperatura, se produce su desnaturalización variando el pH por un incremento de 0.61, 0.70 y 1.18 unidades de pH, a partir de un valor de pH inicial de 5.88, 5.76, 5.43, para las temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C, respectivamente. ($p < 0.05$) (Tabla 2)

Tabla 2. Supervivencia de *Salmonella* ssp. en carne molida de pollo.

| Valores | Temperaturas | | |
|-----------------------|--------------|-------|-------|
| | 55 °C | 60 °C | 65 °C |
| Log UFC/g inicial | 6.12 | 5.94 | 6.02 |
| Log UFC/g final | 1.29 | 1.39 | 1.06 |
| Tiempo (minutos) | 7 | 5 | 4 |
| Variación Población/t | 0.69 | 0.91 | 1.24 |
| -UL (Log UFC/g) | 4.08 | 4.55 | 4.96 |

Fuente: Elaboración propia

Los parámetros de la sobrevivencia estimado por el modelo de Gompertz, se muestran en la Tabla 3, en la cual se observa que la mayor velocidad de disminución poblacional de *Salmonella* tiene un valor de $-k_{max}$ (Log UFC/g/h) se obtiene con una temperatura de 65 °C cuyo efecto disminuye 4.83 UL en un tiempo de 5 minutos a una velocidad de 0.60 -Log UFC/g/h. Las temperaturas de 55 °C y 60 °C logran disminuciones importantes de 3.72 y 4.36 UL con velocidades de 0.29 y 0.48 -Log UFC/g/h en tiempos de 9 y 7 minutos respectivamente. En todos los casos el coeficiente de determinación R^2 asigna un nivel alto de confianza de aceptabilidad con

un valor del 99 %. La respuesta del efecto de las temperaturas sobre la supervivencia muestra entre ellas, una diferencia estadísticamente significativa ($p > 0.05$). (Tabla 3)

| Tabla 3. Parámetros de supervivencia de Salmonella sp. en carne molida de pollo según Modelo de Gompertz | | | |
|---|-------------|-------|-------|
| Parámetro | Temperatura | | |
| | 55 °C | 60 °C | 65 °C |
| N_0 (L Log UFC/g) | 6.15 | 5.94 | 6.17 |
| k_{max} (-Log UFC/g/h) | 0.29 | 0.48 | 0.60 |
| Δ UL (Log UFC/g) | 3.72 | 4.36 | 4.83 |
| Error estándar | 0.09 | 0.12 | 0.14 |
| R^2 | 0.99 | 0.99 | 0.99 |
| N_0 = Población inicial k = Constante de velocidad de destrucción térmica Δ = Variación poblacional (Log UFC/g) Coeficiente Determinación (R^2) | | | |

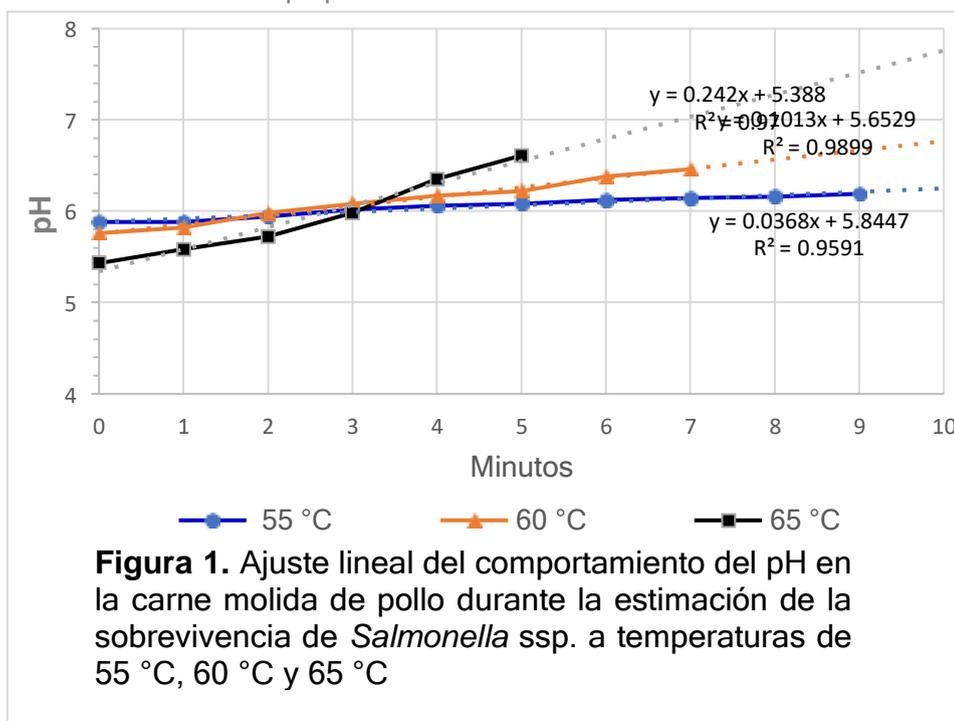
Fuente: Elaboración propia

El factor temperatura asociado al pH son determinantes para la sobrevivencia de las bacterias patógenas. La Tabla 4, muestra el comportamiento del pH inicial de la CMP cuando está expuesto a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C, en los tiempos de 7, 5 y 4 minutos, respectivamente; demostrándose, a través de las ecuaciones lineales, que sus constantes de incremento de unidades de pH, 0.04, 0.10 y 0.24 no alcanzan a modificar sustancialmente el pH inicial ajustado de 5.85, 5.65 y 5.39; que se comprueba con se correlaciona con los valores finales de pH que fueron de 6.19, 6.46 y 6.61. Aún cuando los valores de cambio del pH son aparentemente cercanos, existe entre ellas una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.05$); siendo la temperatura de 65 °C la que teniendo mayor efecto térmico y el menor tiempo para disminuir la población bacteriana de la CMP, el pH cercano a la neutralidad puede favorecer la sobrevivencia.

Tabla 4. Comportamiento del pH en la carne molida de pollo durante el tiempo de supervivencia de *Salmonella* sp. a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C.

| Valores | 55 °C | 60 °C | 65 °C |
|-------------------------|-------|-------|-------|
| Constante incremento pH | 0.04 | 0.10 | 0.24 |
| pH inicial medido | 5.88 | 5.76 | 5.43 |
| pH inicial Ajustado | 5.85 | 5.65 | 5.39 |
| Tiempo (minutos) | 7 | 5 | 4 |
| R ² | 0.96 | 0.99 | 0.97 |

Fuente: elaboración propia



La supervivencia de *Escherichia coli* (EC), fue estimada someténdolas a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C para que las poblaciones iniciales de 5.38, 5.04 y 5.35 Log UFC/g disminuya hasta los niveles finales de 1.71, 1.08 y 1.19 Log UFC/g; la variación de la población fue 0.37, 0.44 y 0.69 Log UFC/g/min, para las mismas temperaturas, respectivamente. La disminución de Unidades logarítmicas (-UL) fue de 3.67, 3.69 y 4.16, Log UFC/g en forma correspondiente para las temperaturas experimentadas. (Tabla 5)

AD

| Tabla 5. Supervivencia de Escherichia coli. en carne molida de pollo. | | | |
|---|--------------|-------|-------|
| Valores | Temperaturas | | |
| | 55 °C | 60 °C | 65 °C |
| Log UFC/g inicial | 5.38 | 5.04 | 5.35 |
| Log UFC/g final | 1.71 | 1.08 | 1.19 |
| Tiempo (minutos) | 10 | 9 | 6 |
| Variación Población/t | 0.37 | 0.44 | 0.69 |
| -UL (Log UFC/g) | 3.67 | 3.96 | 4.16 |

Fuente: Elaboración propia

Los parámetros de la sobrevivencia estimado por el modelo de Gompertz, se muestran en la Tabla6, en la cual se observa que la mayor velocidad de disminución poblacional de células de E. coli tiene un valor de $-k_{max} = 0.30$ Log UFC/g/h a temperatura de 65 °C cuyo efecto disminuye 4.89 UL en un tiempo de 6 minutos. Las temperaturas de 55 °C y 60 °C logran velocidades $-k_{max}$ de 0.25 y 0.28 Log UFC/g/h, respectivamente, para lograr disminuir poblaciones de 3.83 y 3.99 UL, utilizando tiempos de 9 y 6 minutos, respectivamente. En todos los casos el coeficiente de determinación R^2 asigna un nivel alto de confianza de aceptabilidad con un valor del 99 % para temperaturas de 55 °C y 60 °C y 98 % para 65%. La respuesta del efecto de la temperatura sobre la sobrevivencia muestra una diferencia estadísticamente significativa $p > 0.05$.

| Tabla 6. Parámetros de supervivencia de Escherichia coli en carne molida de pollo según Modelo de Gompertz. | | | |
|---|-------------|-------|-------|
| Parámetro | Temperatura | | |
| | 55 °C | 60 °C | 65 °C |
| N_0 (Log UFC/g) | 5.52 | 5.28 | 6.01 |
| k_{max} (-Log UFC/g/h) | 0.25 | 0.28 | 0.30 |
| $-\Delta$ UL (Log UFC/g) | 3.83 | 3.99 | 4.89 |

| | | | |
|---|------|------|------|
| Error Estandar | 0.09 | 0.12 | 0.14 |
| R ² | 0.99 | 0.99 | 0.98 |
| N ₀ = Población inicial k= Constante de velocidad de destrucción térmica Δ= Variación poblacional (Log UFC/g) Coeficiente Determinación (R ²) | | | |

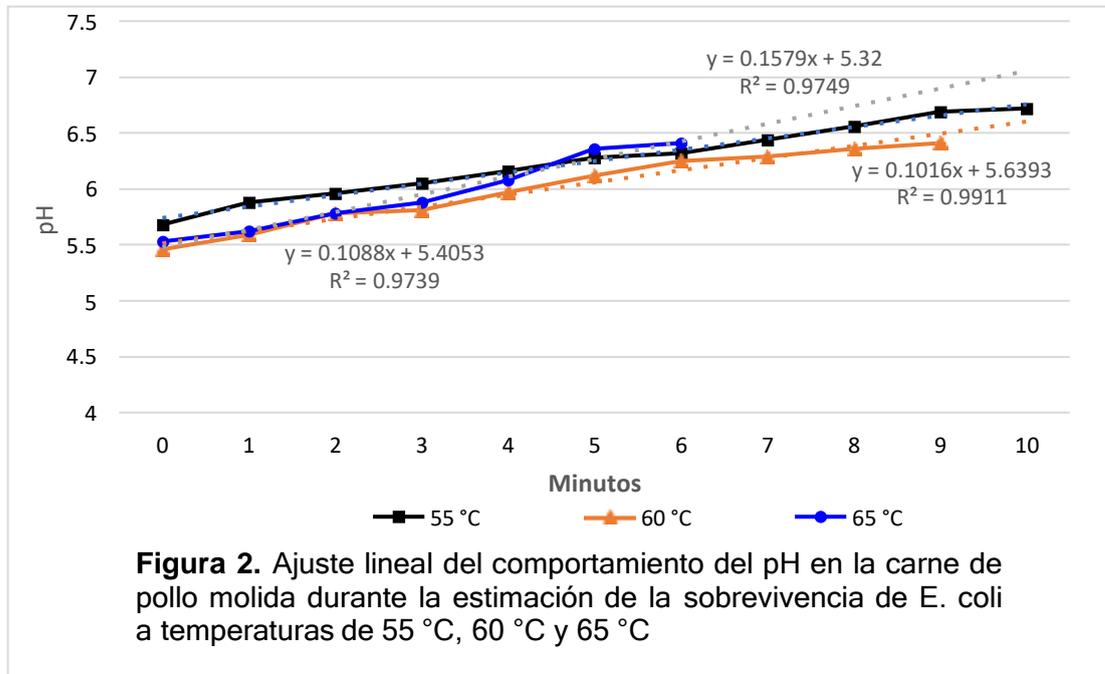
Fuente: Elaboración propia

La tabla 7 y Figura 2, muestran el comportamiento del pH inicial de 5.88, 5.76 y 5.43, los cuales a través del tiempo experimental se incrementaron en unidades de pH de 0.10, 0.11 y 0.16- El ajuste lineal determina que los valores de pH son 5.83, 5.11 y 5.15 que a través del tiempo experimental sus pendientes tienen valores de 0.04, 0.10 y 0.24, con una confiabilidad de R² del 0.94, 0.97 y 0.97 % para 55 °C, 60 °C y 65 °C, respectivamente; en consecuencia, el incremento de 1 minuto de exposición a las temperaturas ensayadas el pH se incrementa ligeramente, con tendencia a la neutralidad, y favoreciendo la sobrevivencia de células vegetativas de EC generando probables problemas de alteración de la carne pollo molida durante el tiempo de elaboración o procesamiento de productos cárnicos y su posterior conservación.

| | | | |
|---|-------------|-------|-------|
| Tabla 7. Comportamiento del pH en la carne molida de pollo durante el tiempo de supervivencia de E. coli a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C. | | | |
| | Temperatura | | |
| Valores | 55 °C | 60 °C | 65 °C |
| Constante incremento pH | 0.10 | 0.11 | 0.16 |
| pH inicial medido | 5.88 | 5.76 | 5.43 |
| pH inicial Ajustado | 5.63 | 5.41 | 5.32 |

| | | | |
|------------------|------|------|------|
| Tiempo (minutos) | 7 | 5 | 4 |
| R ² | 0.94 | 0.97 | 0.97 |

Fuente: elaboración propia



Fuente: elaboración propia

La Tabla 8, Figura 3; muestran la sobrevivencia de Bacterias ácido lácticas (BAL), sometidas a temperaturas experimentales de 55 °C, 60 °C y 65 °C, demostrándose que sobre la población inicial de 6.52, 6.48 y 6.66, que se expuso a las temperaturas citadas existe efecto negativo a través de 9, 7 y 4 minutos, respectivamente. La mayor disminución se observa a 65 °C, en la cual las UFC/g disminuyen hasta un valor de 1.11 Log UFC/g, con un descenso de 5.55 UL; mientras que a las temperaturas de 55 °C y 60 °C disminuye la población a valores de 2.68 y 1.84 Log UFC/g ($p < 0.05$), con descensos de 3.84 y 4.64 UL, respectivamente.

La supervivencia de BAL a las temperaturas de cocción aplicadas se caracterizan por un cambio en la variación de la población inicial y final, expresadas en unidades logarítmicas (UL UFC/g), siendo la temperatura de 65 °C que disminuyó 5.55 UL. Comparando con la disminución

AD

poblacional obtenido con las temperaturas de 55 °C y 60 °C se obtuvieron 3.84 UL y 4.64 UL, respectivamente. La respuesta del efecto de la temperatura sobre la supervivencia denota que entre ellas existe diferencias estadísticamente significativas ($p>0.05$).

| Tabla 8. Supervivencia de Bacterias ácido lácticas en carne molida de pollo | | | |
|---|--------------|-------|-------|
| Valores | Temperaturas | | |
| | 55 °C | 60 °C | 65 °C |
| Log UFC/g inicial | 6.52 | 6.48 | 6.66 |
| Log UFC/g final | 2.68 | 1.84 | 1.11 |
| Tiempo (minutos) | 9 | 7 | 4 |
| Variación Población/t | 0.43 | 0.66 | 1.39 |
| -UL (Log UFC/g) | 3.84 | 4.64 | 5.55 |

Fuente: Elaboración propia

Los parámetros de la supervivencia estimado por el modelo de Gompertz, se muestran en la Tabla 9, en la cual se observa que la mayor velocidad de disminución poblacional de células de BAL tiene un valor de $-k_{max} = 0.51$ Log UFC/g/h a temperatura de 65 °C cuyo efecto disminuye 5.35 UL en un tiempo de 4 minutos. Las temperatura de 55 °C y 60 °C logran velocidades $-k_{max}$ de 0.26 y 0.34 Log UFC/g/h, respectivamente, para lograr disminuir poblaciones de 4.06 y 4.34 UL, utilizando tiempos de 7 y 9 minutos, respectivamente. En todos los casos el coeficiente de determinación R^2 asigna un nivel alto de confianza de aceptabilidad con un valor del 99 % para 55 °C y 60 °C. La respuesta del efecto de la temperatura sobre la supervivencia muestra una diferencia estadísticamente significativa $p>0.05$.

Tabla 9. Parámetros de supervivencia de Bacterias ácido lácticas en carne molida de pollo según Modelo de Gompertz

| Parámetro | Temperatura | | |
|---|-------------|-------|-------|
| | 55 °C | 60 °C | 65 °C |
| N ₀ (L Log UFC/g) | 6.57 | 6.65 | 7.12 |
| k _{max} (-Log UFC/g/h) | 0.26 | 0.34 | 0.51 |
| -UL (Log UFC/g) | 4.06 | 4.34 | 5.35 |
| Standard Error | 0.06 | 0.07 | 0.12 |
| R ² | 0.99 | 0.99 | 0.99 |
| N ₀ = Población inicial k = Constante de velocidad de destrucción térmica Δ = Variación poblacional (Log UFC/g) Coeficiente Determinación (R ²) | | | |

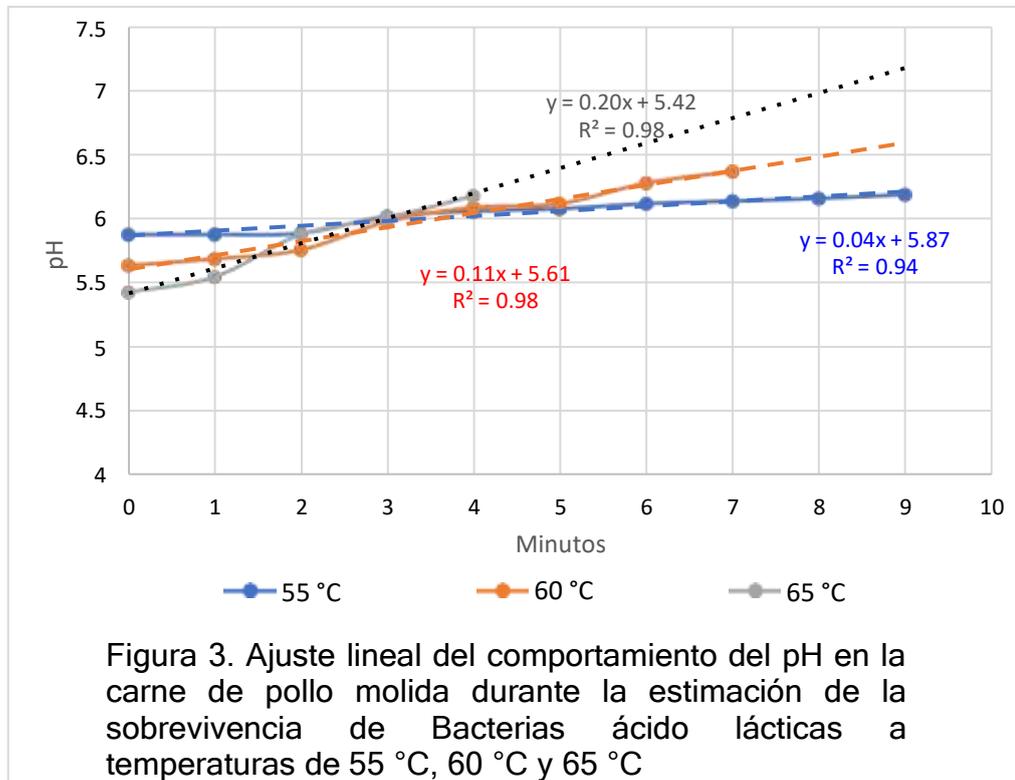
Fuente: Elaboración propia

La tabla 10 y Figura 3, muestran el comportamiento del pH inicial de 5.88, 5.76 y 5.43; que al término del tiempo experimental se incrementaron en unidades de pH de 1.04, 0.95 y 0.88. El ajuste lineal determina que los valores de pH son 5.83, 5.11 y 5.15 que a través del tiempo experimental sus pendientes tienen valores de 0.04, 0.10 y 0.24, con una confiabilidad de R² del 0.94, 0.98 y 0.98 % para 55 °C, 60 °C y 65 °C, respetivamente; en consecuencia, el incremento de exposición a las temperaturas ensayadas el pH se incrementa ligeramente, con tendencia a la neutralidad, y favoreciendo la sobrevivencia de células vegetativas de BAL generando probables problemas de alteración de la carne pollo molida durante el tiempo de elaboración o procesamiento de productos cárnicos y su posterior conservación.

| Tabla 10. Comportamiento del pH en la carne molida de pollo durante el tiempo de supervivencia de Bacterias ácido lácticas a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C. | | | |
|---|--------------|-------|-------|
| Valores | Temperaturas | | |
| | 55 °C | 60 °C | 65 °C |
| Constante incremento pH/minuto | 0.04 | 0.10 | 0.24 |
| pH inicial medido | 5.88 | 5.76 | 5.43 |

| | | | |
|---------------------|------|------|------|
| pH inicial Ajustado | 5.87 | 5.61 | 5.32 |
| Tiempo (minutos) | 9 | 7 | 4 |
| R ² | 0.94 | 0.98 | 0.98 |

Fuente: elaboración propia



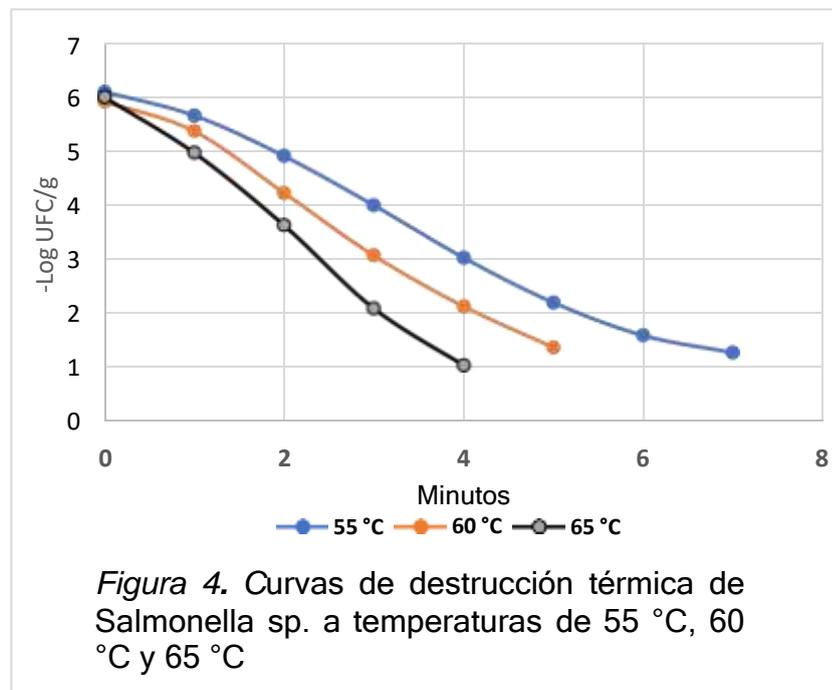
Tiempo de destrucción térmica (D)

Se utilizó el software GlnaFit, Geeraerd and Van Impe Inactivation Model Fitting Tool, por contener el Modelo log-lineal de Bigelow al cual se consideró que mejor ajusta a los resultados poblacionales obtenidos en relación al tiempo de acción que tuvieron las temperaturas de 55,60 y 65 °C sobre la matriz de CMP.. Se determinó el valor 4D suministrado por el programa. El valor D es el tiempo necesario para inactivar el 99.99% de la población bacteriana.

Cinética de la destrucción térmica de Salmonella ssp. a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C en carne molida de pollo.

AD

La figura 4, demuestra que la destrucción bacteriana en función de la temperatura y tiempo sigue una función sigmoide caracterizado por una asíntota superior que limita el tamaño final, así como por una inflexión que representa el punto donde la aceleración del proceso pasa de una velocidad decreciente acelerada a una menos acelerada. Esta condición de la muerte celular indica un tiempo de resistencia (hombro) para luego continuar con la destrucción de las células vegetativas adaptadas a condiciones de crecimiento acelerado para pasar a un crecimiento negativo por acción del calor, dejando finalmente una probable población de sobrevivientes.



Estos comportamientos de las células de Salmonella sp. en las condiciones térmicas utilizadas deben ser expresadas en función lineal y de esta manera la relación de variables en función del tiempo y Log UFC/g pudieron ser descritas mediante sus ecuaciones lineales, utilizando el modelo de Gibelow quien permite expresar la destrucción bacteriana en forma lineal, siendo el valor de su pendiente el factor D.

AD

La recopilación de un gran número de resultados en experimentos en los que se cuantificó el número de microorganismos presentes en una determinada suspensión al ser sometida a diferentes tiempos de calentamiento (a temperatura constante) permitió concluir que el uso de una ecuación cinética de primer orden describe de forma aproximada la evolución del número de microorganismos en una suspensión determinada a lo largo del tiempo

La tabla 2, presenta los parámetros de velocidad de la destrucción térmica y la población inicial para las temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C correspondiendo a cada una de ellas los valores de $-k_{max}$ de 1.73, 2.21, 2.95 Log UFC/g/m y N_0 de 6.25, 6.10, 6,14, respectivamente. La variabilidad de las medias muestrales de las repeticiones en los tratamientos térmicos respectivos es expresada por su desviación estándar que para las $-K_{max}$ es de 0.08, 0.11 y 0.12 para las temperaturas ensayadas respectivamente, y 0.08, 0.13, 0.13 para las poblaciones iniciales que fueron sometidas a cada temperatura. En ambos casos el número de iteraciones efectuadas en función del tiempo fue suficiente para cada temperatura.

Tabla 11. *Parámetros cinéticos de la destrucción térmica de Salmonella sp, $-k_{max}$ (Log UFC/g/m y LOG10(N_0), a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C, en la carne molida de pollo..*

| Temperatura | $-k_{max}$ (Log UFC/g/m) | Error Estandar | LOG10(N_0) | Error Estandar |
|-------------|--------------------------|----------------|----------------|----------------|
| 55 °C | 1.73 | 0.08 | 6.25 | 0.08 |
| 60 °C | 2.21 | 0.10 | 6.10 | 0.13 |
| 65 °C | 2.95 | 0.12 | 6.14 | 0.13 |

Fuente: Elaboración propia

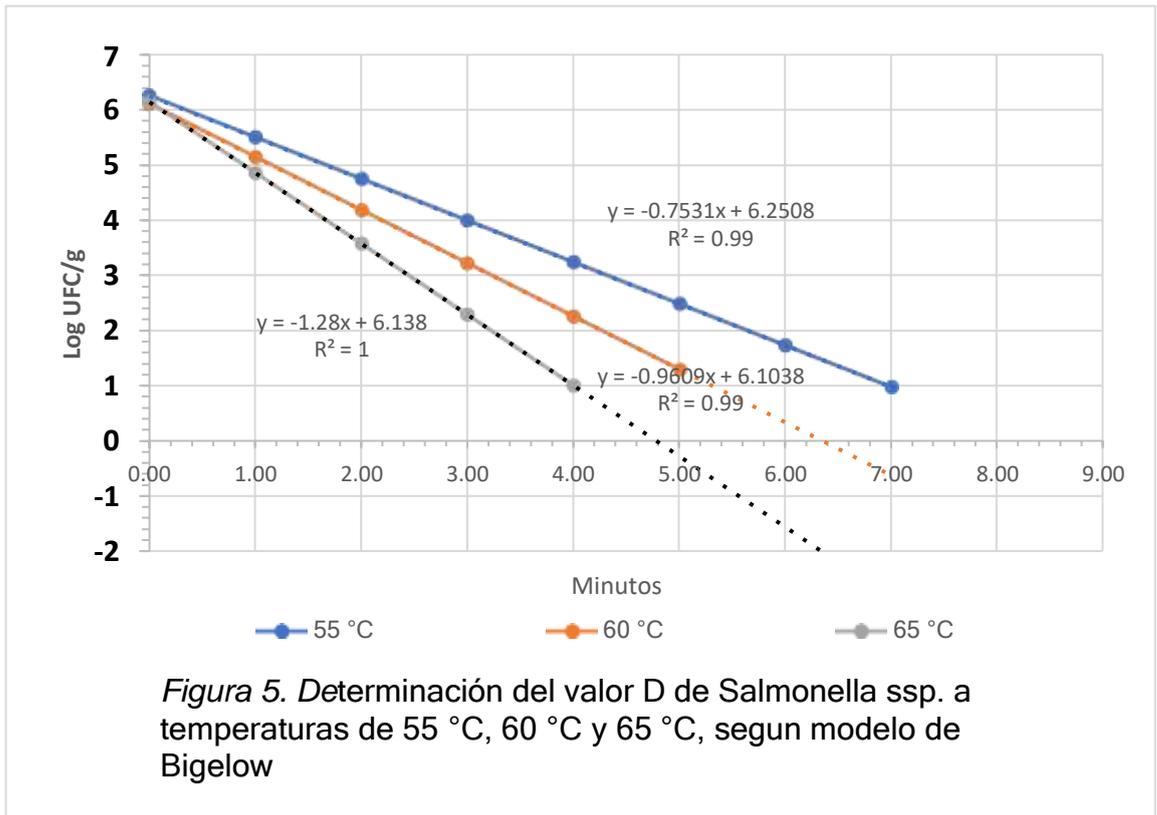
La inactivación térmica para *Salmonella sp.* a 55 °C, 60 °C y 65 °C se muestra en la tabla 12. Los valores D obtenidos de la inversa negativa de la pendiente de la línea de regresión fueron: $D_{55} = 1.33$ min, $D_{60} = 1.05$ min y $D_{65} = 0.78$ min, Existen diferencias significativas en los valores de D a cada temperatura. ($p=0.05$)

| Tabla 12. Tiempo de reducción decimal (Factor D) óptimo para inactivar <i>Salmonella sp</i> | | | |
|---|---------|--------|----------------|
| Temperaturas | Valor D | RMSE | R ² |
| 55 °C | 1.33 | 0.0505 | 0.9874 |
| 60 °C | 1.05 | 0.0325 | 0.9900 |
| 65 °C | 0.78 | 0.0274 | 0.9934 |
| Fuente: elaboración propia | | | |

El modelo de Bigelow funcionó bien para predecir los valores D para 55 °C, el error cuadrático medio (RMSE) = 0.051 min y reducciones logarítmicas 1.28 log ufc/g, para 60 °C el error cuadrático medio (RMSE) = 0.033 min y reducciones logarítmicas 0.96 log ufc/g y para 65 °C el error cuadrático medio (RMSE) = 0.027 min y reducciones logarítmicas 0.75 log ufc/g, El modelo de Bigelow utilizado puede ser útil para estimar el valor D en función del tiempo y la temperatura permitiendo, de esta forma, diseñar un sistema de inactivación térmica de salmonella para carne molida de pollo.

La figura 5, presenta el ajuste de la curva de destrucción térmica de *Salmonella*, presente en la carne molida de pollo. El modelo de Bigelow ajusta los valores de destrucción térmica de *Salmonella ssp* presentándolos en forma lineal y de esta forma se explica el efecto térmico bajo la forma de ecuaciones lineales. Los valores D_{55} , D_{60} y D_{65} permiten predecir la destrucción térmica utilizando sus ecuaciones lineales: $-0.5375x + 6.2385$; $y = -0.7038x + 5.7933$; $y = -1.08x + 5.658$, respectivamente

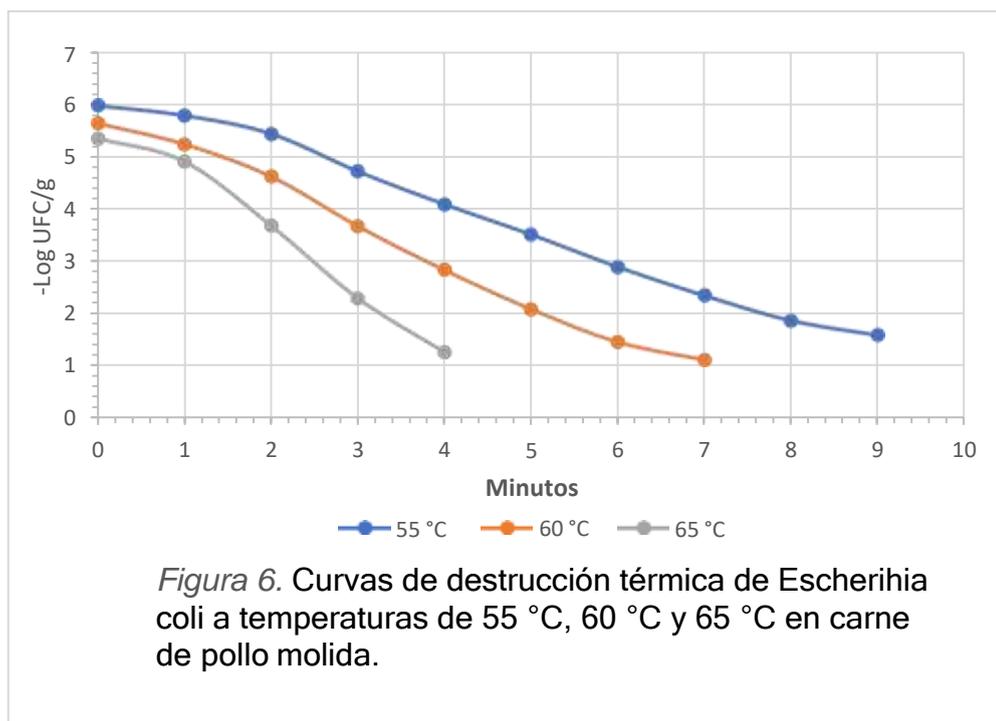
Estadísticamente si observamos el coeficiente de determinación (R^2) para las curvas de destrucción térmica alcanzan una confiabilidad estadística entre 0.99 a 1.00 que indica que el ajuste es bueno para caracterizar el comportamiento de las células de Salmonella sp. a las temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C.



Cinética de la destrucción térmica de Escherichia coli a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C en carne molida de pollo.

AD

La figura 6, muestra las curvas de destrucción bacteriana en función de la temperatura y tiempo siguiendo una función sigmoide caracterizado por una asíntota superior que limita el tamaño final, así como por una inflexión que representa el punto donde la aceleración del proceso pasa de una velocidad decreciente acelerada a una menos acelerada. Esta condición de la muerte celular indica un tiempo de resistencia (hombro) para luego continuar con la destrucción de las células vegetativas adaptadas a condiciones de crecimiento acelerado para luego pasar a una disminución de muerte celular o crecimiento negativo por acción del calor, dejando finalmente una probable población de sobrevivientes. En estas condiciones, la aplicaron de temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C a poblaciones iniciales (N_0) de 5.98 UFC/g, 5.64 UFC/g y 5.35 UFC/g, respectivamente presenta poblaciones de sobrevivientes en cantidades correspondientes de 1.59, 1.11 y 1.26 UFC/g.



La tabla 13, presenta los parámetros de velocidad de destrucción térmica y la población inicial para las temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C correspondiendo a cada una de ellas los valores de $-k_{max}$ de 1.24, 1.62, 2.49 Log UFC/g/min y N_0 de 6.24, 5.79, 5.66, respectivamente. La

AD

variabilidad de las medias muestrales de las repeticiones en los tratamientos térmicos respectivos es expresada por su desviación estándar que para las $-k_{max}$ es de 0.04, 0.07 y 0.21 para las temperaturas ensayadas respectivamente, y 0.10, 0.13, 0.23 para las poblaciones iniciales que fueron sometidas a cada temperatura. En ambos casos el número de iteraciones efectuadas en función del tiempo, fue suficiente para cada temperatura.

Tabla 13. *Parámetros cinéticos de la destrucción térmica de Escherichia coli: $-k_{max}$ (Log UFC/g/m y LOG10(N_0), a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C, en la carne de gallina molida.*

| Temperatura | $-k_{max}$ (Log UFC/g/m) | Error Estandar | LOG10(N_0) | Error Estandar |
|-------------|-----------------------------|-------------------|----------------|-------------------|
| 55 °C | 1.24 | 0.04 | 6.24 | 0.1 |
| 60 °C | 1.62 | 0.07 | 5.79 | 0.13 |
| 65 °C | 2.49 | 0.21 | 5.66 | 0.23 |

Fuente: Elaboración propia

La Tabla 14, muestra los valores D para Escherichia coli fueron: 1.87 min a 55 °C, 1.44 min a 60 °C y 0.93 min a 65 °C. El análisis de varianza mostró que existen diferencias significativas ($p < 0.05$) en los tiempos de reducción decimal inducidos por las temperaturas empleadas, siendo la temperatura de 65 °C la más efectiva en lograr destruir el 90 % de la población inicial de 7.02 Log UFC/g. Así mismo, el error cuadrático medio (RMSE) para 55 °C es de 0.029 min, para 60 °C 0.039 min y para 65 °C es de 0.086 min. El ajuste de la curva de destrucción térmica (R^2) para las temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C son 0.991, 0.987, 0.978, respectivamente, valores considerados de alta confiabilidad.

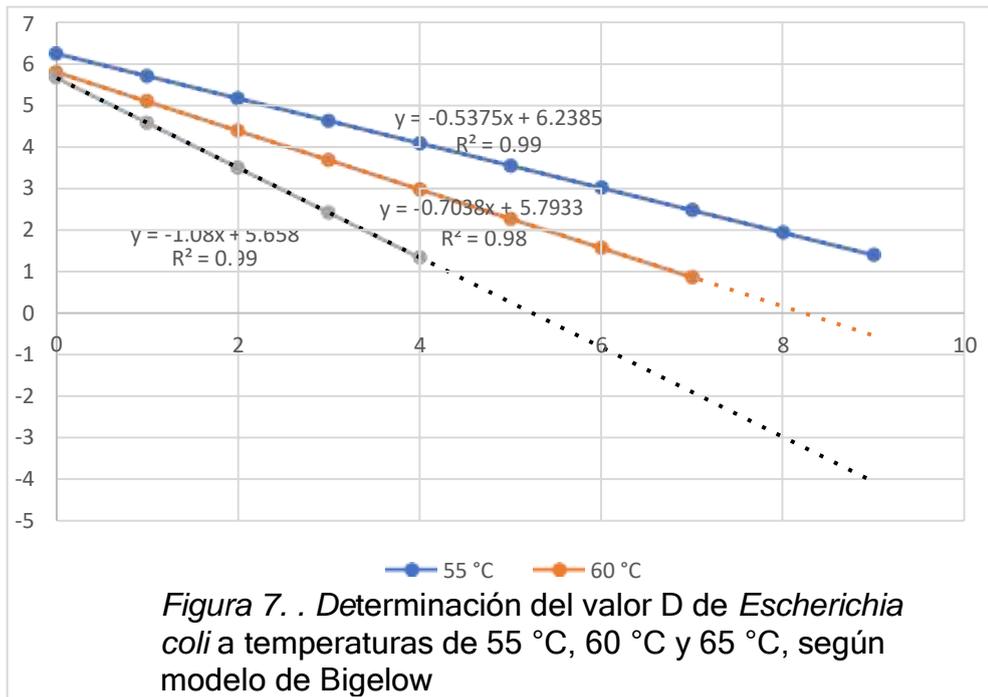
Tabla 14 Tiempo de reducción decimal (Factor D) óptimo para inactivar *E. coli*

| Temperaturas | Valor D | RMSE | R ² |
|--------------|---------|--------|----------------|
| 55 °C | 1.87 | 0.0292 | 0.991 |
| 60 °C | 1.44 | 0.0391 | 0.987 |
| 65 °C | 0.93 | 0.0869 | 0.978 |

Fuente: elaboración propia

La figura 7, muestra el ajuste de la curva de destrucción térmica de *Escherichia coli*, presente en la carne de pollo molida. El modelo de Bigelow ajusta los valores de destrucción térmica de las bacterias ácido lácticas en buena forma, presentándolos en forma lineal para poder explicar el efecto térmico bajo la forma de ecuaciones lineales. Los valores D_{55} , D_{60} y D_{65} permiten predecir la destrucción térmica utilizando sus ecuaciones lineales: $y = -0.5375x + 6.2385$; $y = -0.7038x + 5.7933$; $y = -1.08x + 5.658$, respectivamente.

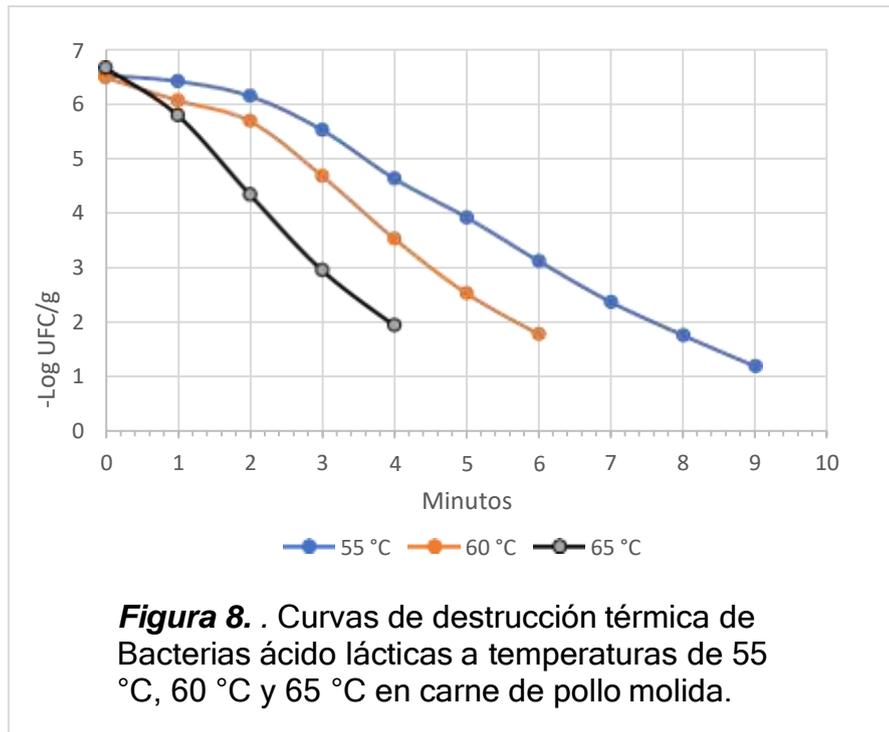
Se observa que el coeficiente de determinación (R^2) para las curvas de destrucción térmica alcanzan una confiabilidad estadística entre 0.98 a 0.99 que indica que el ajuste es una respuesta proporcional del comportamiento de las unidades formadoras de colonia (UFC/g) frente a las temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C.



Cinética de la destrucción térmica de Bacterias ácido lácticas a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C en carne molida de pollo.

La figura 8, mantiene la presentación de la destrucción bacteriana de BAL en función de la temperatura y tiempo siguen la tendencia de seguir mostrándose como una curva de tipo sigmoidea en donde se observa al inicio una resistencia de efecto inmediato de la temperatura (hombro), para continuar un con un descenso poblacional de tipo lineal y logarítmica a una velocidad decreciente acelerada y finalmente terminar en una inflexión menos acelerada, en donde es probable la existencia de supervivientes. En forma cuantitativa se puede afirmar que la aplicación de temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C a poblaciones iniciales (N_0) de EC de 6.52 UFC/g, 6.48 UFC/g y 6.66 UFC/g, respectivamente, observándose que no se elimina la totalidad de sus células, quedando poblaciones de sobrevivientes en cantidades de 1.19, 1.78 y 1.94 UFC/g, en forma correspondiente.

AD



La tabla 15, muestra los parámetros de velocidad de la destrucción térmica y la población inicial de las Bacterias ácido lácticas presentes en la carne molida de pollo, sometidas a las temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C, correspondiendo a cada una de ellas los valores de $-k_{max}$ de 1.48, 2.11, 2.83 Log UFC/g/m y N_0 de 7.02, 6.82, 6,79, respectivamente. La variabilidad de las medias muestrales de las repeticiones en los respectivos tratamientos térmicos es expresada por su desviación estándar del $-K_{max}$ es de 0.06, 0.10 y 013 para las temperaturas ensayadas, en forma respectiva; del mismo modo, para las poblaciones iniciales (N_0) las desviaciones estándar fueron 0.14, 0.16. 014. En ambos casos, el error estándar es muy pequeño e indica que el número de iteraciones de tiempo fue suficiente para cada temperatura.

AD

Tabla 15. *Parámetros cinéticos de la destrucción térmica de Bacterias ácido lácticas, Velocidad de muerte celular $-k_{max}$ (Log UFC/g/m) a partir de la población inicial ($LOG_{10}(N_0)$), a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C, en la carne molida de pollo.*

| Temperatura | $-k_{max}$ (Log UFC/g/m) | Error Estandar | Población Inicial $LOG_{10}(N_0)$ | Error Estandar |
|-------------|--------------------------|----------------|-----------------------------------|----------------|
| 55 °C | 1.48 | 0.06 | 7.02 | 0.14 |
| 60 °C | 2.11 | 0.10 | 6.82 | 0.16 |
| 65 °C | 2.83 | 0.13 | 6.79 | 0.14 |

Fuente: Elaboración propia

La Tabla 16, muestra los valores D para las Bacterias ácido lácticas fueron: 1.58 min a 55 °C, 1.10 min a 60 °C y 0.82 min a 65 °C. El análisis de varianza mostró que existen diferencias significativas en los tiempos de reducción decimal inducidos por las temperaturas empleadas, siendo la temperatura de 65 °C la más efectiva en lograr destruir el 90 % de la población inicial de 7.02 Log UFC/g. Así mismo, el error cuadrático medio (RMSE) para 55 °C es de 0.2426 min, para 60 °C 0.231 min y para 65 °C es de 0.027 min

Tabla 16. *Tiempo de reducción decimal (Factor D) óptimo para inactivar Bacterias ácido lácticas*

| Temperaturas | Valor D | RMSE | R ² |
|--------------|---------|-------|----------------|
| 55 °C | 1.58 | 0.243 | 0.9860 |
| 60 °C | 1.10 | 0.231 | 0.988 |
| 65 °C | 0.82 | 0.179 | 0.991 |

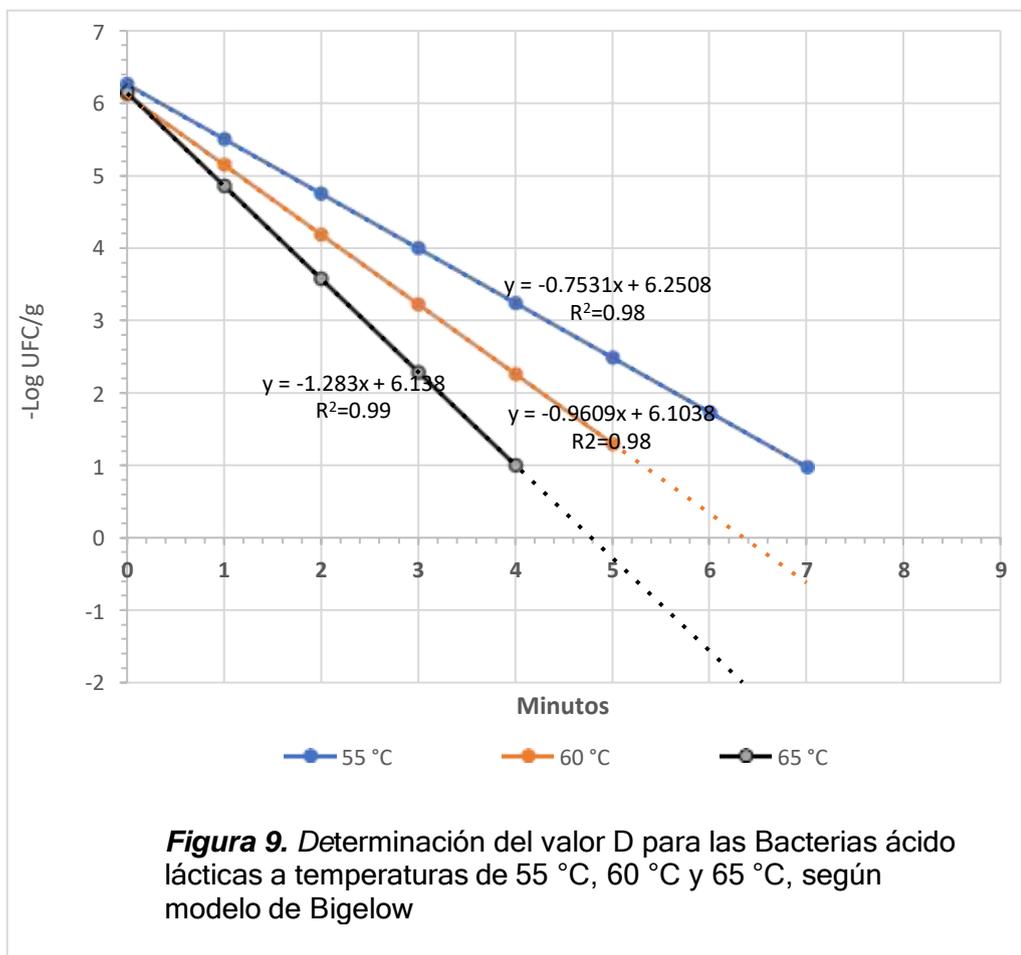
Fuente: elaboración propia

La figura 9, muestra el ajuste de la curva de destrucción térmica de las bacterias ácido lácticas presentes en la carne de pollo molida. El modelo de Bigelow ajusta los valores de destrucción térmica de las bacterias ácido lácticas en buena forma el cual los presenta en forma lineal que permitir explicar el efecto térmico bajo la forma de ecuaciones lineales.

AD

Los valores D_{55} , D_{60} y D_{65} permiten predecir la destrucción térmica utilizando sus ecuaciones lineales: $y = -0.7531x + 6.2508$; $y = -0.9609x + 6.1038$, $y = -1.283x + 6.138$, respectivamente.

Se observa que el coeficiente de determinación (R^2) para las curvas de destrucción térmica alcanzan una confiabilidad estadística entre 0.98 a 0.99 que indica que el ajuste es una respuesta proporcional del comportamiento de las unidades formadoras de colonia (UFC/g) frente a las temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C.



AD

VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

6.1. Contratación y demostración de la hipótesis con los resultados.

El presente estudio planteó la hipótesis que el modelamiento de las curvas de supervivencia no lineal permite determinar el tiempo que se requiere para la Inactivación térmica de *Salmonella* ssp., *Escherichia coli* y Bacterias ácido lácticas en la carne molida de pollo.

Para los tres microorganismos se observa la mayor frecuencia de sobrevivientes a 55 y 60 °C, siendo más elevada para *E. coli* (0.7) que para *Salmonella* ssp y Bacterias ácido lácticas (0.2 y 0.1 respectivamente), donde la mayor tasa de muerte se registra durante los primeros minutos. A estas temperaturas los resultados del modelo de Gompertz predicen que *Salmonella* ssp., *E. coli*, y Bacterias ácido lácticas sobreviven, durante el tiempo total del ensayo (10 minutos), con una carga bacteriana mínima de 1.29, 1.16 y 1.14 Log UFC/g.

Se eligió temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C que se aplicaron a la carne molida de pollo como factores de cocción considerando que son usados en alimentos cárnicos de consumo directo y se demuestra que los modelos matemáticos de Gompertz y Bigelow permiten caracterizar la forma como se desarrolla el proceso de supervivencia mostrando los parámetros cinéticos de la muerte bacteriana como la velocidad de la muerte celular $-k_{max}$ (-Log UFC/g/min) y establecer las ecuaciones correspondiente para su predicción, facilitando de ésta forma el control eficiente de la supervivencia de bacterias, alterantes, indicadores de higiene o patógenos, cuando se somete a la carne molida de pollo a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C.

Por otro lado, la muerte celular quedó demostrado que es de tipo sigmoidea y que los microorganismos en la carne molida de pollo se



encuentran en fase logarítmica o estacionaria; por lo tanto, estas condiciones determinan que al inicio del tratamiento térmico existe una resistencia de menor o mayor grado que ocasiona que el descenso de la población inicial por factor térmico no se produzca en forma inmediata o lineal y que al final del tratamiento no asegura la muerte total, demostrándose que existen células bacterianas sobrevivientes.

El comportamiento de la muerte celular de *Salmonella* ssp, *Escherichia coli* y Bacterias ácido lácticas, frente a las temperaturas aplicadas, es de tipo sigmoideo que pueden ser modelados a la forma lineal por la aplicación del modelo de Bigelow, el cual lo presenta en forma lineal e indicando el número de unidades logarítmicas que disminuyó la población bacteriana inicial y un porcentaje elevado de confiabilidad (R^2); de esta forma, se pudo determinar el tiempo de destrucción térmica (TDT) para lograr la temperatura ideal y poder garantizar que la cocción de la carne molida de pollo a una temperatura por encima de 65 °C y un tiempo mayor de 1 minuto para lograr un alimento apto para consumo humano.

6.2. Contrastación de los resultados con otros estudios similares.

En la carne de ave se han encontrado varios cientos de especies de microorganismos, los cuales pueden dividirse en dos grupos generales, por una parte, los que son capaces de producir enfermedades en humanos, generalmente denominados patógenos, y por otra, la alteración de la carne conocidos como microorganismos alterantes (Monteville et al, 2012).

La contaminación microbiana de la carne de pollo es indeseable e inevitable, y depende de la calidad microbiológica de las canales utilizadas como materia prima. Las prácticas de higiene durante la manipulación, el tiempo y la temperatura de almacenamiento afectan de forma importante al crecimiento microbiano (El-Leithy y Rashad, 1989;



Doyle y Buchanan, 2013). Es posible que existan deficiencias en la vigilancia integrada y estrategias de contención para minimizar la contaminación por *Salmonella* spp a lo largo de la cadena alimentaria, lo que permite un porcentaje alto de contaminación por este microorganismo en la carne de pollo. (Antunes y col. 2016).

La *Salmonella* no es considerado como parte de la flora intestinal de las aves, y las adquieren a partir de insectos, roedores, aves silvestres y el humano, así como por ingestión de alimento contaminado (Pérez et al., 2008). Así mismo el tiempo de estrés del transporte genera una gran multiplicación de bacterias intestinales ocasionado por el el material fecal conteniendo *Salmonella* y de esta forma llega a contaminar la canal durante el faenado (Adelantado et al., 2008).

Huanca y Sanchez, (2019). Demostró que la presencia de *Salmonella* sp. tiene ligero predominio de 57,7% en las muestras de músculo de la carne de pollo (*Gallus gallus domesticus*) beneficiada. En cuanto a su presencia en los tipos de mercado (Jaen, Perú), se observó que la presencia de *Salmonella* sp. fue más frecuente en el Mercado Sol Divino en el 78,6% de muestras, seguido por el Mercado Central en el 75,0% de muestras.

Si bien el rango de crecimiento de *Salmonella* se sitúa entre 5,5 y 45 °C, la temperatura en la cual se produce la muerte bacteriana depende de la cepa, de su fase de crecimiento, de la composición del alimento o medio de prueba, de otros limitantes físicos como la a_w y de la presencia de flora competitiva (Garibaldi et al., 1969). El incremento de sólidos, bajo pH y disminución de la humedad incrementan la resistencia térmica en los alimentos (Doyle y Mazzotta, 2000).

Por lo expuesto, se reconoce que la CMP posee una carga microbiana diversa y generadora de enfermedades transmitidas por los alimentos, de



tal manera que su uso como alimento de consumo inmediato o procesado requiere conocer la temperatura que pueda servir para controlar a los microorganismos patogénicos o alterantes. Se reconoce que el concepto de tiempo de reducción decimal, D, como el tiempo necesario para reducir en un 90% la población microbiana (Larrañaga, et al.).

El presente estudio utiliza como sustrato la matriz de la carne molida de pollo, a diferentes de muchos estudios que utilizan medios de cultivo sintéticos simples o enriquecidos. Los resultados demuestran que las temperaturas de 50 °C, 60 °C y 65 °C tuvieron efecto sobre la población de los tres grupos bacterianos considerados, destacando la temperatura de 65 °C la cual disminuye el mayor número de Unidades logarítmicas y los menores tiempos de reducción decimal (valor D), precisando que las diferentes especies microbianas tienen distintos valores D, que cuando es elevado es indicativo de una gran resistencia al calor. (Gutierrez, 2004)

En el caso de *Salmonella ssp*, estas se mostraron sensibles a la temperatura con valores D menores a 3 minutos, cuando la CMP se encuentra a un pH ligeramente ácido y se modifica con ligeros incrementos hacia la neutralidad. Lound y col. (2017) indican que la resistencia térmica está relacionado al pH y la variedad de las cepas de *salmonella ssp*, reportando que los D más bajos lo presentaron las células de *S. montevideo* mientras que *S. Enteritidis* y *S. Typhimurium*, con valores más altos.

Varios autores han reportado resultados que pueden considerarse análogos a los obtenidos en el presente estudio. Para *S. Enteritidis*, Doyle y Mazzotta (2000) han informado un D de 3,51 minutos en caldo nutritivo a 57°C y Shah et al. (1991) de 3,2 minutos a 62,6°C en el mismo medio de cultivo. También estos autores, utilizando los datos de las publicaciones de otros investigadores, calcularon que en un proceso de



calentamiento a 71°C se requiere 1,2 segundos para desactivar un ciclo logarítmico de células/ml de Salmonella. Jin y col (2018) reporta para *Salmonella agona* en alimentos de baja actividad de agua $T_{ref} : 75 \text{ }^\circ\text{C}$; D_{ref} (min):0.99.

Para *S. Typhimurium* se han informado valores D a 62°C en caldo triptona de soja de 0,3 minutos y en caldo infusión cerebro-corazón de 0,4 minutos mientras que a 65°C en buffer fosfato se ha informado un valor D de 0,056 minutos. Para *S. montevideo* se ha publicado un valor D= 1,2 minutos a 57,2°C en caldo nutritivo (Goepfert y Biggie, 1968)

Una forma de explicar los mecanismos de efecto de las temperaturas utilizadas sobre las células de Salmonella ssp pueden ser directos e indirectos que terminan desnaturalizando las proteínas intracelulares e impidiendo la síntesis de nuevas proteínas. El efecto térmico más importante obtenido es la disminución de cuatro niveles logarítmicos por cada una de las temperaturas utilizadas en este estudio.

Referente al efecto de temperaturas sobre Salmonella ssp. señalan que la muerte celular es debido a las alteraciones de la funcionalidad de sus estructuras por modificaciones moleculares de cada una de ellas, comprendiendo que es una bacteria que pertenece a la familia Enterobacteriaceae, Gram negativa, presenta una capa externa, pared celular y su membrana citoplasmática, en las cuales existen proteínas estructurales muy sensibles al calor intenso que se provocan su desnaturalización perdiendo su función y consecuentemente conducen a la muerte celular a una velocidad proporcional del incremento de temperatura, la cual se limita su aplicación por la necesidad de conservar las condiciones de nutrición, aspectos sensoriales y tecnológicos; y que



muchas veces permiten la supervivencia del patógeno no garantizando la inocuidad de las matrices del alimento como la CMP.

Al respecto, Rees (1991) señala que la destrucción microbiana a una temperatura elevada es generalmente explicada por la cinética de primer orden, en donde la población de *Salmonella* sp. es destruida en forma directamente proporcional a cada una de las temperatura de ensayo (50, 55 y 60°C) con relación a la concentración celular presente en un tiempo en particular y la velocidad de muerte es mayor a medida que se incrementa la temperatura, desde 4.902 a 5.597 generaciones muertas/minuto y la reducción de la población bacteriana osciló entre 7 y 8 unidades logarítmicas de la población inicial por daños en el ADN, desintegración de la estructura completa de la bacteria y por lisis de proteínas (Leguérinel y col., 2007). Al respecto, cuando se trata de los casos de jugos, existen regulaciones que especifican que se requieren procedimientos para inhibir microbios patógenos, exigiendo una reducción de cinco ciclos logarítmicos del número de microorganismos (FDA, 2001).

De igual modo, Vásquez (2007), reportó que, a 60 °C, *Salmonella typhi* es destruida en 4.3 minutos; así mismo, Bautista (2009), determinó que en caldo BHI a pH 7.0 la temperatura de 50 °C redujo la población inicial de *Salmonella* spp. a 36.8%; a 60 °C disminuyó 53.2% y 70 °C a 62%, e inactivó totalmente a los 180 minutos de tratamiento a pH 7.0 y de 105 minutos a pH 5.5; concluyendo que *Salmonella* se puede prevenir a las temperaturas de 93.3 a 176.8 °C por 45 a 60 segundos. Por su parte, Mann (2006), reportó que *S. enteritidis* en caldo BHI, pH 7.0 tuvo un Valor D de 10.8 minuto a 70 °C; en tanto que, para *Salmonella* spp a 50 °C fue de 35.7 minutos, a 60 °C fue de 80.7 minutos, a 70 °C fue 73.6 minutos, y a 80 °C fue de 40.2 minutos.



Los datos experimentales de Log UFC/g en función del tiempo analizados por el modelo matemático de Bigelow permite obtener los valores de la cinética de inactivación microbiana (-Kmax) cuya utilidad será permitir optimizar el proceso para asegurar una mayor reducción de la población microbiana contaminante. Según López, (2012), *Salmonella* sp. fue destruida desde el tiempo cero a las temperaturas de 50, 55 y 60 °C con valores D promedio de 2.163, 2.062, y 1.824 minutos, respectivamente no existiendo diferencia significativa entre los dos primeros, pero si entre cualquiera de los dos primeros y el ultimo valor D.

Otro objetivo del presente estudio fue considerar el comportamiento de un indicador fecal y de importancia tecnológica para la calidad de la CMP, quien es muy susceptible de contaminarse fácilmente en muchos puntos de su procesamiento con el grupo bacteriano de los coliformes y dentro de ella con *Escherichia coli* (EC), cuya variante O157:H7 se transmite al hombre principalmente por el consumo de alimentos contaminados, como productos de carne picada cruda o poco cocida.

La contaminación cruzada producida en la carne molida de pollo, por falta de higiene, está representada por el grupo coliforme y dentro de ellos está EC, que durante el tiempo que transcurre después del sacrificio, atraviesa por las fases de adaptación y logarítmica, pasando a la Fase estacionaria (FS) en donde ocurren cambios dramáticos en la estructura y su fisiología. En esta fase disminuye el volumen celular y las bacterias se redondean, disminuye la tasa global de síntesis de DNA, RNA y proteínas, aumenta la degradación de proteínas, se reorganiza el metabolismo general y se acumulan compuestos de reserva (polifosfato y glucógeno) y osmoprotección (trehalosa y glicina betaina). (Kolter, 1993; Akerlund, 1995; Huisman, 1996).



Su presencia en la carne de pollo molida es habitual y considerada como contaminante por acción cruzada. Su persistencia y multiplicación puede producir alteraciones del producto como la putrefacción y fermentación secundarias utilizando para estos fines la misma proteína de la carne molida de pollo, donde tiene pocas probabilidades de fermentarla por el escaso contenido de glucógeno en el músculo, por lo que el metabolismo conducirá a la putrefacción, incrementando el pH hacia la neutralidad. Si a esta condición metabólica le sumamos la temperatura sus procesos enzimáticos se aceleran, alterando el sustrato proteico.

Sin embargo, temperaturas por encima de 45 °C puede frenar su actividad y encerrar una supervivencia relativa: sin embargo, es poco tolerante al calor a 68.3 °C/40seg en la cual se inactiva. *E. coli* productora de toxina Shiga puede crecer a temperaturas que oscilan entre 7 °C y 50 °C, con una temperatura óptima de 37 °C. Algunas pueden proliferar en alimentos ácidos, hasta a un pH de 4,4, y en alimentos con una actividad de agua (a_w) mínima de 0,95. *E. coli* productora de toxina Shiga se destruye cocinando los alimentos hasta que todas las partes alcancen una temperatura de 70 °C durante 2 minutos o más. (Codex Alimentarius. 2002)

Los cambios en el metabolismo general, el aumento de compuestos de reserva y de osmoprotección, la remodelación de la envoltura celular y la expresión diferencial de genes contribuyen a que las células en Fase estacionaria mantengan la viabilidad y muestren mayor resistencia a diversos factores de estrés (radiación ultravioleta, peróxido de hidrógeno, calor, antibióticos y concentraciones salinas elevadas (Huisman, 1996)..

En el caso de *E. coli*, los mecanismos de protección se orientan principalmente a la prevención del daño oxidativo, como es el caso del metabolismo aeróbico que cambia a uno anaeróbico y aumentan las enzimas como la catalasa; por otra parte, la proteína Dps aumenta su



concentración y co-cristaliza con el DNA para protegerlo de la oxidación. (Finkel y col., 2000; Zambrano y Kolter, 1996). Durante la fase estacionaria los cambios en la expresión genética implican una reorganización metabólica profunda. Mediante esta reorganización se mantiene la integridad celular y las principales macromoléculas, aumentando la resistencia celular a diferentes agentes nocivos físicos y químicos durante el ayuno. (Huisman, 1996)

Es de suponer que la carne es un ambiente ecológico con diversidad microbiológica y que cada grupo tendrá un comportamiento de sobrevivencia diferente o cercanamente semejante que en todo momento van hacer todo lo posible para ser viables; manteniendo su homeostasis y poder superar el ambiente hostil utilizando por completo su energía, muriendo ya sea por un agotamiento metabólico y/o por la desnaturalización de proteínas generado por el efecto de la temperatura. Sin embargo, como cada bacteria expresa diferentes genes, no todas tienen la capacidad de actuar y sobrevivir al mismo tiempo (Ryu y col., 2012).

Otra causa de la sobrevivencia de E. coli está referido a sus estructuras externas como su pared y capa externa que le dan la protección frente al medio que la rodea, sin embargo, Peng y col. (2011) y Velliou y col. (2012) manifiestan que, E. coli posee en su superficie el antígeno "O", el cual es termoestable y le permite sobrevivir en un alto rango de temperaturas (50-60 °C). Cuando se superan los 70 °C, ciertos componentes comienzan a degradarse de forma irreversible como proteínas, ácidos nucleicos y el colapso de la membrana citoplasmática provocando la muerte celular.

Vila-Sosa (2013), en su estudio de sobrevivencia de EC observó que después de un crecimiento óptimo a 40 °C, el inicio de la fase logarítmica



ocurre a partir de los 5 min, creciendo 1.3 niveles logarítmicos, al final del experimento. A 50 °C, presenta una disminución de la carga bacteriana cercana a los 1.1 ciclos logarítmicos, sin embargo, las bacterias sobrevivientes, pueden tener diversos mecanismos de supervivencia generados por el alto estrés bacteriano que la temperatura provoca. La muerte celular se observa a 60 °C, al final del tiempo de experimentación hubo una reducción de la carga microbiana de hasta 4 ciclos logarítmicos.

Kim y col. (2019), evaluaron la tolerancia térmica de *Escherichia coli* O157: H7 incubada en caldo triptona de soja a cuatro temperaturas (15, 25, 35 y 45 °C). Después de la incubación, fue sometida a tratamientos térmicos a 55, 60 y 65 °C. E. coli generalmente tenía valores D más prolongados. La adaptación de las bacterias a ciertas tensiones puede reducir la efectividad de los obstáculos de preservación aplicados durante las etapas posteriores del procesamiento y almacenamiento de alimentos.

Duffy et al. 1999, realizó una comparación de la resistencia al calor de siete cepas de E. coli O157: H7 dio $D_{60\text{ °C}}$ de 0.44 a 1.29 min. Clavero y col. (1998) compararon la resistencia al calor de 10 cepas a cuatro temperaturas. La clasificación de las cepas, en términos de resistencia al calor, varió con la temperatura de calentamiento. $D_{58.9\text{ °C}}$ varió de 4.9 a 15 min y $D_{62.8\text{ °C}}$ varió de 0.56 a 1.14 min. Algunas cepas de E. coli patógenas han mostrado una menor resistencia térmica presentando valores $D_{58\text{ °C}}$ que se encuentran entre los 0.44 min y 1.42 min dependiendo del serotipo estudiado, disminuyendo esta resistencia térmica observada a 63.5°C (Vasan et al., 2013).

El tiempo de calentamiento a 55 ° C requerido para una reducción 5D fue de 7,3 min para las células en fase exponencial cultivadas a 23 ° C y de 106,4 min para las células de la fase estacionaria cultivadas a 37 ° C (Jackson et al. 1996).



Se investigó el efecto del trans-cinamaldehído (TC) sobre la inactivación de *Escherichia coli* O157:H7 en empanadas de carne molida poco cocidas. Las hamburguesas se cocinaron a una temperatura interna de 60 o 65 °C, y se enumeró *E. coli* O157: H7. La cocción de empanadas que contienen TC redujo significativamente ($P < 0.05$) los recuentos de *E. coli* O157: H7, en mayor de 5.0 niveles log UFC/g, en relación con la reducción en los controles cocinados a las mismas temperaturas. Los valores D a 60 y 65 °C fueron 1.85 y 0.08 min, respectivamente ($P < 0,05$) que los valores D correspondientes en las hamburguesas de control (2,70 y 0,29 min, respectivamente).

Stringer (2000) señala que una predicción precisa de la tasa de muerte térmica de *E. coli* O157: H7 es importante para que los procesadores de alimentos puedan garantizar que se alcancen los márgenes de seguridad adecuados. Además, considera que existe alguna variación en los datos de inactivación por calor publicados para *E. coli* O157:H7, y no hay pruebas sólidas que contradiga que un tratamiento térmico de 70 °C durante 2 minutos o el equivalente, según lo recomendado por el ACMSF, no produzca una reducción de 6D en las células de *E. coli* O157: H7.

Así mismo, las células vegetativas de EC al soportar tratamientos térmicos ligeramente superiores a su temperatura óptima adquieren capacidades metabólicas para ser resistentes, generándose la sobrevivencia. Coroller y col., (2012), afirman que las células sobrevivientes presentan una mayor resistencia al tratamiento aplicado y una probabilidad muy baja de morir. Posiblemente durante el tiempo inicial cuando comienzan a adaptarse al medio, la población superviviente se puede volver más sensible, y por lo tanto el daño acumulado provocado haría que las bacterias no sobrevivan (Van Derlinden y Van Impe, 2013). Estas circunstancias explican el rápido descenso que se observa cuando



se sigue incrementando la temperatura hasta un punto que conserve las características apetecibles para el consumidor.

Wilson y col. (2002) afirman que, en la mayoría de los casos, las predicciones basadas en los datos obtenidos de sistemas que utilizan medios de cultivo puro son aplicables para el crecimiento de los microorganismos que crecen en los alimentos. Sin embargo, hay una serie de casos en los que la estructura del alimento, la actividad de agua, la disponibilidad de nutrientes (como fuentes de carbono y nitrógeno), el pH y la temperatura de tratamiento, parecen dar como resultado un comportamiento diferente. Esto puede explicar las diferencias que se observan en las curvas de crecimiento o inhibición con las obtenidas a partir modelos predictivos y del control el cual mantuvo sus niveles de inoculación.

Otro grupo bacteriano, objetivo de este estudio son las bacterias ácido lácticas que se caracterizan por crecer en ausencia total de oxígeno y elevada tolerancia el CO₂. En primera instancia usan la glucosa y cuando esta se agota degradan los aminoácidos con la consecuente producción de ácidos grasos volátiles. También son responsables de la formación de limo mucilaginoso y oscurecimiento del exudado (Hansen y Bautista, 2000). Algunas bacterias ácido-lácticas como *Lactobacillus sakei* puede generar sulfuro de hidrógeno por degradación de cisteína (Egan et al., 1989). Por lo tanto, son bacterias muy importantes en la alteración de los alimentos y la inocuidad de los alimentos.

Actualmente el conocer la temperatura que debe llegar al centro de la porción de carne o sus productos es útil debido a que permite estimar la inactivación microbiana, por ésta razón los tiempos de calentamiento a determinada temperatura son específicas y de ésta forma se pueda obtener alimentos inocuos. Se tiene como premisa que temperaturas de



hasta 60-65 °C son suficientes para lograr las características de palatabilidad deseadas de productos cárnicos. Los resultados de nuestra propuesta térmica aplicada a la CMP están cercanos a los resultados de los estudios expuestos, pero se debe considerar que se utilizó como sustrato la matriz de la carne molida de pollo.

Al desarrollar un proceso térmico para inactivar los patógenos en los alimentos este se debe basar en un conocimiento preciso de la cinética de inactivación térmica del microorganismo en sustratos naturales, como la carne molida que desde un primer momento ofrece a las bacterias mayor área enzimática, nutrientes biodisponibles, actividad de agua óptima y matriz que predispone la sobrevivencia después del tratamiento térmico y un crecimiento logarítmico que alterará el alimento disminuyendo su tiempo de vida útil.

Otras circunstancias se sumaron a la CMP como los factores intrínsecos y extrínsecos que no siempre generan respuestas constantes a los tratamientos térmicos y contrariamente, pueden crear respuestas diferentes para una misma tecnología de proceso térmico empleado. Por lo tanto, es importante comprender cómo los diferentes sistemas de procesamiento térmico y tiempos afectan a la letalidad patógeno, y cómo los productos en sí también pueden afectar la letalidad general. (Vásquez, 2015).

Los resultados encontrados en este estudio también indican que las BAL sometidas a temperaturas experimentales de 55 °C, 60 °C y 65 °C, mostraron su sensibilidad a ellas, ocasionando la disminución de la población logarítmica inicial, siendo la más efectiva la temperatura de 65 °C. Los parámetros de la supervivencia estimado por el modelo de Gompertz, indica que la mayor velocidad de disminución poblacional de células de BAL tiene un valor de $-k_{\max} = 0.51 \text{ Log UFC/g/h}$ a temperatura



de 65 °C, logrando disminuir 5.35 UL en un tiempo de 4 minutos. Estos resultados permiten conceptualizar que las temperaturas de cocción en forma artesanal o precocinados no aseguran que las BAL puedan ser eliminadas en cantidades de UFC/g que eviten su pronta alteración por su capacidad de tolerar temperaturas de conservación en frío.

En el caso de este grupo bacteriano existe un factor adicional como el pH que puede ser factor estimulante para su crecimiento cuando la tendencia es hacia la acidez; sin embargo, cuando el ambiente es ácido y las temperaturas son letales generan condiciones sinérgicas logrando su control o eliminación y de esta forma disminuye las posibilidades de supervivencia. Lo ocurrido en este estudio es que el pH de la matriz de la CMP es, al inicio, ligeramente ácido y tiene una ligera variación y en la medida que transcurre el tiempo de aplicación térmica existe una tendencia a la neutralidad. El comportamiento de BAL en dichas condiciones se puede interpretar a través del ajuste lineal del pH para la temperatura de mayor efecto sobre ellas que fue de 65 °C, cuya pendiente representa un valor de 0.20 unidades de pH por cada minuto que ocurre el proceso de aplicación térmica, aproximándose a la neutralidad; en consecuencia, las condiciones de pH ligeramente ácidas y temperatura de 65 °C genera estrés con respuestas metabólicas y genéticas que favorecen la sobrevivencia de células vegetativas de BAL, pudiéndose generar probables problemas posteriores de alteración de la CMP durante el tiempo de elaboración o procesamiento de productos cárnicos y su posterior conservación.

Las BAL representan la principal microflora contaminante y considerada como natural en la CMP y en sus productos cárnicos. Por este motivo requieren aplicar temperaturas óptimas para su cocción y de esta forma reducir considerablemente su presencia, sin dejar de considerar la posibilidad de que algunas variedades de BAL pueden sobrevivir al tratamiento térmico.



Jay (2005), manifiesta que los microorganismos son más resistentes al calor en un pH de crecimiento cercano a la neutralidad. Esta condición presenta una ventaja a la hora de aplicar tratamientos de esterilización, pues en alimentos con alta acidez la temperatura necesaria para alcanzar la esterilidad será menor, con respecto a alimentos que presenten un pH cercano a la neutralidad.

El pH presentes en la CMP es ligeramente ácido (5.72 ± 0.061) y relativamente alto en cuanto a su humedad (A_w) 0.98 ± 0.001 (USDA, 2007). El rango de pH para el desarrollo de las BAL oscila entre 5.6-9.8. Estas condiciones significan que las propiedades de la CMP están entre los rangos óptimos para el crecimiento de estas bacterias, induciendo a que las bacterias no activen mecanismos metabólicos o genéticos que puedan generar resistencia térmica; sin embargo, la humedad presente en la CMP no cambia por la capacidad de retención de agua de las proteínas musculares, aumentando la capacidad de sobrevivencia. (Archer et al. 1998).

La FDA Código Alimentario (2009) sirve como una guía para los establecimientos de servicio de alimentos adecuada cocción y su posterior manipulación y recomienda cocinar carne intacta a una temperatura interna mínima de $54.4\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante aproximadamente 2 horas, que es superior al restaurante. Además, el Código de los alimentos permite que sirvan carne cruda intacta si ha sido cocinado a una temperatura en la superficie de $63\text{ }^{\circ}\text{C}$. Por otra parte, el tratamiento térmico produce en las células bacterianas una gran variedad de cambios estructurales y funcionales, que, en determinadas condiciones, ocasionan su muerte. (Pellón y col., 1981).



La supervivencia de las BAL puede ser explicada desde el punto de vista estructural, metabólico o mixto. Los factores intrínsecos y extrínsecos del sustrato pueden interactuar con mayor o menor impacto; sin embargo, la adaptabilidad bacteriana a condiciones de estrés en forma rápida permite evidenciar la supervivencia de células bacterianas en diferentes estadios del crecimiento. Teixeira et al. (1997) determinaron los eventos de desnaturalización que ocurren durante el calentamiento de células intactas y componentes celulares de *L. bulgaricus*. Cuando las células del microorganismo son calentadas, hay una gran reacción endotérmica, alrededor de los 50 °C que es causada por la fusión de los lípidos de la membrana celular. En el mismo rango de temperatura una reacción exotérmica irreversible asociada con el cambio de estado de los péptidos glucanos de la pared celular se presenta. (Teixeira et al. 1997).

Otra estructura sensible a las temperaturas letales son los ribosomas de las BAL, Lepock et al. (1990), menciona que las temperaturas en las cuales ocurre su fusión es entre 60 y 90 °C, dejando a las células incapacitadas de síntesis de proteínas. Caracterizada por tres picos a 61, 73, 80 °C, correspondientes a las subunidades celulares de estos componentes. A 90 °C el pico resultante es el de la fusión del ADN. Arriba de esta temperatura, están asociados a las regiones de desnaturalización de compuestos más termoestables, como los ácidos nucleicos. Por lo tanto, la región de temperaturas en la cual hay una reducción en la población microbiana es el resultado de la desnaturalización de las subunidades ribosomales, sitios clave en la síntesis de proteínas. Las posibles razones para la pérdida de viabilidad que ocurren durante el calentamiento pueden tener el siguiente orden: debajo de 64 °C, los sitios críticos son estructuras contenidas o formando parte de las membranas celulares. Para temperaturas de 65°C y ligeramente superiores, la desnaturalización de los ribosomas y/o las proteínas, así como de las paredes celulares dañadas, quizá sean



responsables de la muerte térmica de los microorganismos. (Teixeira et al., 1997; Kaletunic, 2002).

En los ensayos realizados de este estudio, el tiempo que permanecieron las bacterias en los baños de agua a la temperatura de 65 °C permitió a las BAL algún tipo de adaptación al calor aplicado que se vio reflejada en la supervivencia de las BAL en la CMP durante el cocimiento. Milborne (1983), reportó que las BAL tienen una mejor sobrevivencia en productos cárnicos debido a la acción protectora de los ingredientes del producto.

En el presente estudio encontramos valores de Tiempo de destrucción térmica (D) para las Bacterias ácido lácticas de 1.58 min a 55 °C, 1.10 min a 60 °C y 0.82 min a 65 °C, siendo ésta última la más efectiva; sin embargo, es destacable notar que en todas las temperaturas aplicadas, la probable existencia de supervivientes.

Investigaciones respecto al valor D, como el de Pérez y col. (2008) quienes refieren que, la resistencia al calor de tres bacterias del ácido láctico que deterioran la carne. Los valores de D a 57, 60 y 63 °C fueron 52,9, 39,3 y 32,5 s para *Lactobacillus sake*, 34,9, 31,3 y 20,2s para *Leuconostoc mesenteroides* y 22,5, 15,6 y 14,4s para *Lactobacillus curvatus*, respectivamente. Las tres bacterias del ácido láctico eran sensibles al calor, al lograr reducciones de un logaritmo a 57 °C en menos de 60 s.

Así mismo; estudios de termorresistencia térmica reportan la existencia de cepas de BAL que pueden resistir por tiempos prolongados a temperaturas letales de 70 °C y que todas las cepas poseen diferente capacidad de tolerancia térmica. En el caso de CMP es probable la existencia de varias cepas de BAL y que es probable que pudiesen existir



cepas que pudieran resistir temperaturas mayores de 65°C, que las estamos considerando como supervivientes.

En un estudio de Von (1996), cuatro cepas de bacterias ácido lácticas aisladas presentaron una supervivencia abundante ($> 300 \text{ UFC.m}^{-1}$), después de calentar durante 30 y 45 minutos a 50, 60 y 70 ° C, lo que indica una capacidad de termotolerancia inherente. No obstante, después de calentar durante 60 minutos a 70 °C, la supervivencia de *L. plantarum* y *P. pentosaceus* fue menor en comparación con *L. curvatus* y *P. acidilacti*. que presentó un crecimiento más abundante.

Pérez (2016), estudiaron el tiempo de reducción decimal de BAL probióticas y sus resultados demostraron que las bacterias ácido lácticas estudiadas poseen la capacidad de ser termotolerantes a temperaturas de 68 a 70 °C, que fueron requerida para reducir la población microbiana por mecanismos de desnaturalización térmica. Los resultados indican la posibilidad de que puedan ser empleadas como cultivos iniciadores en productos cárnicos que lleven un tratamiento térmico.

Existen y se proporcionan pautas de cumplimiento sobre la combinación correcta de temperatura y tiempo para la cocción de carnes rojas y aves. Un ejemplo sería un tiempo de cocción mínimo de 91 segundos después de que la carne de vacuno haya alcanzado los 65°C o calentado a un mínimo de 71°C, a esa temperatura se alcanzaría instantáneamente la letalidad requerida. La guía del USDA para los consumidores (USDA, 2007) recomienda cocinar al vapor o asar la carne a 71°C para la carne de res y 74°C para las aves.

Stringer (2000). Por conveniencia, las desviaciones de la cinética de primer orden a menudo se ignoran al calcular los valores de resistencia térmica, con líneas rectas ajustadas a todas las curvas o secciones de



ellas. En estas circunstancias, el uso de gráficos logarítmicos lineales es más práctico que teórico y puede inducir a error. En un intento de describir los datos de muerte térmica con mayor precisión, se han adoptado varias funciones matemáticas alternativas. Algunos se basan en la comprensión del mecanismo fisiológico de inactivación. Por ejemplo, Moats et al. (1971) asumieron que los objetivos térmicos están agrupados en sitios críticos dentro de la célula; Kormendy y Kormendy (1997) asumieron que hay una distribución de resistencia dentro de la población; por otro lado, Smerage y Teixeira (1993) asumieron que la heterogeneidad ocurre por adaptación al calor durante el calentamiento. Otros modelos involucran el ajuste empírico de curvas (por ejemplo, Pruttand Kamau 1993; Stecchini et al. 1993; Whiting 1993). mencionan que las curvas de inactivación térmica pueden ser una mejor que otra, a menudo es difícil probar sus rendimientos.

6.3. Responsabilidad ética

El autor del presente estudio a actuado con la responsabilidad fundamental de proteger a todas las personas que participan en la investigación y de colocar el bienestar de los participantes por encima de los intereses de la ciencia y la sociedad. Por otro lado, se ha tenido en cuenta el respeto a la autoría de otros investigadores. Así mismo, se consideró estas responsabilidades no sólo como un requisito regulador o jurídico, sino también como una exigencia para llevar a cabo la investigación de conformidad con las normas y los principios éticos universales. Así mismo lo expresado en el presente estudio no tiene ningún tipo de conflicto de intereses, ni relación económica, personal, política, interés financiero ni académico que pueda influir en el juicio e interpretación del estudio.



CONCLUSIONES

Se determinó que la calidad microbiológica de la carne molida de pollo (*Gallus gallus domesticus*) según criterios microbiológicos presentando la presencia de bacterias indicadoras de contaminación cruzada y patógenos intestinales.

Las curvas de muerte celular obtenidas se muestran como función sigmoide con presencia de hombro y cola

Los parámetros cinéticos de la supervivencia de *Salmonella* ssp. *Escherichia coli* y Bacterias ácido lácticas, obtenidas con el modelo de Gompertz, indican que la mayor constante de velocidad de la muerte celular ($-k_{max} \text{ Log UFC/g/m}$) corresponde a 65 °C, cuando incide sobre *Salmonella* ssp y Bacterias ácido Lácticas; mientras que *E. coli* se comporta como termotolerante.

El modelo de Bigelow utilizado el valor D en función del tiempo y la temperatura permitiendo, de esta forma, diseñar un sistema de inactivación térmica para las bacterias patógenas, indicadores de higiene y alterantes presentes en la carne molida de pollo.

La microbiología predictiva es una herramienta esencial para describir las curvas de inactivación tras el uso de modelos matemáticos, eligiendo el modelo adecuado para hacer predicciones de la fracción de supervivientes en función de la temperatura y el tiempo. Empleando el modelo matemático de Bigelow se obtuvieron parámetros cinéticos primarios y secundarios para cada temperatura ensayada.

RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de estados fisiológicos de las bacterias termotolerantes en condiciones de temperaturas letales



- Estimar los tiempos de adaptación y condiciones de la fase estacionaria de las bacterias presentes en matrices coloidales naturales alimenticias.
- Determinar valores de tiempo de destrucción térmica en formulaciones alimenticias de elevado consumo popular
- Estudiar modelos matemáticos secundarios aplicados a matrices de alimentos en sus estados naturales y relacionados a sus factores intrínsecos y extrínsecos

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Archer, J., Jervis, E., Bird, J., Gaze, J. 1998. Heat resistance of *Salmonella weltevreden* in low-moisture environments. *J. Food Prot.*61:969-973.
- Aguado Alonso, J., et al. Ingeniería de la Industria alimentaria, volumen III Conservación de alimentos, Madrid, España: Editorial Síntesis, 1999.
- Akerlund, T., K. Nordström & R. Bernander. 1995. Analysis of cell size and DNA content in exponentially growing and stationary-phase batch cultures of *Escherichia coli*. *J. Bacteriol.* 177:6791-6797.
- Alzamora, S. M., Guerrero, S. N., López-Malo, A., Palou, E., Char, C. D., y Raffellini, S. 2008 . Models for microorganism inactivation: application in food preservation design. En "Processing Effects on Safety and Quality of Foods". E. Ortega (ed.). Taylor and Francis. Estados Unidos. En prensa.
- American Dietetic Association (ADA).2003. Position of the American Dietetic Association: Addressing world hunger, malnutrition and food insecurity. *Journal of the American Dietetic Association.* 103(8): 1046-1057.
- Antunes P, Mourão J, Campos J, Peixe L. Salmonellosis: the role of poultry meat. *Clinical Microbiology and Infection.* 2016;22(2):110-121. doi:doi.org/10.1016/j.cmi.2015.12.004
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1997. Methods of Analysis of the AOAC International. 3rd ed. Volumen II. Maryland USA.
- Aragao, G.M.F.; Corradini, M.G.; Normand, M.D.; Peleg, M. 2007. Evaluation of the Weibull and log-normal distribution functions as survival models of *Escherichia coli* under isothermal and non-isothermal conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 119: 243-257.
- Arango, CM; Restrepo, CA. 2011. Microbiología de la Carne. Edit. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Colombia. Medellín, Colombia.
- Alvarez-Astorga, M., Capita, R., Alonso Calleja, C., Moreno, B., Garcia-renadez M. del C., (2002). Microbiological quality of retail chicken by-products in Spain. *Meat Science* 62 (1), 45- 50.
- Ball CO (1923) Thermal process time for canned food. *Bull Natl Res Counc* 7(37):9- 76
- Baranyi, J. y Roberts, T.A. (1994). Un enfoque dinámico para predecir el crecimiento de bacterias en los alimentos. *Int J. Food Microbiol*, v.23, p. 277-294.

- Barbosa-Cánovas, Gustavo V., & Bermúdez-Aguirre, Daniela (2010). Procesamiento no térmico de alimentos. *Scientia Agropecuaria*, 1(1),81-93.[fecha de Consulta 13 de Abril de 2020]. ISSN: 2077-9917.
- Baty, F. y Delinegnette-Muller, M.L. (2004). Estimating the bacterial lag time: which model, which precision? *International Journal of Food Microbiology*, v. 91, p. 261-277.
- Bautista G. Evaluación en tres microambientes diferentes de la termorresistencia de una cepa de Salmonella spp aislada de compost. Tesis de grado Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. 2009.
- Bendicho, S.; Barbosa-Cánovas, G.V.; Martín, O. 2002. Milk processing by high intensity pulsed electric fields. *Trends in Food Science and Technology*, 13: 195-2004.
- Benedict, R. C., Schultz, F. J., and Jones, S. B. (1990). Attachment and removal of Salmonella spp. on meat and poultry tissues. *Journal of Food Safety*, 11(2), 135-148.
- Bermúdez-Aguirre, D.; Mawson, R.; Barbosa-Cánovas, G.V. 2008. Microstructure of fat globules in whole milk after thermo-sonication treatments. *Journal of Food Science*, 73(7): E325-E332.
- Bermúdez-Aguirre, D.; Mawson, R.; Versteeg, K.; Barbosa-Cánovas, G.V. 2009. Composition parameters, physicalchemical characteristics and shelf-life of whole milk after thermal and thermo-sonication treatments. *Journal of Food Quality*. 32: 283-302.
- Berk Z. Thermal processing. *Food Process. Eng Technol*. 2009; 46(6): 573. 10.
- Berk Z. Thermal Processes, Methods and Equipment. *Food Process. Eng Technol*. 2013; 421-38.
- Bigelow, W. y Esty, J. (1920). The Thermal Death Point in Relation to Time of Typical Thermophilic Organisms. *The Journal of Infectious Diseases*, 27(6), 602-617. doi: 10.1093/infdis/27.6.602
- Bolado-Rodríguez, S.; Góngora-Nieto, M.M.; Pothakamury, U.; Barbosa-Cánovas, G.V.; Swanson, B.G. 2000. A review of nonthermal technologies. In: Lozano J., Añón M.C.; Parada E.; Barbosa-Cánovas G.V. *Trends in Food Engineering*, Lancaster, PA, Technomic Publishing.
- Bolton, D., Meredith, H., Walsh, D., and McDowell, D. (2014). Poultry food safety control interventions in the domestic kitchen. *Journal of Food Safety*, 34(1), 34-41.
- Botina B. Lucía., Vanegas, M. Consuelo., & Coral, A. (2007). Uso del modelo de bigelow para la determinación del valor d de Listeria

monocytogenes. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, 10(2), 155-165.

Brown, H. L., Reuter, M., Salt, L. J., Cross, K. L., Betts, R. P., and van Vliet, A. H. M. (2014). Chicken juice enhances surface attachment and biofilm formation of *Campylobacter jejuni*. *Applied and Environmental Microbiology*, 80(22), 7053-7060.

Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades-CDC, Organización Mundial de la Salud-OMS Parte 6. Medicina & Laboratorio, Volumen 15, Números 11-12, 2009.

Clemente Carazo Marta. Effect of acid shock on the thermoresistance of *Salmonella enterica* subsp. *enterica* CECT 4300 at different pH's. 2017. Tesis. Escuela Técnica Superior de Ingeniería Agronómica- Universidad Politécnica de Cartagena

Codex Alimentarius. 2002. Perfil de riesgos para *Escherichia Coli* enterohemorrágica, incluida la identificación de los productos básicos de interés, entre ellos las semillas germinadas y la carne molida de res y puerco. CX/FH 03/5-Add. 4 de septiembre de 2002.

Coroller, L., Kan-King-Yu, D., Leguerinel, I., Mafart, P., and Membré, J. M. (2012). Modelling of growth, growth/no-growth interface and nonthermal inactivation areas of *Listeria* in foods. *International Journal of Food Microbiology*. 152 (1): 139-152.

Corradini, M.G.; Normand, M.D.; Peleg, M. 2008. Prediction of an organism's inactivation patterns from three single survival ratios determined at the end of three nonisothermal heat treatments. *International Journal of Food Microbiology*, 126: 98-111.

Corradini, M.G.; Peleg, M. 2004. Demonstration of the Weibull-Log logistic survival model's applicability to non-isothermal inactivation of *E. coli* K12 MG1655. *Journal of Food Protection*, 67: 2617-2621.

Corradini, M.G.; Peleg, M. 2007. A Weibullian model of microbial injury and mortality. *International Journal of Food Microbiology*, 119: 319-329.

Couvert, O., Gaillard, S., Savy, N. Mafart, P. y Leguerinel, I. 2005 . Survival curves of heated bacterial spores: effect of environmental factors on Weibull parameters. *International Journal of Food Microbiology*. 101:73-81.

Dainty, R.H. and Mackey, B.M., 1992. The relationship between the phenotypic properties of bacteria from chill-stored meat and spoilage processes. *Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement*, vol 73, pp: 1038-1048.

De Jong, A.E.I., van Asselt, E.D., Zwietering, M.H., Nauta, M.J., de Jonge, R., 2012. Extreme heat resistance of food borne pathogens *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli*, and *Salmonella typhimurium* on chicken breast fillet during cooking. *Int. J. Microbiol.*

- De Jonge R 2018: Predictable and unpredictable survival of foodborne pathogens during nonisothermal heating. *Int J Food Microbiol* 291: 151-160.
- Domínguez Miguel D. C. (2014). Efecto de la refrigeración y la aplicación de ácido láctico sobre la presencia de *Listeria monocytogenes* en canales bovinas en un centro de beneficio de Lima - Perú. Tesis de pregrado. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima -Perú.
- Doyle, M. E., Mazzotta, A. S. 2000. Review of studies on the thermal resistance of *Salmonellae*. *Journal of Food Protection*, 63(6): 779-795.
- Duffy, G., Walsh, C., Blair, I.S., McDowell, D.A., 2006b. Survival of antibiotic resistant and antibiotic sensitive strains of *E. coli* O157 and *E. coli* O26 in food matrices. *Int. J. Food Microbiol.* 109, 179-186.
- Eisel, W. G.; Linton, R. H.; Muriana, P. M. A survey of microbial levels for incoming raw beef, environmental sources, and ground beef in a red meat processing plant. *Food Microbiology*, London, v.14, p.273-282, 1997.
- Espina Suárez Karen Alejandra. 2012. Contaminación experimental con *Salmonella* Enteritidis en carnes crudas de pollo, pavo, cerdo y bovino. Tesis. Departamento de Medicina Preventiva Animal, Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias, Universidad de Chile, Santiago, Chile.
- Evans, G.; Cox, D.N. 2006. Australian consumers' antecedents of attitudes towards foods produced by novel technologies. *British Food Journal*, 108(11): 916-930.
- Featherstone S. Heat penetration determinations and thermal process calculations. In: *A Complete Course in Canning and Related Processes*. Elsevier Ltd; 2015; 43-58 p.
- Finkel, S. E., E. R. Zinser & R. Kolter. 2000. Long-term survival and evolution in the stationary phase, pp.231-238. In G. Storz & R.
- Hengge-Aronis (Eds). *Bacterial Stress Responses*, American Society for Microbiology, Washington D.C.
- Food and Drug Administration (FDA). Hazard analysis and critical control point (HACCP); procedures for the safe and sanitary processing and importing of juice; final rule. *Fed. Register* 2001; 66(13):6137.
- Fung Daniel, Y.C, 2003. Métodos rápidos y automatización en microbiología alimentaria. II Workshop. Facultad de Veterinaria, Universidad Autónoma de Barcelona.
- Galton, M.M., Mackel, D.C., Lewis, A.L., Haire, W.C., Hardy, A.V. (1955). Salmonellosis in poultry and poultry processing plants in Florida. *American Journal of Veterinary Research*, 16, 132-7.

- Garde-Cerdán, T.; Arias-Gil, M.; Marsellés-Fontanet, A.R.; Ancín-Azpilicueta, C.; Martín-Belloso, O. 2007. Effects of thermal and non-thermal processing treatments on fatty acids and free amino acids of grape juice. *Food Control*, 18: 473-479.
- Garibaldi, J., Straka, R., Ijichi, K. 1969. Heat Resistance of Salmonella in Various Egg Products. *Applied Environmental Microbiology* 17(4):491-496
- Goepfert, J., Biggie, R. 1968. Heat resistance of Salmonella Typhimurium and Salmonella Senftenberg 775W in milk chocolate. *Applied Microbiology* 16: 1939-1940.
- Gutiérrez Pulido, H. y De la Vara Salazar, R. Control estadístico de calidad y seis sigma, México: Edit. McGraw-Hill, Interamericana, 2004.
- Heldman, D. R. y Newsome, R. I. 2003. Kinetic models for microbial survival during processing. *Food Technology*. 57(8): 40-100.
- Huanca Peralta L. y Sánchez Navarro E. (2019). Calidad microbiológica de la carne de pollo (*Gallus gallus domesticus*) comercializadas en los mercados de Jaén. Tesis pregrado. Jaén - Perú
- Huisman, G. W., D. A. Siegele, M. Zambrano & R. Kolter. 1996. Morphological and physiological changes during stationary phase, pp. 1672-1682. In F.C. Neidhardt (Ed.). *Escherichia coli and Salmonella typhimurium: Cellular and Molecular Biology*, American Society for Microbiology, Washington D.C.
- Humphrey T. Salmonella, stress responses and food safety. *Nature Reviews*. 2004; 2: 504-509
- ICMSF, 1998. (International Commission on Microbiological Specifications for Foods). *Microorganisms in foods*. Vol 6. Microbial specifications of food commodities. Blackie Academic and Professional, London.
- Instituto nacional de normalización. Productos hidrobiológicos. Detección de *Salmonella*. Norma Chilena Oficial NCh 2675. Of2002: Santiago; 2002.
- Jarvis NA, O'Bryan CA, Dawoud TM, Park SH, Kwon YM, Crandall PG, Ricke SC 2016: An overview of Salmonella thermal destruction during food processing and preparation. *Food Contr* 68: 280-290
- Jay, J. M. Indicators of food microbiological quality and safety. In: *Modern food microbiology*. 6.ed. Maryland: Aspen Publication, 2000. p.387-407
- Juneja Vijay K. and Eblen Brian S. Predictive Thermal Inactivation Model for *Listeria monocytogenes* with Temperature, pH, NaCl, and Sodium Pyrophosphate as Controlling Factors. *Journal of Food Protection*, Vol. 62, No. 9, 1999, Pages 986 – 993.

- Juneja, V.K., Marks H.M., and Mohr T. 2003. Predictive thermal inactivation model for effects of temperature, sodium lactate, NaCl, and sodium pyrophosphate on Salmonella serotypes in ground beef. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:5138-5156.
- Kéirmendy, I. y Kéirmendy, L. 1997. Considerations for calculating heat inactivation processes when semilogarithmic thermal inactivation models are nonlinear. *Journal of Food Engineering.* 34(1): 33- 40.
- Kim, J., Slavik, M. F., Griffis, C. L., and Walker, J. T. (1993b). Attachment of Salmonella typhimurium to skins of chicken scalded at various temperatures. *Journal of Food Protection*, 56(8), 661-671.
- Kim Chyer, Alrefaei Rana, Bushlaibi Mariam, Ndegwa Eunice, Kaseloo Paul, Wynn Crystal. Influence of growth temperature on thermal tolerance of leading foodborne pathogens. *Food Sci Nutr.* 2019; 7:4027-4036-
- Knorr, D.; Ade-Omowaye, B.I.O.; Heinz, V. 2002. Nutritional improvement of plant foods by non-thermal processing. *Proceedings of the Nutrition Society*, 61: 311-318.
- Kolter, R., D. A. Siegele & A. Tormo. 1993. The stationary phase of the bacterial cycle. *Annu. Rev. Microbiol.* 47:855-74.
- Kotula Kathryn L. and Pandya Yoga. Bacterial Contamination of Broiler Chickens before Scalding. *Journal of Food Protection.* 1995. Vol. 58, No. 12, Pages 1326-1329
- Lahou E., Jacxsens L., Verbunt E., Uyttendaele M.. Evaluation of the food safety management system in a hospital food service operation toward *Listeria monocytogenes*. *Food Control* 49 (2015) 75 - 84.
- Larrañaga Coll, I., et al. Control e higiene de los alimentos, España: Mc GrawHill/ Interamericana de España S.A., 1era. ed. en español, 1999
- Lavado Castro D.E. 2017. Estudio comparativo de la carga bacteriana en carcasas de pollo provenientes de diferentes sistemas de beneficio y comercialización en el distrito de Trujillo. Tesis de pregrado. Univ. Nac. Trujillo.
- Leguérinel I, Spegagne I, Couvert O, Coroller L, Mafart P. Quantifying the effects of heating temperature, and combined effects of heating medium pH on the heat resistance of *S. typhimurium*. *Internacional J Food Microbiol*, 2007; 116:88-95.
- Lepock, J.; Frey, H.; Inniss, W. 1990. Thermal analysis of bacteria by differential scanning calorimetry: relationship of protein denaturation in situ to maximum growth temperature. *Biochimica et Biophysica Acta* 1055, 19-26.
- Lihono M. A., Mendonca A. F., Dickson J. S., and Dixon P. M. A Predictive Model To Determine the Effects of Temperature, Sodium Pyrophosphate, and Sodium Chloride on Thermal Inactivation of

Starved *Listeria monocytogenes* in Pork Slurry *Journal of Food Protection*, Vol. 66, No. 7, 2003, Pages 1216-1221

- Lillard, H.S. (1989) Factors affecting the persistence of *Salmonella* during the processing of poultry. *Journal of Food Protection*, 52(11), 829-832.
- Liu, Y., Gill, A., Lynn, M., Gallen, M.G., 2015. Variation in heat and pressure resistance of verotoxigenic and nontoxigenic *Escherichia coli*. *J. Food Prot.* 78, 111-120.
- Lopes M.; Galhardo J.; Tinasi de Oliveira J.; Tamanini R.; Fabre Sanches S.; Ekehardt Muller E. Research of *Salmonella* spp. and indicators microorganisms in poultry carcasses and chilling tanks water in poultry slaughterhouse. *Ciências Agrárias, Londrina*, v. 28, n. 3, p. 465-476, jul./set. 2007
- López Díaz A, Palou E, López-Malo A. Radiación ultravioleta en jugos de frutas: Fundamentos y aplicaciones. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*. 2012; 6(2):79-93.
- Lound, L.; Aleu, H.; Broggi, L.; Genaro, V.; Tesouro, R.; Favre, L.; Plem, S.; Tofolón, E. Resistencia térmica de *Salmonella*. Efecto del pH y la actividad del agua. *Ciencia, Docencia y Tecnología - Suplemento Nº 7 Año vii*. 2017 (01-17) 17
- Mafart, P., Couvert, O., Gaillard, S. y Leguerinel, I. 2002. On calculating sterility in thermal preservation methods : application of the Weibull frequency distribution model. *International Journal of Food Microbiology*. 72(1): 107-113.
- Mann J, Brascheers M. Contribution of humidity to the lethality of surface-attached heatresistant *Salmonella* during the thermal processing of cooked ready-to-eat roast beef. *J Food Protection* 2006; 70(3):276-765
- Marcén Terraza, María. (2018). Influencia del estrés oxidativo en la inactivación bacteriana por diferentes tecnologías utilizadas para la conservación de los alimentos. Tesis doctoral. Universidad de Zaragoza. Zaragoza. España.
- Martínez J.L, Olivares Pacheco J., Alvarez-Ortega C., Alcalde Rico M. Metabolic Compensation of Fitness Costs Is a General Outcome for Antibiotic-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Mutants Overexpressing Efflux Pumps. *mBio*. 2017 Jul-Aug; 8(4): e00500-17.
- Mead, G. C., and Impey, C. S. (2005). The distribution of clostridia in poultry processing plants. *British Poultry Science*, 11(3), 407- 414.
- McDonald, K., & Sun, D. W. (1999). Predictive food microbiology for the meat industry: a review. *International journal of food microbiology*, Vol. 52(1-2), Pág. 1-27.



- McFarland, J. (1907). The Nephelometer: An instrument for estimating the number of bacteria in suspensions used for calculating the opsonic index and for vaccines.
- McMeekin, T. A., and Thomas, C. J. (1978). Retention of bacteria on chicken skin after immersion in bacterial suspensions. *Journal of Applied Bacteriology*, 45(3), 383-387.
- Mead, G. C., Hudson, W. R., and Hinton, M. H. (2005). Microbiological survey of five poultry processing plants in the UK. *British Poultry Science*, 34(3), 497-503.
- MINSA. Boletín Epidemiológico del Perú Semana Epidemiológica (del 07 al 13 de octubre de 2018) Volumen 27 - SE 41. 2018
- Miles, C. A. & Mackey, B. M. (1994). A mathematical analysis of microbial inactivation at linearly rising temperatures: calculation of the temperature rise needed to kill *Listeria monocytogenes* in different foods and methods for dynamic measurements of D and z values. *J. Appl. Bacteriol.*, 77, 14-20.
- Montville, T.J., Matthews, K.R., Kniel, K.E., (2012). *Food Microbiology* 3rd edn, ASM Press, Washington.
- Muñoz Lescano, K.C. (2017). Efecto de un recubrimiento comestible a base de goma de tara (*caesalpinia spinosa*) sobre las características fisicoquímicas y microbiológicas en trozos de pechuga de pollo almacenadas en refrigeración. Tesis de pregrado. Universidad César Vallejo. Trujillo. Perú.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2003. Approved standard: M7-A6. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 6th ed. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa.
- Noskowa, G.L. 1972. *Microbiología de las carnes conservadas por el frío*. Editorial Acribia, Zaragoza, España.
- O'Driscoll, B., Cormac, G., Gahan, M., & Hill, C., (1996). Adaptive Acid Tolerance Response in *Listeria monocytogenes*: Isolation of an Acid-Tolerant Mutant Which Demonstrates Increased Virulence. *Applied And Environmental Microbiology*, Vol. 62, No. 5, 1693-1698
- Olson, F.C.W., y Jackson, J.M. (1942). "Heating curves: theory and practical applications". *Ind. Eng.Chem.* 34(3), 337- 341.
- Ordoñez, J.A., García de Fernando, G.D., (2014). *Tecnología de los alimentos de origen animal. Fundamentos de química y microbiología de alimentos. Vol1. Síntesis. Madrid.*
- Peleg, M. 2000. Microbial survival curves - the reality of flat "shoulders" and absolute thermal death times. *Faad Research International*. 33(7): 531- 538.

- Pellón, J., Sanz, B., Gómez, R. 1981. Daño térmico y viabilidad celular en bacterias. *Revista Agroquímica de tecnología alimentaria*, 21(2), 211-225.
- Penna, A.L.B.; Gurram, S.; Barbosa-Cánovas, G.V. 2007. High hydrostatic pressure processing on microstructure of probiotic low-fat yogurt. *Food Research International*, 40 (4): 510-519.
- Pérez Chabela, M.L., Totosaus A, Hernández Alcántara, A.M. determinación del tiempo de reducción decimal "D" de bacterias ácido lácticas probióticas. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*. Vol. 1, No. 2 (2016) 129-133.
- Pesciaroli M., Chardon J.E., Delfgou E.H.M., Kuijpers A.F.A., Wijnands L.M., Evers E.G. Home style frying of steak and meat products: Survival of *Escherichia coli* related to dynamic temperature profiles. 2019. *International Journal of Food Microbiology*, <https://doi.org/10.1016/Micro.2019.03.020>.
- Prescott, L.M., Harley J.P., & Klein, D.A. (2000). *Microbiología* (Aparicio, J.L., Aguirre, J., Fernández, O., & Bleiberg, E). Madrid, España, McGraw-Hill. (Libro original publicado en 1999).
- Rees J, Bettison J. *Processing and packaging of Heat Preserved food*. CMB Packaging technology, Wastage, Berks Blackie, Glasgow and London. 1991.
- Rhim, J. W., Nunes, R. V., Jones, V. A. & Swartzel, K. R. (1989). Determination of kinetic parameters using linearly increasing temperatures. *J. Food Sci.*, 54, 446-450.
- Roccatò Anna, Uyttendaele Mieke, Cibin Veronica, Barrucc Federica, Cappa Veronica, Zavagnin Paola, Longo Alessandra,, Antonia Ricci. *International Journal of Food Microbiology*. Volume 197, 16 March 2015, Pages 1-8.
- Rogers, A. R. (1963). An accelerated storage test with programmed temperature rise. *J. Pharm. Pharmacol.*, 15, IOIT-105T.
- Ross, T., and T. A. McMeekin. 1994. Predictive microbiology. *Int. J. Food Microbiol.* 23:241-264
- Ryu, S. H., Lee, J. H., Park, S. H., Song, M. O., Park, S. H., Jung, H. W, Park, G. Y., Choi, S. M., Kim, M. S., Chae, Y. Z., Park, S. G., and Lee, Y. K. (2012). Antimicrobial resistance profiles among *Escherichia coli* strains isolated from commercial and cooked foods. *International Journal of Food Microbiology*. 159 (2): 263-266.
- San Martín-González, M.F.; Rodríguez, J.J.; Gurram, S.; Clark, S.; Swanson, B.G.; Barbosa-Cánovas, G.V. 2007. Yield, composition and rheological characteristics of cheddar cheese made with highpressure processed milk. *LWT – Food Science and Technology*, 40(4): 697-705.

- Shah, D., Bradshaw, J., Peeler, J. 1991. Thermal resistance of egg-associated epidemic strains of *Salmonella enteritidis*. *Journal of Food Science*, 56: 391-393
- Silva, J. A. *Microrganismos patogênicos em carne de frangos*. *Higiene Alimentar*, São Paulo, v.12, n.58, p.9-14, 1998.
- Simonsen, B., (1975). Microbiological aspects of poultry meat quality. *Quality Poultry Meat, Proc. Eur. Symp. Poultry Meat Quality.*, 2nd, Oosterbeek, Neth, 2, 1-10.
- Stringer, S.C., George, S.M., Peck, M.W., 2000. Thermal inactivation of *Escherichia coli* O157:H7. *Symp. Ser. Soc. Appl. Microbiol.* 79S-89S.
- Stumbo CR (1973) *Thermobacteriology in food processing*. Academic Press, New York
- Sun, D. wen. (2012). *Handbook of Food Safety Engineering* (Pág. 1 – 855). Wiley Blackwell Online Library.
- Thomas, C.J., McMeekin, T.A. and Patterson, J.T., (1987). Prevention of microbial contamination in the poultry processing plant, in *Elimination of Pathogenic Organisms from Meat and Poultry*. F.J.M. Smulders, Elsevier Science Publishers, Amsterdam, The Netherlands, 163-179.
- Tiwari, B.K.; O'Donnell, C.P.; Cullen, P.J. 2009. Effect of nonthermal processing technologies on the anthocyanin content of fruit juices. *Trends in Food Science and Technology*, 20(3-4): 137-145.
- USDA (2007) *Quick guide on processing jerky and Compliance guideline for meat and poultry jerky produced by small and very small plants*. Update compliance guideline Departamento de Agricultura de los Estados Unidos
- USDA, 2007. *Contenido en agua de carnes y aves*. Servicio de Inocuidad e Inspección de los Alimentos, Departamento de Agricultura de los Estados Unidos.
- Van-Derlinden, E. and Van-Impe, J. F. (20,2). Modeling microbial kinetics as a function of temperature: Evaluation of dynamic experiments to identify the growth/inactivation interface. *Journal of Food Engineering*. 108 (2): 201-210.
- Vásquez-Aguilar M. *Fundamentos de la determinación de parámetros cinéticos para microorganismos de interés en tratamiento térmico de alimentos*. *Temas selectos de ingeniería de alimentos 1*. Universidad de las Américas Puebla, México. 2007; pp.1-14
- Vásquez Chicoma Roosevelt. 2015. *Influence of heat treatment on the nutritive value and microbiological characteristics in meat preparations*. Pregrado. Universidad Nacional de Trujillo del Perú.
- Vila-Sosa, Raúl, Aguilar-Alonso, Patricia, Cigarroa-Zárata, Juan Carlos, Gastélum-Reynoso, Gabriela, Vera-López, Obdulia, Navarro-Cruz, Addí Rhode (2013). *Evaluación de la supervivencia de Escherichia*

coli, Staphylococcus aureus y Bacillus cereus en una sopa utilizando la distribución de Weibull. CienciaUAT, 7 (2), 49-55. [Fecha de Consulta 23 de Marzo de 2021]. ISSN: 2007-7521.

Von Holy Franz, A., Thermotolerance of meat spoilage lactic acid bacteria and their inactivation in vacuum-packaged vienna sausages, International Journal of Food Microbiology, Volume 29, Issue 1, 1996, Pages 59-73, ISSN 0168-1605.

Walker S.J., Betts G., 2008. Chilled Foods microbiology. In: Chilled Foods: A Comprehensive Guide. 3 rd edn., Brown M.H. (Ed.). Boca Raton, FL: CRC Press. pp. 445-476.

Wan, J.; Coventry, J.; Swiergon, P.; Sanguansri, P.; Versteeg, C. 2009. Advances in innovative processing technologies for microbial inactivation and enhancement of food safety – pulsed electric field and low-temperature plasma. Trends in Food Science and Technology, 20(9): 414-424.

Whiting, R. C. 1995. Microbial modeling in foods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition . 35(6): 467-494.

Wolosiak R, Druzynska B, Piecyk M, Worobiej E, Majewska E, Lewicki PP. Influence of industrial sterilisation, freezing and steam cooking on antioxidant properties of green peas and string beans. Int J Food Sci Technol. 2011; 46(1): 93-100.

Xingning Xiao, Wen Wang, Xibin Zhang. Modeling the Reduction of Salmonella spp. on Chicken Breasts and Wingettes during Scalding for QMRA of the Poultry Supply Chain in China. Microorganisms 2019, 7, 165.

Zambrano F. Hatzumi, Juan Lucas L., Vilca L. Miguel, Ramos D. Daphne. Determinación de salmonella spp en centros de beneficio clandestino de pollos de engorde en lima, Perú. Rev Inv Vet Perú 2013; 24(3): 337-345

Zambrano, M. M. & R. Kolter. 1996. GASPing for life in stationary phase.

Cell 86:181-184.



ANEXOS

AD

MATRÍZ DE CONSISTENCIA

Título: MODELAMIENTO DE CURVAS DE SUPERVIVENCIA NO LINEAL PARA DETERMINAR LA INACTIVACIÓN TÉRMICA DE *Salmonella ssp.*, *Escherichia coli* Y BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS EN LA CARNE MOLIDA DE POLLO.

Autor: Edgar Zárate Sarapura Lugar de ejecución: Laboratorio Ciencias Naturales 2020 - 2021

| PROBLEMA | OBJETIVO | HIPOTESIS | VARIABLES | DIMENSIONES | INDICADOR | ESCALA | METODOLOGIA |
|--|--|--|---|---|--|---------------------|---|
| <p>General ¿De qué forma se puede valorar la inactivación térmica de <i>Salmonella ssp.</i>, <i>Escherichia coli</i> y Bacterias ácido lácticas en la carne molida de pollo?</p> | <p>Objetivo General Modelar curvas de supervivencia no lineal de <i>Salmonella ssp.</i>, <i>E.coli</i> y Bacterias ácido lácticas (BAL) para determinar su inactivación térmica en la carne molida de pollo</p> | <p>Hipótesis general El Modelamiento de las curvas de supervivencia no lineal permitiría determinar el tiempo requerido para la Inactivación térmica de <i>Salmonella ssp.</i> <i>E. coli</i> y BAL en la carne molida de pollo.</p> | <p>Variable Dependiente Inactivación térmica bacteriana en la carne molida de pollo</p> | <p>Dependientes Disminución del crecimiento bacteriano en función del tiempo</p> | <p>Dependientes Número de días Temperatura</p> | <p>Cuantitativa</p> | <p>Microfit 4.1 Combase</p> |
| <p>Problemas específicos ¿De qué forma se puede establecer las características de la supervivencia de <i>Salmonella ssp.</i>, <i>Escherichia coli</i> y Bacterias ácido lácticas en la carne molida de pollo?</p> <p>¿Cuál es la barrera térmica que se requiere para inactivar a <i>Salmonella ssp.</i>, <i>Escherichia coli</i> y Bacterias ácido lácticas en la carne molida de pollo?</p> | <p>Objetivos específicos Determinar parámetros cinéticos de supervivencia de <i>Salmonella ssp.</i>, <i>E. coli</i> BAL en la carne molida de pollo a temperaturas de 55 °C, 60 °C y 65 °C, mediante modelo Gompertz</p> <p>Modelar curvas de supervivencia no lineal de <i>Salmonella ssp.</i>, <i>E. coli</i> y BAL en carne molida de pollo para determinar la inactivación térmica a 55 °C, 60 °C y 65 °C, utilizando modelo de Bigelow</p> <p>Establecer tiempo de reducción decimal (Factor D) óptimo para inactivar <i>Salmonella ssp.</i>, <i>E. coli</i> y BAL en la carne molida de pollo, sometidas a 55 °C, 60 °C y 65 °C..</p> | <p>Hipótesis específicas El impacto de temperaturas mayores que el óptimo, de <i>Salmonella ssp.</i>, <i>E. coli</i> y BAL en la carne molida de pollo, modifican sus parámetros de mortalidad generando sobrevivientes, que alteran la inocuidad del alimento.</p> <p>La supervivencia no lineal de <i>Salmonella ssp.</i>, <i>E. coli</i> y BAL en carne molida de pollo, sometidas a temperaturas por encima de sus óptimos, pueden ser caracterizadas mediante modelamiento matemático.</p> <p>Los mecanismos de la resistencia y su inactivación, a temperaturas mayores que sus óptimos, de <i>Salmonella ssp.</i>, <i>E. coli</i> y BAL en la carne molida de pollo, se podrán establecer por modelamiento matemático.</p> | <p>Variable independiente Modelamiento de curvas de supervivencia no lineal y resistencia térmica a 55, 60 y 65 °C</p> | <p>Independientes Sobrevivencia, adaptación y resistencia térmica</p> | <p>Independientes UFC/gr mg/L ppm Nisina</p> <p>UFC/gr % Ácido Láctico ppm Nisina</p> <p>Log UFC/Hora</p> <p>Horas Log UFC/Hora</p> | <p>Cuantitativa</p> | <p>Uso del modelo de Gompertz modificado</p> <p>Modelo de Bigelow Combase</p> |