

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

**Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la
Producción**

*“Desarrollo de un Método para Desinfección de Canales de
Avestruz, Utilizando Ácidos Orgánicos”*

TESIS DE GRADO

Previo a la obtención del Título de:

INGENIERÍA DE ALIMENTOS

Presentada por:

Karina Marisabel Marín Morocho

GUAYAQUIL - ECUADOR

AÑO: 2011

AGRADECIMIENTO

A la Coordinación de INGENIERÍA EN ALIMENTOS- ESPOL por haberme permitido realizar este trabajo de tesis bajo la dirección de la Ing. María Fernanda Rosales y la asesoría técnica del Dr. Piercosimo Tripaldi, y de manera especial a la GRANJA HILLARY OSTRICH FARM-CAMALTECSA que puso a disposición las instalaciones y personal operativo para el desarrollo de este trabajo.

DEDICATORIA

PILAR FUNDAMENTAL EN
MI VIDA: Sra. Jovita
Mendoza

MIS PADRES: Silvio y
Patricia por su esfuerzo y
todo el apoyo incondicional
brindado durante toda mi
carrera profesional

HERMANOS: Miller y
Mónica

FAMILIARES AMIGOS DE
GUAYAQUIL Y ARENILLAS
MAESTROS Y MAESTRAS
ESPOL-IAL

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

Ing. Gustavo Guerrero M.
DECANO DE LA FIMCP
PRESIDENTE

Ing. María Fernanda Rosales M.
DIRECTORA DE TESIS

Ing. Grace Vásquez V.
VOCAL

DECLARACIÓN EXPRESA

“La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, me corresponde exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL”.

(Reglamento de Graduación de la ESPOL).

Karina Marisabel Marín Morocho

RESUMEN

Struthio Camelus, es el nombre científico destinada al Avestruz, es un animal de origen africano, se caracteriza por ser de clima cálido, la industrialización de la carne constituye una de las principales innovaciones en la empresa donde se desarrollo el tema, la misma que cuenta con criadero, camal y plata industrializadora para ofrecer productos no convencionales de gran aporte nutricional y beneficiosos para la salud.

Las canales de avestruz son altamente susceptibles al deterioro por microorganismos, esto ocurre por la abundancia de nutrientes y el contenido de agua que sirven de nutriente a las bacterias.

Estudios científicos han determinado que los ácidos orgánicos son ampliamente usados para el tratamiento de desinfección de canales en concentraciones 2,5% aprobada por la USDA (2003), debido a la que los ácidos orgánicos son considerados como agentes antimicrobianos capaces de inhibir el crecimiento y destruir microorganismos según la Food Internacional United Kingdom (2009).

De acuerdo a estas investigaciones, se realizó un diseño experimental de mezclas puras, binarias y ternarias para determinar la eficacia de los ácidos orgánicos como son: Ácido Cítrico, Ácido Málico y Ácido Láctico al 2,5 % de concentración que optimicen el control de la carga microbiana de E. Coli, Coliformes Totales y S.aureus.

Considerando la proyección de la industrialización de la Carne de Avestruz a nivel de mercados internacionales, se consideró como complemento a la investigación, el establecimiento de Riesgos: basados en la vulnerabilidad, inspección, legislación priorización, gestión y evaluación a lo largo del procesamiento de esta especie

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN.....	II
ÍNDICE GENERAL.....	IV
ABREVIATURAS.....	VII
SIMBOLOGÍA.....	VIII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	IX
ÍNDICE DE TABLAS.....	X
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO 1	
1. GENERALIDADES	3
1.1 Historia de la Cría de Avestruces.....	5
1.2 Proceso de Incubación de los huevos de Avestruz.....	6
1.3 Proceso de Crianza y Alimentación del Avestruz.....	7
1.4 Etapas Durante del Sacrificio y Condiciones Óptimas para Faenamamiento.....	9
1.5 Aspectos a Considerar en el Diseño del Camal.....	14

1.6 Carne de Avestruz: Características nutricionales y microbiológicas.....	166
---	-----

CAPÍTULO 2

2. DISEÑO EXPERIMENTAL DE MEZCLAS	21
2.1 Introducción	222
2.2 Polinomios de Scheffé	23
2.3 Tipos de Distribución de los Puntos en el Espacio Simplex.....	25
2.4 Determinación de los Modelos de Superficie de Respuesta.....	33
2.5 Validación de Cuadrados.....	34
2.6 Validación y Selección del Modelo más Estable en Predicción	38

CAPÍTULO 3

3. ÁCIDOS ORGÁNICOS PARA EL CONTROL MICROBIOLÓGICO EN LA CARNE DE AVESTRUZ	42
3.1 Generalidades de los Ácidos Orgánicos	47
3.2 Aplicación de los Ácidos Orgánicos en Canales de Avestruz.....	51
3.3 Microbiología de la Carne de Avestruz post-aplicación	52
3.4 Resultados	50

CAPÍTULO 4

4. GESTIÓN DE RIESGOS EN LA CARNE DE AVESTRUZ	53
4.1 Contaminación Cruzada: Control	54
4.2 Vulnerabilidad de la Carne de Avestruz:Requisitos	58
4.3 Inspección del Producto vs Inspección Basada en el Riesgo	61
4.4 Legislación aplicada a Carnes	63
4.5 Priorización del riesgo.....	64
4.6 Establecimiento de los riesgos.....	65
4.7 Gestión del riesgo	66
4.8 Evaluación del riesgo	66

CAPÍTULO 5

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	699
--	-----

APÉNDICES

BIBLIOGRAFÍA

ABREVIATURAS

Ác.	Ácido
°C	Grados centígrados
cm	Centímetros
E.coli	Escherichia coli
Fe	Hierro
mg	Miligramos
Kcal	Kilocalorías
g	Gramos
m.o	Microorganismos
G.L	Grados de Libertad
kg	Kilogramo
Km/h	Kilómetros por hora
mg/kg	Miligramos por kilogramo
min	Minuto
ml	Mililitro
mm	Milímetro
mV	Milivoltios
Red.	Reducción
s	Segundo
S.aureus	Staphylococcus aureus
USDA	Departamento de Agricultura de los Estados Unidos

SIMBOLOGÍA

F	Fisher
Σ	Sumatoria
L	Láctico
M	Málico
C	Cítrico
+/-	Positivo-Negativo
>	Mayor que
<	Menor que
%	Porcentaje

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1.1	Etapas de Crecimiento del Avestruz.....8
Figura 2.1	Modelo Lineal Red. E.coli.....27
Figura 2.2	Modelo Cuadrático Red. E.coli.....28
Figura 2.3	Modelo Cúbico Red. E.coli.....29
Figura 2.4	Modelo Lineal Red. Coliformes Totales.....29
Figura 2.5	Modelo Cuadrático Coliformes Totales30
Figura 2.6	Modelo Cúbico Coliformes Totales31
Figura 2.7	Modelo Lineal Red. S.aureus.....31
Figura 2.8	Modelo Cuadrático Red. S.aureus.....32
Figura 2.9	Modelo Cúbico Red. S.aureus.....33
Figura 2.10	Modelo Cúbico en el espacio E.coli.....40
Figura 2.11	Modelo Lineal Red. Coliformes Totales.....41
Figura 2.12	Modelo Cúbico en el espacio S.aureus.....41
Figura 3.1	Áreas hisopadas en las canales de avestruz.....49
Figura 3.2	Diagrama Esquemático de Metodología.....51
Figura 4.1	Análisis Estadístico de Establecimiento de Riesgos.....68

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1	Desarrollo embrionario artificial del avestruz.....7
Tabla 2	Parámetros establecidos para el sacrificio de animales..... 11
Tabla 3	Caracterización de Coliformes Totales.....18
Tabla 4	Caracterización de E.coli..... 19
Tabla 5	Caracterización de S.aureus.....20
Tabla 6	Matriz Experimental.....26
Tabla 7	Modelo Lineal para E.coli..... 33
Tabla 8	Modelo Cuadrático para E.coli..... 33
Tabla 9	Modelo Cúbico para E.coli..... 34
Tabla 10	Modelo Lineal para Coliformes Totales..... 34
Tabla 12	Modelo Cuadrático para Coliformes Totales..... 35
Tabla 13	Modelo Cúbico para Coliformes Totales..... 35
Tabla 14	Modelo Lineal para S.aureus.35
Tabla 15	Modelo Cuadrático para S.aureus..... 36
Tabla 16	Criterio para la determinación de modelos.....37
Tabla 17	Modelos de Predicción más Estable.....37
Tabla 18	Comparación de Costos.....41
Tabla 19	Soluciones utilizadas en el Diseño experimental de Mezclas.....46
Tabla 20	Parámetros Establecidos por Normativa Peruana.....63
Tabla 21	Identificación de Riesgos.....64
Tabla 22	Riesgos de Alta Prioridad.....65
Tabla 23	Escala de Prioridad de Riesgos.....67

INTRODUCCIÓN

En años recientes ha aumentado el interés en las técnicas de descontaminación de canales, especialmente en América Latina después de los brotes de intoxicación relacionados con carne cruda y productos agrícolas frescos.

En contribución al desarrollo de la crianza, faenamiento e industrialización del avestruz en el Ecuador a partir del año 2000 en la Provincia de El Oro por las características climáticas y flora que ofrece para el desarrollo de esta ave.

Se evaluaron ácidos orgánicos de grado alimenticio como: ácido láctico, cítrico y málico al 2,5% de concentración en estado puro, binario y ternario, por medio de un diseño experimental de mezclas simplex centroide, determinando modelos matemáticos de predicción estable garantizando así la efectividad del método empleado.

Con el propósito de introducir esta fuente proteica en el mercado nacional y disminuir los riesgos para la salud del consumidor se consideró que la granja "HILLARY OSTRICH FARM" tenga establecido programas de buenas prácticas de faenamiento y desinfección de las canales de avestruz.

Con la siguiente metodología:

- Generalidades
- Diseño experimental de mezclas
- Ácidos orgánicos para el control microbiológico en la carne de avestruz.
- Gestión de riesgos en las carnes de avestruz

CAPÍTULO 1

1. GENERALIDADES

El avestruz se agrupa de acuerdo a la siguiente clasificación taxonómica:

Clase: Aves.

Orden: Estrucioriformes.

Género: Struthio

Especie: Camelus.

Pertenece a la gran familia de las RÁTIDAS, dotadas de un esternón en escudo o disco, sin quilla y por tanto no aptas para el vuelo. La denominación de Rátidas procede literalmente del hueso del pecho, que en vez de tener una forma de una quilla, en las rátidas tiene aspecto de una balsa que en latín es "Rátis". También son llamadas CORREDORAS, ya que como contraposición a la carencia de la aptitud para el vuelo poseen los miembros inferiores muy desarrollados, por lo

que son muy aptas para la carrera: en efecto presentan como característica la gran capacidad de alcanzar, en muy poco tiempo (salida fulminante), con velocidades iguales a las de los mamíferos más veloces.

La altura del macho adulto con cuello erecto alcanza los 2,60-2,80m, el ancho los 2,70-3,00m con las plumas desplegadas y el peso a 14/18 meses de edad los 150-160 Kg; la hembra es ligeramente más pequeña (2).

El macho presenta el plumaje negro, con plumas blancas en el ala y la cola y con el cuello de coloración gris. La hembra es de un color pardo grisáceo apagado, mostrando las plumas primarias del ala y las de la cola una coloración que varía entre el gris claro y el blanco. Los polluelos son multicolores presentando plumaje marrón, amarillento, naranja y crema (9).

El avestruz es incapaz de volar pero puede alcanzar velocidades de 60 – 70 Km/h., lo que dice que una gran proporción de la energía que necesita para correr se reserva por almacenamiento elástico en los tendones (11).

La anatomía del avestruz es un indicador de su forma de andar. Al igual que otras aves, el avestruz es digitígrado (presenta dos dedos) (7).

Las alas del avestruz se han desarrollado débilmente y no poseen músculos pectorales muy desarrollados. Aunque es incapaz de volar hay varias características morfológicas como son la estructura de los huesos, la presencia de sacos de aire se denominan “huesos neummatizados”, sugieren que el avestruz proviene de un ancestro volador (7).

El hábitat preferido del avestruz es el campo abierto, en llanuras con pasto bajo y zonas semidesérticas, aunque también está establecido en zonas calurosas (2).

1.1 Historia de la Cría de Avestruces

El primer intento exitoso de cría de avestruces en cautiverio tuvo lugar en Argelia 1857, aproximadamente a comienzos de 1860 el avestruz fue criado en Sudáfrica por los colonos de la Colonia del Cabo, constituyéndose una de las zonas con mayor explotación a nivel mundial (4).

En el año 2000 la explotación de avestruces inicio en Ecuador en zonas de clima cálido, iniciándose en la provincia de El Oro por las

excelentes condiciones que ofrece para el desarrollo de esta especie (14).

La granja "HILLARY OSTRICH FARM" lugar donde se desarrollo la investigación se encuentra ubicada en el cantón Arenillas Provincia de El Oro, contando con una producción 100 tríos de reproductores y alrededor de 600 animales entre polluelos, animales juveniles y lotes de engorde durante el año 2010 (14).

1.2 Proceso de Incubación de los Huevos de Avestruz

La incubación se ocupa del desarrollo del embrión, desde su formación hasta que ya no es embrión y se convierte en polluelo (7).

La hembra pone un huevo cada dos o tres días, con preferencia en la tarde. La postura no es continua durante toda la estación reproductiva, sino que se detiene por tiempos variables que dependen de la edad, el clima, la alimentación, el estrés, enfermedades y otras causas relacionadas con el manejo (2).

TABLA 1
DESARROLLO EMBRIONARIO ARTIFICIAL DEL AVESTRUZ

ETAPA	DÍAS
Comienzo del desarrollo alantoico (membrana extra-embionaria que sale del tubo digestivo).	7-8
Aparición de la pigmentación del ojo.	7-8
Iniciación de las ranuras entre los dedos, aparición de los orificios nasales.	11-12
Aparición de la membrana nictitante (Tercer párpado en las aves que reacciona ante los estímulos).	13-14
Terminación del círculo papila escleral (capa más externa y resistente del globo ocular).	15-16
Iniciación de los alvéolos de las plumas en la parte dorsal de la cabeza y los muslos.	15-16
Articulación del maxilar sobre la mandíbula.	17-18
Los párpados cubren los 2/3 del globo ocular.	21-22
Aparición de escamas en las patas.	21-22
Eclosión.	42




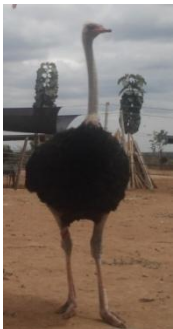
Fuente: Deeming, D. El Avestruz (7)

1.3 Proceso de Crianza y Alimentación del Avestruz

Los huevos son transferidos a la nacedora tan pronto como el pollo ha roto la cámara de aire, sin embargo algunos criadores esperan hasta que se produzca la rotura externa del cascarón; se deja entonces a los pollos acabar de romper la cáscara y salir de ella, proceso para el cuál necesitan aproximadamente 24 h. Aquellos huevos que han sido rotos después de estas 24 h pueden ser

abiertos cuidadosamente por la cámara de aire (extremo superior del mismo) que permite la inspección del pollo (14).

El peso del polluelo en el nacimiento depende del peso inicial del huevo del que nacen, los pollos ganan peso con una velocidad de crecimiento que va aumentando y a los tres meses de edad deben presentar un peso característico entre 35 y 40 kilogramos. El formato adulto es de alrededor de 100 Kilogramos a los 12 meses de edad. (14)

HUEVO	POLLUELO	JUVENIL	ADULTO
			

Fuente: Granja "Hillary Ostrich Farm", 2011(14)

Figura 1.1 ETAPAS DE CRECIMIENTO DEL AVESTRUZ

Alimentación

Históricamente, a la hora de desarrollar estrategias alimenticias para los avestruces, se han extrapolado las recomendaciones nutricionales propias de la avicultura industrial, lo cual frecuentemente ha dado como resultado la aparición de numerosos problemas relacionados con la nutrición en granjas comerciales (14).

La alimentación comprende un gran porcentaje de forraje; verde, o seco de fibra y proteína, estas características de alimentación se atribuyen a la chaya (*Cnidoscolus chayamansa*) que aporta una notable cantidad de vitaminas, sales minerales, oligoelementos y enzimas; y la alfalfa (*Medicago sativa*) por su aporte en hierro, fibra y proteínas fuente de alimentación (14).

1.4 Etapas durante del Sacrificio y Condiciones Óptimas para el Faenamiento.

Los avestruces se sacrifican en Sudáfrica a los 14 meses de edad aproximadamente con el fin de obtener una calidad óptima de cuero y una segunda recogida de plumas.

En otros países, donde la cría del avestruz tiene como principal objetivo la producción de carne (Israel, Australia, EEUU, Europa) las plumas se consideran un subproducto, las aves se sacrifican a los 9 meses ya que posteriormente su eficiencia nutricional disminuye y a edades más tempranas se obtiene un peso de sacrificio de 85-90 Kg. (9)

De acuerdo a las investigaciones y experiencia de los productores de avestruces, es apta para el faenamiento a los 12 meses de edad donde alcanza un peso neto de 120 kilos (14).

Manejo Pre-Sacrificio

Esta etapa es también conocida como la etapa de relajación y acopio donde el animal ingresa 24 horas antes del faenamiento a un corral, provisto de agua para compensar la hidratación de líquidos (14).

Durante el ingreso el técnico veterinario, realiza la inspección considerando los siguientes aspectos:

- Sexo
- Condiciones de Salud, Edad
- Código Interno (Colocado a partir de su nacimiento) (14).

Aturdimiento

El animal ingresa por un túnel directo al camal, donde el operario coloca al avestruz en la posición adecuada empujando y manipulando desde atrás. Un segundo operario “atrapa” el animal por el pico y le baja la cabeza de forma que ésta sea accesible para el aturdimiento (14).

TABLA 2
PARÁMETROS ESTABLECIDOS PARA EL SACRIFICIO DE ANIMALES.

Especie		Voltaje V	Tiempo (s)
Avestruces		90	10-15
AVES	Pollos de 1,5-2 Kg	50-70	5
	Pavos	90	10

Fuente: FAO, Manejo y sacrificio de animales (11)

Desangrado

Para el desangrado debe realizarse una punción adecuada en la región de los grandes vasos, de esta forma, el animal no puede recuperar su conciencia, una buena operación de desangrado comprende de 4 a 6 minutos (13).

La muerte se ocasiona por la rápida pérdida de sangre y por consiguiente la falta de oxígeno en el cerebro.

Conviene que el desangrado sea exhaustivo, ya que la sangre es un excelente medio de cultivo para los microorganismos. (13).

Se considera un lapso mínimo entre el aturdimiento y el desangrado por dos razones:

a. Si se demora el desangrado, el animal puede recuperar el conocimiento, especialmente en el caso del aturdimiento eléctrico. Por ejemplo, las aves aturcidas eléctricamente pueden recuperar el conocimiento en uno a tres minutos. Por lo general, el desangrado de aves debe comenzar a los 15 segundos luego del aturdimiento(11).

b. Si se demora el desangrado, se aumenta la presión sanguínea y la ruptura de vasos, produciéndose hemorragias musculares. Esta sangre adicional en los tejidos contribuye a la rápida descomposición de la carne y a su consiguiente falta de aprovechamiento (11).

Desplumado

Se extraen las plumas manualmente, se realiza un corte paralelo de las alas, para en lo posterior separar la cabeza y proceder a realizar el desollado mediante tres incisiones principales en la piel (14).

Desollado

El desollado es la remoción completa de la piel del animal. La piel es una de las fuentes de contaminación más importante en el proceso de sacrificio, por lo que se debe tener cuidado durante la remoción de la misma, evitando que caigan restos de suciedad sobre la canal (13).

Evisceración

Durante el eviscerado se realiza una incisión en la parte alta de la línea media, en donde los órganos internos se encuentran en contacto con la pared abdominal.

Se evisceran las cavidades torácica y abdominal, donde el veterinario realiza la inspección para calificar al animal apto para el consumo o decomisarlo (14).

División de la Canal y Refrigeración

Mediante acción de la sierra eléctrica se realiza la división de la canal para ser ingresada a la cámara de refrigeración a 0-4°C. El propósito principal de la refrigeración es extender la vida útil del producto alimenticio, mediante la disminución de las reacciones de degradación e inhibición del crecimiento de microorganismos (10).

La temperatura de las canales recién faenadas es cercana a los 40°C; mediante la refrigeración, su temperatura deberá reducirse a un nivel cercano a 7°C, dentro de las primeras 24 h post-mortem (13). Se realiza el desposte que consiste en separar los músculos principales que van a ser empacados al vacío y la carne industrial para la producción de embutidos. (Apéndice A)

1.5 Aspectos a Considerar en el Diseño del Camal

El dimensionamiento del camal se proyectó de acuerdo a la cantidad de animales a faenar y la proyección de comercialización estimada.

Durante el año 2010 se faenaron 144 avestruces con un promedio semanal de 7-10 animales, de acuerdo a este estimado la capacidad instalada de faenamiento del camal es para 42 animales semanales contando con un área de: 227,25 m² de construcción mixta: poliuretano y hormigón (Apéndice B).

Según el Código de Prácticas de Higiene para la Carne (5), establece que las instalaciones para el faenamiento deben estar:

- Ubicados, diseñados y contruidos de manera que se reduzca en la mayor medida posible la contaminación de la carne.
- Diseñados de manera que permitan al personal desempeñar sus funciones en forma higiénica.
- Las instalaciones y el equipo que estén en contacto directo con las partes comestibles del animal y con la carne deberán estar diseñados y contruidos de manera que pueda haber una limpieza y vigilancia de su estado de higiene.
- Deberá disponerse de un equipo adecuado para el control de la temperatura, la humedad y otros factores, según convenga al sistema específico de procesamiento de la carne.

- El agua deberá ser potable, excepto en los casos en que se pueda utilizar agua de diferente calidad sin que ello cause contaminación de la carne (5).

1.6 Carne de Avestruz: Características nutricionales y microbiológicas

Características nutricionales:

Una de las características sorprendentes de la carne de avestruz es su relativamente alta concentración de iones de hidrógeno medida a las 24 h., tras el sangrado del animal del músculo vivo, es de aproximadamente 7.2, pero cuando el animal muere el glucógeno se degrada por glicólisis anaerobia produciendo ácido láctico que provoca una caída del pH, si la glicólisis se produce lentamente se produce un valor final de pH de 5,5 no mayor a 6.6 característico en el avestruz (7).

Se caracteriza por tener un contenido bajo en tejido conjuntivo, con unos valores de colágeno de 0,41%, en comparación con la carne de ternera del 0,6^o%.La solubilidad de colágeno en la carne de avestruz es del 12,96% y en la carne de ternera del 40,14% (8).

Este contenido bajo en colágeno hace que la carne de avestruz sea muy adecuada para el cocinado con calor seco (un periodo relativamente corto de calentamiento a altas temperaturas, la temperatura óptima de asado para la carne de avestruz es de 70-80 ° C por 30 min (9).

El contenido de pigmentos también contribuye al color oscuro, la carne de avestruz presenta un contenido de 104-153 mg Fe g⁻¹ en comparación con los 69 mg Fe g⁻¹ del músculo de ternera (8) la USDA establece la composición nutricional completa para la carne de avestruz (VÉR APENDICE B).

Como existen diferencias significativas de color entre músculos de una misma canal al evaluarlo de forma subjetiva, se recomienda la separación de los músculos del avestruz en grupos de color comparable, no sólo para su comercialización como carne fresca, sino también para reducir la variación en el aspecto visual de los productos procesados (9).

Microbiología de la carne

Para determinar la carga microbiana presente en la carne de avestruz se realizó análisis microbiológicos en los que se estableció a los m.o E.coli, Coliformes Totales y S.aureus como objeto de estudio.

Coliformes Totales

Su presencia indica contaminación fecal, son indicadores de contaminación en el agua porque se encuentran en gran número en el tracto intestinal de humanos y animales (3).

Tabla 3
CARACTERIZACIÓN COLIFORMES TOTALES

Característica	Reacción
Gram	Negativa (-)
Movilidad	No esporulada
Aeróbica	+
Aeróbica facultativa	+
Temperatura óptima de crecimiento	35 °C
pH	4,5

Fuente: Adams, M.; Moss M. Microbiología de los Alimentos (1)

Escherichia coli

Ha sido ampliamente reconocida desde hace décadas, y en los últimos años la industria alimentaria ha centrado la atención en este microorganismo como una causa de morbilidad y mortalidad importante en los brotes de enfermedades transmitidas por alimentos.

TABLA 4
CARACTERIZACIÓN E. COLI

Característica	Reacción
Gram	Negativa(-)
Estructura Celular	No Esporulada
Movilidad	Flagelo
Aeróbica	+
Anaeróbica	+
Temperatura óptima de crecimiento	37
Catalasa	+
Oxidasa	-
pH	4,4

Fuente: Adams, M.; Moss M. Microbiología de los Alimentos (1)

Staphylococcus aureus

Los estafilococos son m.o comunes en los humanos y animales, ocasionalmente causan infecciones serias, son comunes en objetos inanimados como son partículas de polvo y suelo, tiene una amplia gama de determinantes de virulencia, que abarca

componentes de pared celular y una gran variedad de exoproteínas que contribuyen en su habilidad para colonizar y causar enfermedades en aves y mamíferos (15).

Tabla 5
CARACTERIZACIÓN DEL S.aureus.

CARACTERÍSTICAS	REACCIÓN
Gram	+
Estructura Celular	Aislados en paredes tétradas o formando racimos
Movilidad	Inmóviles
Aeróbica	-
Anaeróbica Facultativo	+
Temperatura Óptima de Crecimiento	37
pH	6,0

Fuente: Adams, M.; Moss M. Microbiología de los Alimentos (1)

CAPÍTULO 2

2. DISEÑO EXPERIMENTAL DE MEZCLAS

El diseño experimental consiste en planear y conducir el trabajo para extraer la máxima cantidad de información en un mínimo número de experimentos. La idea básica es cambiar todos los factores relevantes simultáneamente sobre un grupo de experimentos planeados y conectar e interpretar los resultados usando modelos matemáticos (16).

En un diseño de mezclas la suma de todos los componentes es el 100%. Los factores de mezcla son expresados como fracciones de la cantidad total. Los rangos se hallan entre cero y uno, esto significa que no puede ser cambiado total e independientemente uno de otro (8).

Los tipos más comunes de diseños de mezclas son: simplex lattice, simple centroide y el diseño simplex aumentado.

El diseño simplex-lattice consiste en un grupo de ensayos experimentales espaciados uniformemente en un triángulo, este grupo de experimentos se obtiene de la combinación de $m+1$ fracciones de componentes puros que corresponden a los vértices de un triángulo (8).

Si se consideran tres parámetros para el ajuste del modelo, este diseño no es capaz de estimar el error experimental o probar la validez del ajuste. Estas limitaciones pueden ser resueltas usando un Modelo Simplex Lattice Centroide que adiciona un punto central de coordenadas $(1/3, 1/3, 1/3)$ para determinar si el modelo es apropiado (6).

2.1 Introducción

Para la aplicación de ácidos orgánicos: láctico, málico, cítrico en canales de avestruz se utilizó un Modelo Simplex Lattice Centroide. Los ácidos: láctico, málico y cítrico se utilizaron en aplicación individual, binaria y ternaria al 2,5% de concentración la cual se encuentra aprobada por la USDA para el uso de agentes antimicrobianos en el enjuague final de las carcasas antes del enfriamiento (5).

2.2 Polinomios de Scheffé

Los modelos polinomiales usados son desarrollados a partir de la ecuación de Scheffé, la cual modifica algunos términos de la expresión polinomial completa para eliminar los efectos originados por variables correlacionadas (16).

Se utilizó polinomios de primer, segundo y tercer orden representado por:

Scheffé Reducido

$$n = \sum_{i=1}^q \beta_i x_i + \sum_{i<j} \sum_{i<j} \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{i<j<k} \sum_{i<j<k} \beta_{ijk} x_i x_j x_k \quad (Ec.1)$$

Donde el parámetro β_i representa la respuesta esperada para los componentes puros $x_i = 1; x_j = 0; j \neq i$. El término dado por $\sum_{i=1}^q \beta_i x_i$ representa la respuesta cuando las mezclas son estrictamente aditivas y no hay interacciones entre los componentes de la mezcla. El término cuadrático $\beta_{ij} x_i x_j$ representa la respuesta sobre el modelo lineal debido y el modelo cuadrático representa la respuesta sobre el modelo cúbico $\beta_{ijk} x_i x_j x_k$ (6).

Los modelos polinomiales: lineal, cuadrático y cúbico para cada microorganismo objeto de estudio se presentan a continuación:

Para determinar la reducción microbiana en % de E.coli los modelos que se utilizó son:

Modelo Lineal

$$\text{Red.E.Coli}\% = 74,8886L + 82,9658M + 49,1041C \quad (\text{Ec.2})$$

Modelo Cuadrático

$$\begin{aligned} \text{Re .E.Coli}\% = & 92,9666 L + 83,7866 M + 76,1904 C \\ & - 244,1374 LC - 71,537 MC \end{aligned} \quad (\text{Ec.3})$$

Modelo Cúbico

$$\begin{aligned} \text{Red.E.Coli}\% = & 93,2014L + 84,0215M \\ & + 76,4252C + 13,8238LC \\ & - 248,8311LM - 76,233MC + 92,9883LMC \end{aligned} \quad (\text{Ec.4})$$

Para Coliformes Totales los modelos que se utilizó son:

Modelo Lineal

$$\text{Red.Coliformes}\% = 73,6231L + 51,081M + 94,3687C \quad (\text{Ec.5})$$

Modelo Cuadrático

$$\begin{aligned} \text{Red.Coliformes}\% = & 77,8037L + 57,9956M + 97,8527C - 45,158LM \\ & - 10,8534LC - 38,1916MC \end{aligned} \quad (\text{Ec.6})$$

Modelo Cúbico

$$\begin{aligned} \text{Red.Colifo rmes\%} &= 77,3018 L + 57,4937 M + 97,3508 C \\ &- 35,1192 LM - 0,8146 LC - 28,1528 MC - 198,7682 LMC \end{aligned} \quad (\text{Ec.7})$$

Para S.aureus los modelos que se utilizó son:

Modelo Lineal

$$\text{Red.S.aureus \%} = 75,153L + 57,2944M + 54,9056C \quad (\text{Ec.8})$$

Modelo Cuadrático

$$\begin{aligned} \text{Red.S. aureus\%} &= 59,1397L + 71,172M + 52,3643C \\ &+ 0,3727LM + 164,5616LC - 134,6591MC \end{aligned} \quad (\text{Ec.9})$$

Modelo Cúbico

$$\begin{aligned} \text{Red.S.aureus\%} &= 62,2046L + 74,2368M \\ &+ 55,429C - 60,924LC + 103,2649LC \\ &- 195,86MC + 1213,67LMC \end{aligned} \quad (\text{Ec.10})$$

2.3 Tipos de Distribución de los Puntos en el Espacio Simplex

Los diseños simplex se usan para estudiar los defectos de los componentes de una mezcla sobre la variable de respuesta.

Se utilizó el diseño simplex centroide en el cuál los valores de los datos se distribuyen alrededor del centro de la región de superficie de respuesta.

TABLA 6
MATRIZ EXPERIMENTAL

Experimentos	Simplex-Centroide		
	Ac. Láctico X_1	Ac. Cítrico X_2	Ac. Málico X_3
Exp. 1	100%	0	0
Exp. 2	0	100%	0
Exp. 3	0	0	100%
Exp. 4	50%	50%	0
Exp. 5	50%	0	50%
Exp. 6	0	50%	50%
Exp. 7	33,33%	33,33%	33,33%

Elaborado por: Marín. K, 2011

Por medio del programa STATÍSTICA 6.0 se ingresó los datos que corresponde al (Apéndice D) dónde las respuestas experimentales están en función de los componentes de la mezcla.

En las figuras: 2.1; 2.2; 2.3; 2.4; 2.5; 2.6; 2.7; 2,8; 2.9 los tres componentes de las mezcla están distribuidos en los vértices del triángulo definidos por:

$$x_1=1(\mathbf{1,0,0}); x_2=x_3=0,(\mathbf{0,1,0}), x_1=x_3=0, x_2=1;(\mathbf{0,0,1}) \quad x_1=x_2=0, x_3=1$$

Las mezclas binarias están localizadas en los puntos medios de los tres lados del triángulo que corresponden a los puntos $(1/2, 1/2, 0)$ $(1/2, 1/2, 1/2)$. $(0, 1/2, 1/2)$, el punto medio corresponde a la mezcla ternaria de los tres componentes $(1/3; 1/3; 1/3)$.

Modelo Lineal Red.E.coli

Los valores que se observan en la escala del modelo de superficie lineal representan el efecto de reducción en % de E.coli.

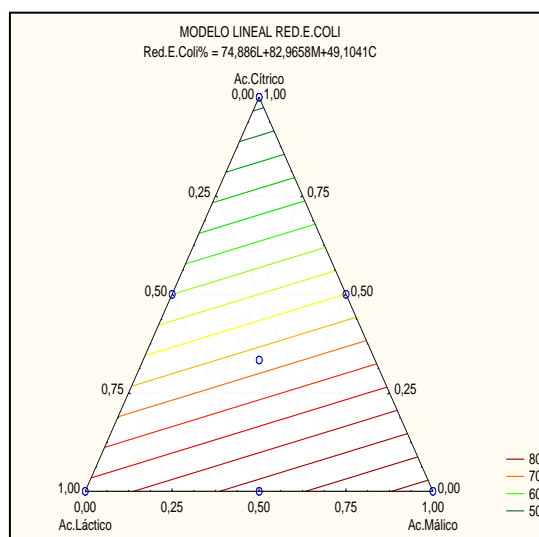


Figura 2.1 MODELO LINEAL RED. E. COLI

Modelo Cuadrático Red.E.coli

Los valores que se observan en la escala del modelo de superficie cuadrático representan el efecto de reducción en % de E.coli.

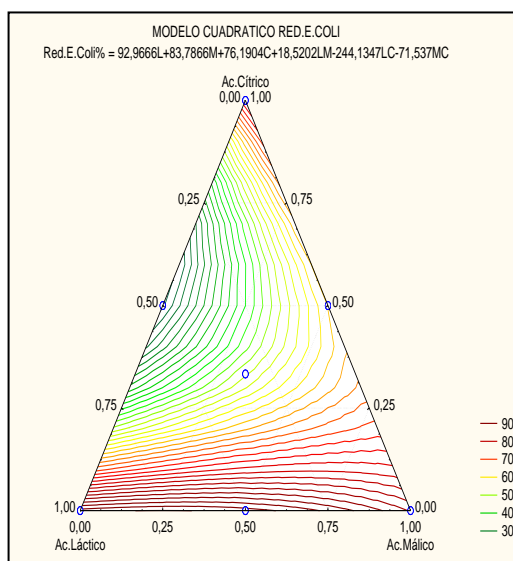


Figura 2.2 MODELO CUADRÁTICO RED. E.COLI

Modelo Cúbico Red. E.coli

Los valores que se observan en la escala del modelo de superficie cúbico representan el efecto de reducción en % de E.coli.

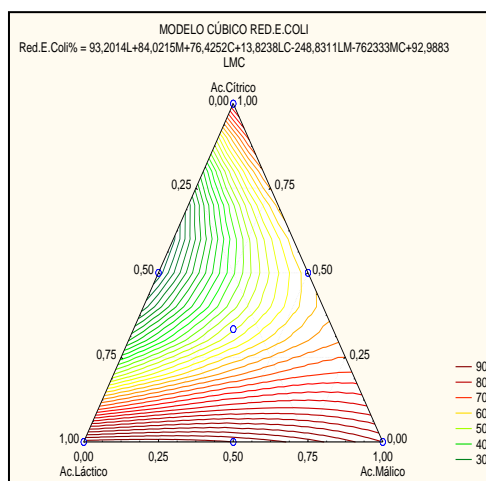


Figura 2.3 MODELO CÚBICO RED. E. COLI

Modelo Lineal Red. Coliformes Totales

Los valores que se observan en la escala del modelo de superficie lineal representan el efecto de reducción en % de Coliformes Totales.

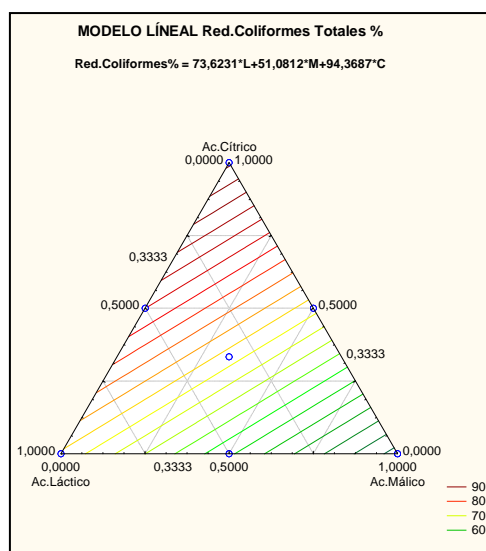


Figura 2.4 MODELO LINEAL RED. COLIFORMES TOTALES.

Modelo Cuadrático Red.Coliformes Totales

Los valores que se observan en la escala del modelo de superficie cuadrático representan el efecto de reducción en % de Coliformes Totales.

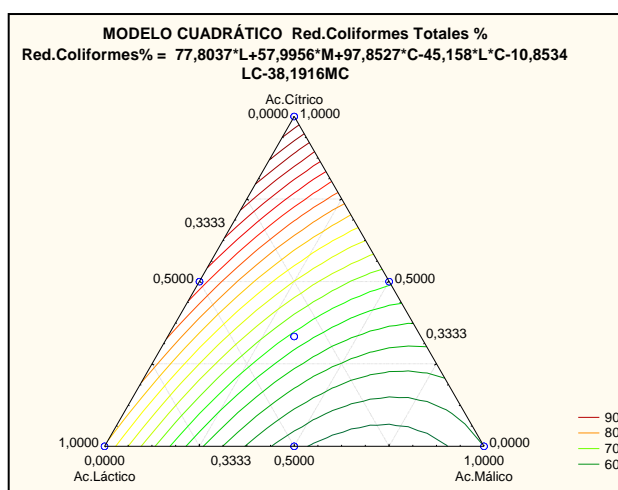


Figura 2.5 MODELO CUADRÁTICO RED. COLIFORMES TOTALES.

Modelo Cúbico Red.Coliformes Totales

Los valores que se observan en la escala del modelo de superficie cuadrático representan el efecto de reducción en % de Coliformes Totales.

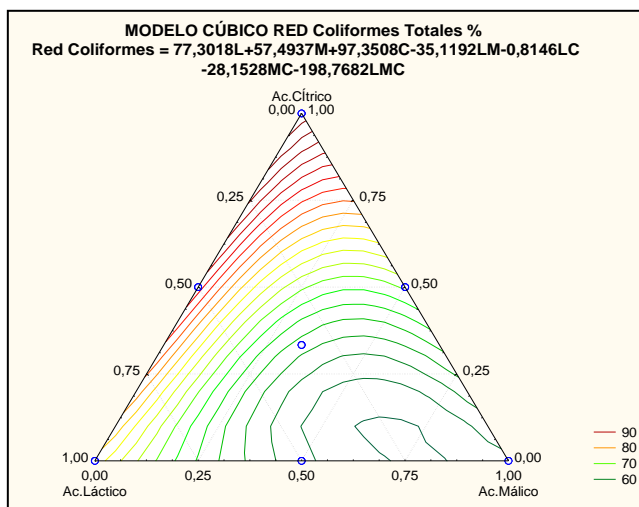


Figura 2.6 MODELO CÚBICO RED. COLIFORMES TOTALES.

Modelo Lineal Red. S.aureus

Los valores que se observan en la escala del modelo de superficie lineal representan el efecto de reducción en % de S.aureus.

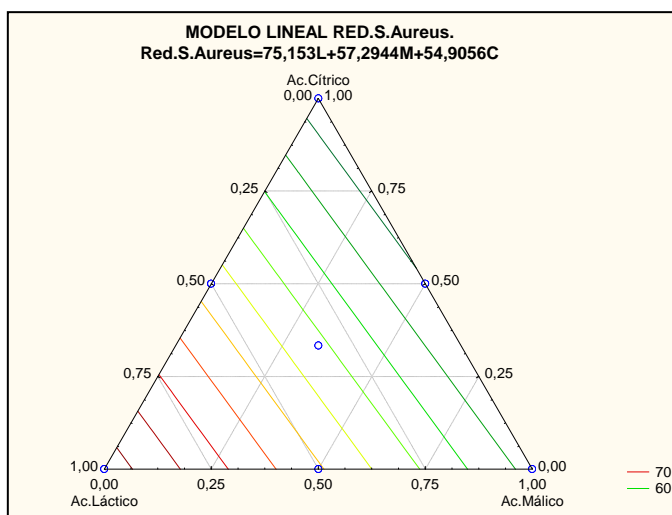


Figura 2.7 MODELO LINEAL RED. S.AUREUS

Modelo Cuadrático Red. S.aureus

Los valores que se observan en la escala del modelo de superficie cuadrático representan el efecto de reducción en % de S.aureus.

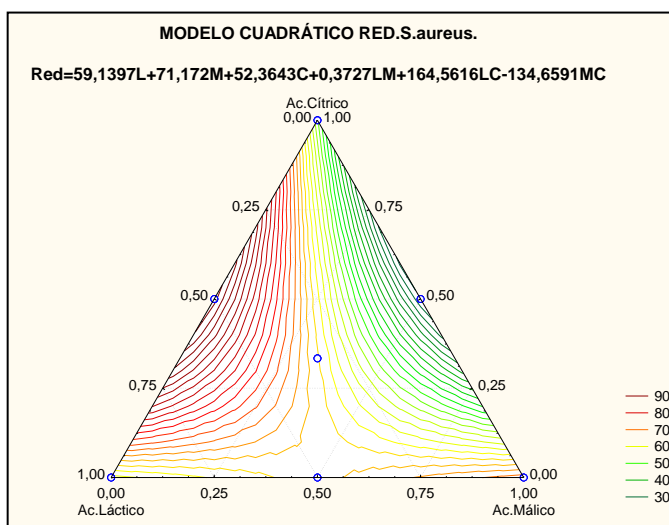


Figura 2.8 MODELO CUADRÁTICO RED. S.AUREUS.

Modelo Cúbico Red. S.aureus

Los valores que se observan en la escala del modelo de superficie cúbico representan el efecto de reducción en % de S.aureus.

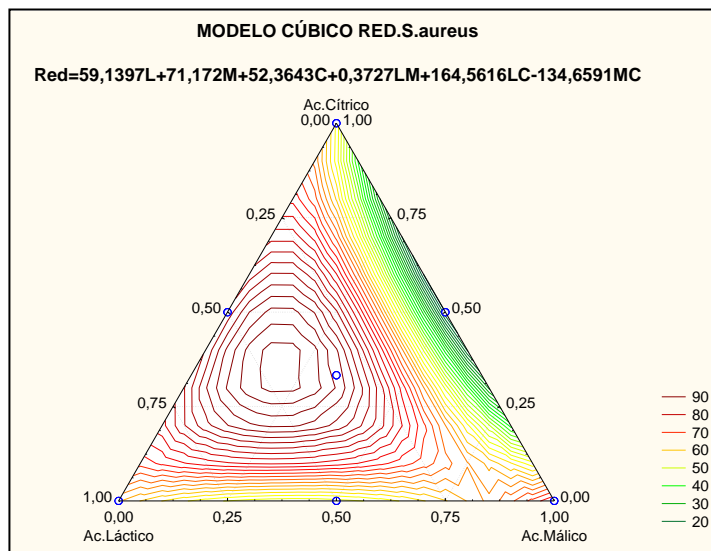


Figura 2.9 MODELO CÚBICO RED. S.AUREUS

2.4 Determinación de los Modelos de Superficie de Respuesta

La metodología de superficies de respuesta es una colección de técnicas matemáticas y estadísticas útiles en el modelado y el análisis de problemas en los que una respuesta de interés recibe la influencia de diversas variables y donde el objetivo es optimizar esta respuesta (16).

La determinación de los modelos de superficie de respuesta consiste en evaluar cuales son los efectos relevantes para la respuesta y también cuales pueden ser razonablemente

considerados como no influyentes para modelar la función de respuesta, mediante la comparación

$F_{\text{isher}} \text{ experimental vs } F_{\text{isher}} \text{ teórico (6)}$.

El error experimental es un valor relevante en la investigación determinando la precisión de las medidas experimentales, estableciendo los intervalos de confianza de los modelos de regresión y de las respuestas calculadas por un modelo de regresión, para el desarrollo de este diseño experimental se utilizó un intervalo de confianza del 95% con 0,05 % de incertidumbre observado en la Tabla T-Student el Fisher teórico (Apéndice D) (16).

2.5 Validación de Cuadrados

Para validar la significatividad total del modelo se analizó la razón entre la variación del modelo mediante un análisis de varianza. Esta proporción se compara con el estadístico de Fisher, con el cual se verificó la existencia de un modelo matemático de predicción (6).

TABLA 7
MODELO LINEAL PARA E.coli

Fuente de Variación	G.L	Suma de Cuadrados	Suma Cuadrados Medios	F
Regresión	3	3127,673771	3127,673771	0,243928239
Residuos	24	12822,10613	13339,73454	
Total	27	15949,7799		

Elaborado por: Marín K, 2011

TABLA 8
MODELO CUADRÁTICO PARA E.coli

Fuente de Variación	G.L	Suma de Cuadrados	Suma Cuadrados Medios	F
Regresión	5	14419,4887	2883,897741	76,47
Residuos	22	829,632399	37,71056359	
Total	27	15249,1211		

Elaborado por: Marín K, 2011.

Tabla 9
MODELO CÚBICO PARA E.COLI

Fuente de Variación	G.L	Suma de Cuadrados	Suma Cuadrados Medios	F
Regresión	6	15421,75418	2570,292363	86,554333
Residuos	21	528,0351754	29,69570985	
Total	27	15949,78935		

Elaborado por: Marín K, 2011.

TABLA 10
MODELO LINEAL PARA COLIFORMES TOTALES

Fuente de Variación	G.L	Suma de Cuadrados	Suma Cuadrados Medios	F
Regresión	3	4687,208052	1562,402684	24,695436
Residuos	24	1518,404614	63,26685892	
Total	27	6205,612666		

Elaborado por: Marín K, 2011.

TABLA 11
MODELO CUADRÁTICO PARA COLIFORMES TOTALES

Fuente de Variación	G.L	Suma de Cuadrados	Suma Cuadrados Medios	F
Regresión	5	5335,223345	1067,044669	2,615069
Residuos	22	8976,810189	408,0368268	
Total	27	14312,03353		

Elaborado por: Marín K, 2011

TABLA 12
MODELO CÚBICO PARA COLIFORMES TOTALES

Fuente de Variación	G.L	Suma de Cuadrados	Suma Cuadrados Medios	F
Regresión	6	6205,622411	1034,270402	16,040477
Residuos	21	1354,054335	64,47877788	
Total	27	7559,676746		

Elaborado por: Marín. K, 2011

TABLA 13
MODELO LINEAL PARA S.AUREUS

Fuente de Variación	G.L	Suma de Cuadrados	Suma Cuadrados Medios	F
Regresión	3	1224,321944	1224,321944	0,08
Residuos	24	14649,08233	14649,08233	
Total	27	15873,40427		

Elaborado por: Marín. K, 2011

TABLA 14
MODELO CUADRÁTICO PARA S.AUREUS

Fuente de Variación	G.L	Suma de Cuadrados	Suma Cuadrados Medios	F
Regresión	5	10263,2671	2052,653421	8,036
Residuos	22	5618,99546	255,4088844	
Total	27	15882,2626		

Elaborado por: Marín. K, 2011

TABLA 15
MODELO CÚBICO PARA S.AUREUS

Fuente de Variación	G.L	Suma de Cuadrados	Suma Cuadrados Medios	F
Regresión	6	14038768,9	2339794,82	5549,756
Residuos	21	8853,37698	421,58938	
Total	27	14047622,3		

Elaborado por: Marín. K, 2011

2.6 Validación y Selección del Modelo más Estable en Predicción

En función a los resultados presentados en las tablas 7-15 se calcularon modelos de 3ro, 2do, y 1er orden para expresar la importancia de la aplicación de los ácidos orgánicos en soluciones individuales, binarias y ternarias en la inhibición del crecimiento de los microorganismos evaluados.

En la Tabla 16 y 17 se presentan los modelos matemáticos de predicción estable donde se evalúa a $F_{\text{experimental}} > F_{\text{teórico}}$ para determinar la existencia de un modelo matemático de predicción estable.

TABLA 16
CRITERIO PARA LA DETERMINACIÓN DE MODELOS

m.o	Modelo	F-calculado	F. teórico	Criterio
E.coli	Lineal	0,24	3,35 _(0.05,2/27)	No
	Cuadrático	76,47	2,66 _(0.05,5/22)	Si
	Cúbico	86,55	2,57 _(0.05,6/21)	Si
Coliformes Totales	Lineal	25	3,35 _(0.05,2/27)	Si
	Cuadrático	2,61	2,66 _(0.05,5/22)	No
	Cúbico	16,04	2,57 _(0.05,6/21)	Si
S.aureus	Lineal	0,083	3,35 _(0.05,2/27)	No
	Cuadrático	8,03	2,66 _(0.05,5/22)	Si
	Cúbico	5549,75	2,57 _(0.05,6/21)	Si

Elaborado por: Marín. K, 2011

TABLA 17
MODELOS DE PREDICCIÓN MÁS ESTABLES

E.coli	F calculado 2do Orden	F calculado 3ro Orden	F 2do Orden teórico	F 3ro Orden teórico
	76,47	86,55	2,66 _(0.05,5/22)	2,57 _(0.05,6/21)
Coliformes Totales	F calculado 1ero Orden	F calculado Tercer Orden	F1ero Orden F teórico	F1ero Orden F teórico
	24,69	16,04	3,35 _(0.05,2/27)	2,57 _(0.05,6/21)

S.aureus	F calculado 2do Orden	F calculado Tercer Orden	F2do Orden F teórico	F3ero Orden F teórico
	8,03	5549,75	2,66 (0.05,5/22)	2,57 (0.05,6/21)

Elaborado por: Marín. K, 2011

Para la visualización de la respuesta se realizó los modelos de mejor ajuste en el espacio para la Red.E.coli%, Red.Coliformes Totales%, Red. S.aureus%, donde la escala del lado derecho indica el porcentaje de reducción para cada microorganismo.

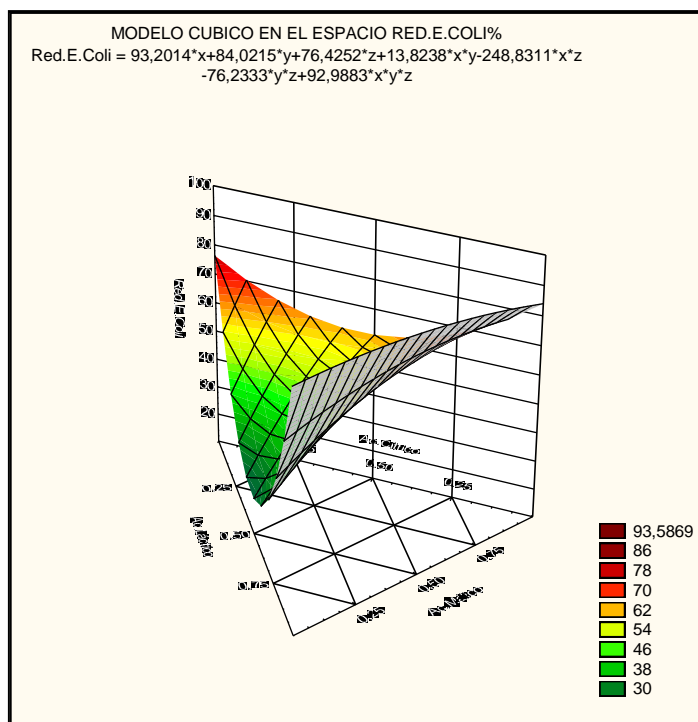


Figura 2.10 MODELO CÚBICO EN EL ESPACIO E.COLI

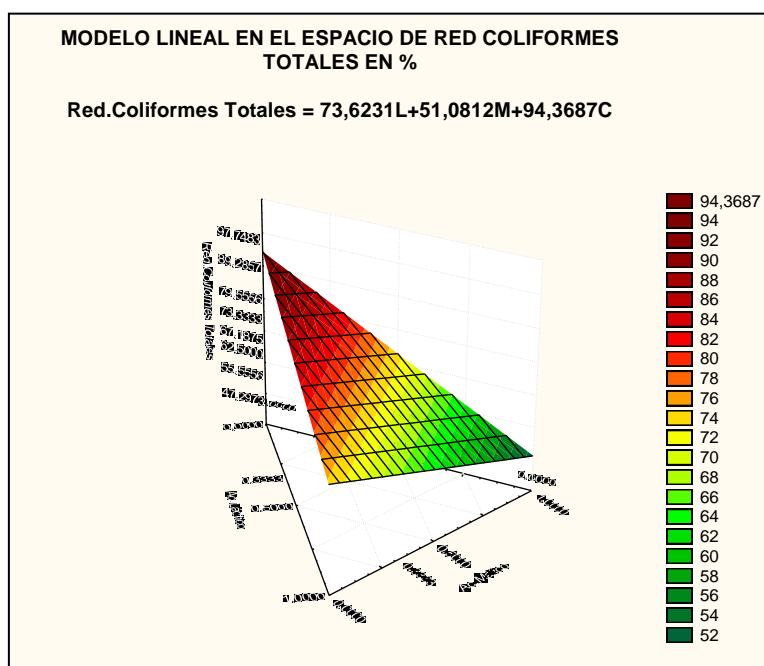


Figura 2.11 MODELO LINEAL RED. COLIFORMES TOTALES

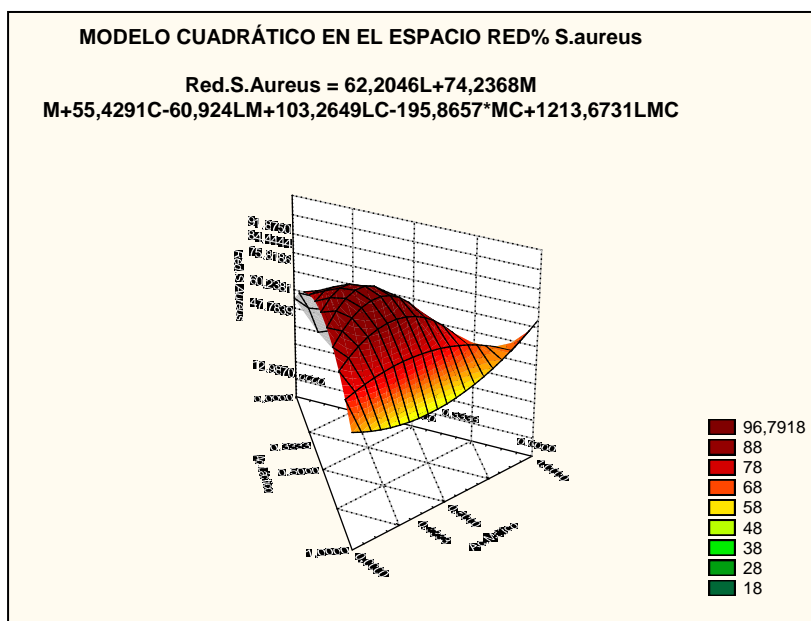


Figura 2.12 MODELO CÚBICO EN EL ESPACIO S.AUREUS

CAPÍTULO 3

3. ÁCIDOS ORGÁNICOS PARA EL CONTROL MICROBIOLÓGICO EN LA CARNE DE AVESTRUZ

Los ácidos cítrico, acético, láctico, tartárico y otros ácidos orgánicos, solos o en combinación, o con otros agentes como cloro y algunos surfactantes se consideran agentes descontaminantes según la Food International United Kingdom (2009) (20).

3.1 Generalidades de los Ácidos Orgánicos.

En años recientes ha aumentado el interés en las técnicas de descontaminación de canales, especialmente en América Latina después de los brotes de intoxicación relacionados con carne cruda y productos agrícolas frescos (23).

En contribución al origen de enfermedades de transmisión alimentaria, se evaluaron ácidos orgánicos como: ácido láctico, cítrico y málico en estado puro, binario y ternario, debido a que el uso de ácidos orgánicos como preservantes en alimentación animal y humana es muy antiguo.

- Los ácidos orgánicos se encuentran naturalmente en varios alimentos como es el caso de ácido láctico que se encuentra naturalmente en la carne, el ácido cítrico en las frutas ácidas y el ácido málico en la manzana.

- Fácil adquisición y de acuerdo al costo/beneficio que representan frente a enfermedades de transmisión alimentaria, en la siguiente tabla 18 se describe el costo de aplicación por canal.

TABLA 18
COMPARACIÓN DE COSTOS

Solución (Ácido+ H₂O)	Costo por Canal
Ácido Láctico (25g/1000ml)	\$0,14
Ácido Cítrico (25g/1000ml)	\$0,06
Ácido Málico (25g/1000ml)	\$0,12

Ácido Láctico+ Cítrico (12,5g+12,5g/1000ml)	\$0,10
Ácido Málico+ Cítrico (12,5g+12,5g/1000 ml)	\$0,09
Ácido Láctico+ Málico (12,5g+12,5g/1000 ml)	\$0,12
Ácido Láctico+Málico+Cítrico (8,33g+8,33g, 8,33g/1000ml)	\$0,11

Elaborado por: Marín. K, 2011

- Pueden causar cambio de color de la superficie de la carne y sabores discordantes, en el caso del ácido láctico existe un ligero cambio de coloración de color que para este estudio no se afectó debido al color intenso rojo brillante que presenta la carne de avestruz por la concentración de 140 mg de Fe g^{-1} que posee (3)
- Su uso puede causar que surjan patógenos resistentes a ácidos y reducción de competencia de microorganismos acidófilos en la carne descontaminada, de acuerdo al pH la sobrevivencia de los m.o es mínima de acuerdo a las características de los m.o estudiados frente al pH de la solución aplicada en el diseño experimental de mezclas.

TABLA 18
pH SOLUCIONES UTILIZADAS EN EL DISEÑO
EXPERIMENTAL DE MEZCLAS

Solución 2,5%	pH
Ác. Láctico	2,1
Ác. Málico	1,92
Ác. Cítrico	1,96
Ácido Láctico + Cítrico	1,90
Ácido Láctico+ Málico	2,01
Ácido Cítrico+ Málico	1,89
Ácido Málico +Cítrico+ Láctico	1,98

Elaborado por: K, Marín 2011

Ácido Láctico

Es un compuesto muy versátil utilizado en la industria alimenticia, química, farmacéutica, del plástico, textil, la agricultura, alimentación animal entre otros (Chan Blanco et al 2003).

Según investigaciones publicadas en el Mundo Lácteo y Cárnico. 2005), la aplicación de ácido láctico al 2% en un atomizador podría reducir de 1-3 log (90-99%) la contaminación por Salmonella, E.coli 0157:H7 y Listeria Motocytogenes así como también S.aures.

Características Químicas y Fisicoquímicas (Apéndice C).

Acido Málico

Se forma en los ciclos metabólicos en las células de plantas y animales, incluyendo seres humanos. El compuesto provee a las células con los esqueletos de energía y carbono para la formación de aminoácidos.

Ingrediente activo del Inbac producto con acción bacteriostática de uso universal en alimentos elaborados, que actúa sobre la membrana citoplasmática de m.o, desorganizando su estructura y alterando su funcionalidad (24).

Características Químicas y Fisicoquímicas. (Ver Apéndice G).

Acido Cítrico

Según investigaciones de la (USDA 1996) la aplicación de ácido cítrico en concentraciones del 2,5% existe una reducción de 1-3 log en bacterias de carácter patógeno como E. coli en una población muestral de 300 carcasas de res hisopadas.

Características Químicas y Fisicoquímicas (Apéndice H).

3.2 Aplicación de los Ácidos Orgánicos en Canales de Avestruz

Antes del faenamiento, las superficies externas de los animales están cargados de polvo, suciedad y heces. Es inevitable que algunos de los microorganismos de estas fuentes se encuentren en las canales de animales sacrificados, y aunque la mayoría son no patógenos, los patógenos pueden estar presentes.

Uno de los esfuerzos por reducir el número de tipos de agentes patógenos en las canales ha proyectado estudios de investigación en los cuáles han surgido una serie de métodos físicos como el proceso de ablación de la piel o uso de corrientes de agua a temperaturas y presión alta método que no serían eficaz en el campo de investigación debido a que la piel está destinada para la confección textil.

Para el desarrollo de la presente tesis se utilizó ácidos orgánicos de grado alimenticio como el cítrico, láctico, málico en concentraciones de 2,5% por separado y en combinación determinando que son una excelente opción para la desinfección de canales.

La comercialización de carne de avestruz en el Ecuador apunta a mercados internacionales exigentes, con altos estándares de calidad, por este motivo se realizó la aplicación de ácidos orgánicos de grado alimenticio que reducen la carga microbiana inicial sin alterar las propiedades organolépticas de la carne.

Las limitaciones de espacio, mano de obra y recursos económicos a menudo dificultan la implementación de ciertas técnicas antimicrobianas en establecimientos muy pequeños.

Representa un reto hacer a un lado técnicas utilizadas a través de los años para comenzar a hacer las cosas de una manera totalmente nueva. Siendo la inocuidad de los alimentos responsabilidad de todos, el procesador de carnes debe estar dispuesto a considerar mejoras a la inocuidad durante la matanza. En particular el lavado de canales se puede convertir en un proceso más preciso y con base científica (20).

El camal donde se realizó el estudio se faena de 7 a 10 animales por semana, en base a este promedio de animales en faenamiento se planificó el diseño experimental realizando 2 experimentos por semana.

La aplicación de ácidos orgánicos se realizó de manera aleatoria, realizando un hisopado en las costillas, pecho, y muslo antes de la aplicación de los ácidos orgánicos y post-aplicación de los mismos.

Se hisopo la zona abdominal y torácica con una superficie de 200 cm², la aspersion de los ácidos orgánicos se realizó con atomizadores manuales con un tiempo de aplicación de 5min y apropiadamente 1lt de solución por canal.

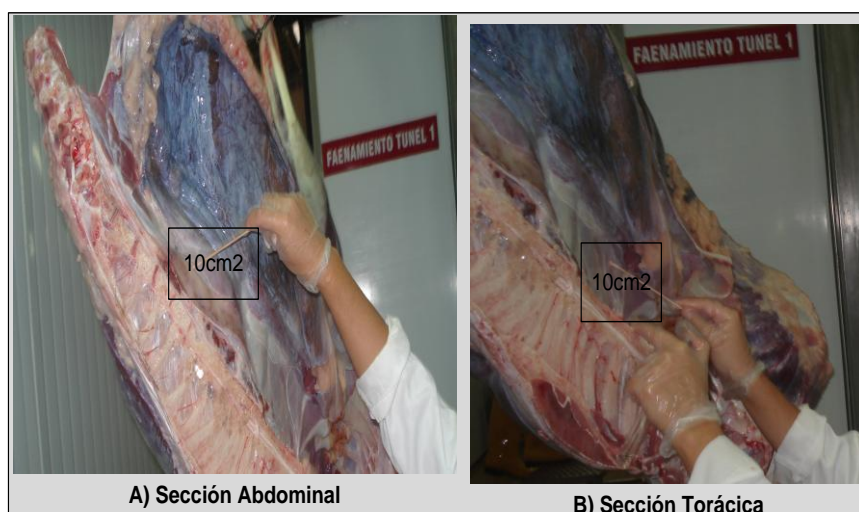


Figura 3.1 ÁREAS HISOPADAS EN LAS CANALES DE AVESTRUZ.

En el siguiente figura se simplifica la metodología empleada para la realización del diseño experimental de mezclas:

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL PARA LA APLICACIÓN DE ÁCIDOS ORGÁNICOS EN CANALES DE AVESTRUZ

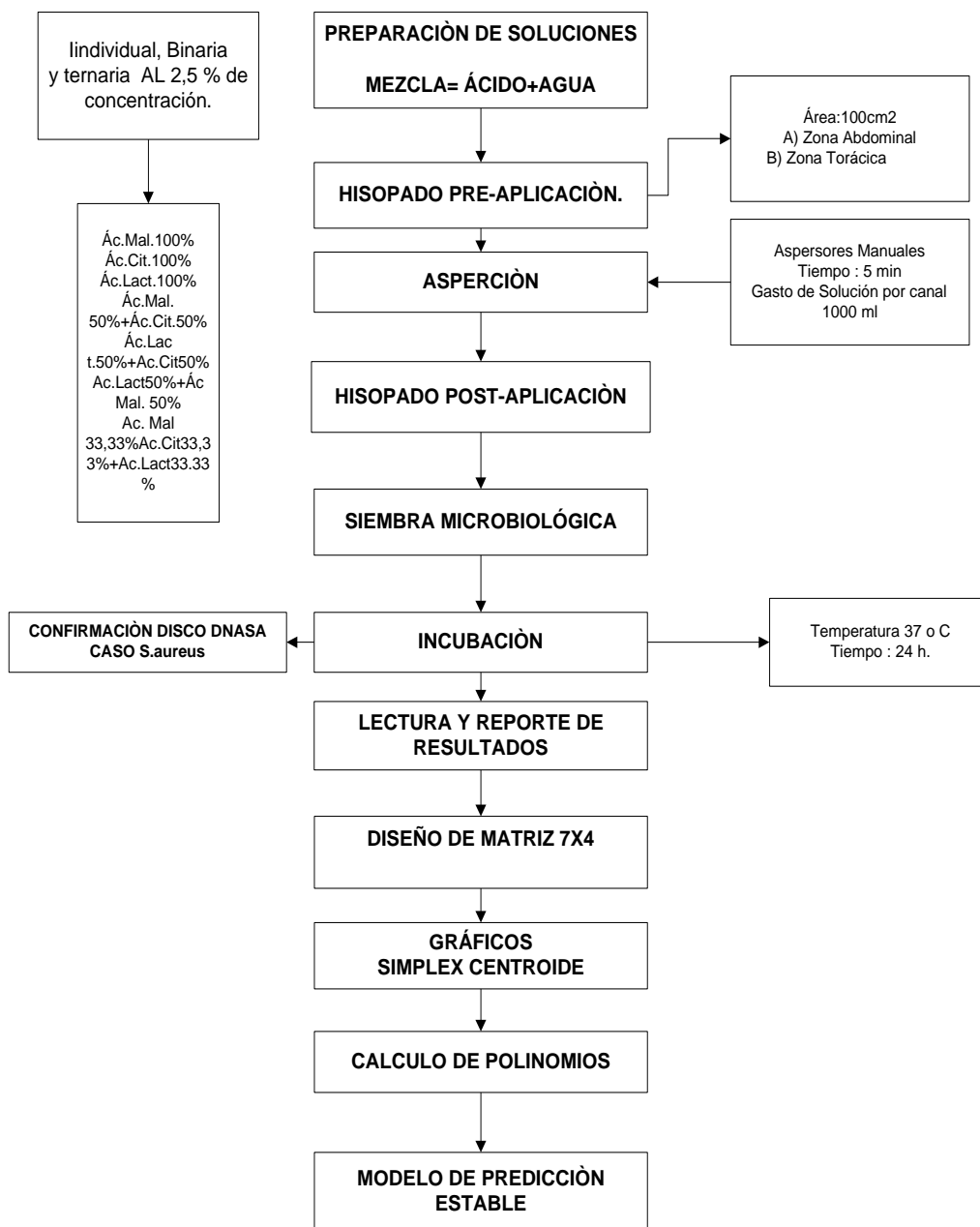


Figura 3.2 DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DE METODOLOGÍA

3.3 Microbiología en la Canal de Avestruz post-aplicación

Se realizó la técnica no destructiva, aplicando hisopos en la superficie de la canal y colocando el mismo en una solución de peptona al 0,1%.

Luego se realizó una serie de diluciones para realizar las siembras microbiológicas según los procedimientos establecidos por la AOAC2003.08 para S.aureus y E.coli-Coliformes AOAC 998.08 en placas petrifilm, esto permitió determinar la carga inicial y post-aplicación de m.o/cm².

Coliformes totales y S.aureus, E. coli son microorganismos perennes en la canal debido a factores operativos no tecnificados en el canal y a las prácticas operativas por parte de los operados que con la gestión de calidad se proyecta disminuir.

El efecto antimicrobiano de los ácidos orgánicos se ejerce a través de la forma no disociada y este factor tiene importancia que la bajada del pH por sí misma. La forma disociada de los ácidos, al ser un anión, es altamente polar y por tanto no atraviesa fácilmente la membrana plasmática de los microorganismos. La forma no disociada del ácido, por el contrario, si atraviesa la membrana

plasmática en el interior de la bacteria que en el caso de las Gram (-) como E.coli y Coliformes totales por presentar doble membrana se consideran más resistentes y para S.aureus Gram (+) atraviesa la membrana externa de peptidoglicano (22).

3.4 Resultados.

La aplicación de ácido láctico, cítrico y málico al 2,5% reduce de 1-2 log. en cuanto a la población microbiana inicial en ufc/cm² en un porcentaje de 90% de reducción, según estudios realizados el Departamento de Alimentos de la Universidad de Pensilvania (2005), con lo cual se sustenta el resultado a la investigación realizada con respecto a la aplicación de ácido láctico para la reducción en 94% de E.coli y Coliformes totales, con la aplicación de ácido cítrico se reduce en 94,36% , según los resultados obtenidos para el ácido málico , su porcentaje de reducción a nivel microbiano es del 60 y 70% pero al combinarse con los otros dos ácidos presenta un comportamiento antagónico, a pesar de ser este ácido componente de agentes bactericidas (CHEMITAL 2008) para el control microbiológico de embutidos y carnes.

Para S.aureus la aplicación ternaria de los ácidos cítrico, láctico y málico reduce en 96.79% la carga microbiana inicial.

CAPÍTULO 4

4. GESTIÓN DE RIESGOS EN LA CARNE DE AVESTRUZ

Al ser el avestruz un animal de granja, su piel y plumas se encuentran contaminados por ser las partes del animal expuesto a la intemperie. Los músculos se encuentran protegidos de infecciones bacterianas debido a una serie de defensas, especialmente la piel. Los intestinos y orificios externos se encuentran naturalmente contaminados con tierra, suciedad y bacterias. Por lo que es necesario llevar a cabo buenas prácticas de faenamiento para evitar contaminaciones cruzadas.

4.1 Contaminación cruzada: Control

La contaminación cruzada es la transferencia de microorganismos infecciosos (patógenos) desde alimentos crudos o sin desinfectar, hacia los que están listos para el consumo, a través de su manipulación o del contacto con utensilios domésticos, superficies de trabajo, y otros, dando como resultados el consumo de alimentos contaminados que pueden provocar enfermedades gastrointestinales (10).

Al igual que todo tipo de sacrificio animal, los avestruces deben ser faenados con prácticas humanitarias. La manera en que son manejados y el uso de procedimientos correctos van a influir directamente sobre la calidad e inocuidad de la carne, y se garantiza también la seguridad de los operadores. (13)

Aturdimiento

El objetivo principal del aturdimiento, es evitar el sufrimiento del animal y obtener una mejor calidad sanitaria de la carne. El tipo de aturdimiento en las avestruces es la electrocución (aplicación de corriente eléctrica) permitiendo una mejor insensibilización, ya que está prohibido el sacrificio cruel de animales. El lugar donde el

animal caiga una vez inmovilizado debe estar limpio y en lo posible seca, sin restos de sangre o agua estancada. (13)

Colgado y desangrado

El sangrado se debe efectuar inmediatamente después del aturdimiento, ya que si transcurre un tiempo excesivo entre el aturdimiento y el desangrado, ingresan bacterias intestinales al torrente sanguíneo y la carne se puede contaminar desde el interior (3).

El tiempo adecuado para realizar el colgado y desangrado está en el rango de los 90 segundos, no mayor a éste, debido a que si no se lleva a cabo un buen desangrado el animal puede recuperar la conciencia, retrasarse su muerte y ocasionar un desangrado imperfecto, lo que provocaría acumulación de sangre en la carne y los tejidos y por lo tanto una rica fuente de nutrientes para los microorganismos. (13)

Es importante mantener una buena limpieza y desinfección de los utensilios como: cuchillos, hachas y sierras para evitar la contaminación entre piezas.

La sangre de cada animal faenado, es recolectada en contenedores y luego en fundas plásticas que son enviadas al área donde se encuentran los desechos que serán enviados al Relleno Sanitario.

Remoción de cabeza, patas, plumas y piel.

La piel del avestruz es muy cotizada por su alta calidad para la elaboración de productos de cuero como bolsos, carteras, cinturones, zapatos, etc. El resto de partes como intestinos, patas, cabeza, son extraídos con cuidado para evitar la contaminación cruzada de los músculos y son colocados en cajas limpias hasta su recogida y posterior decomiso.

Se debe tener especial cuidado al momento de retirar los intestinos debido a que pueden reventarse y contaminar la canal por dentro.

Durante el desollado del avestruz se debe tener en consideración lo siguiente:

Vigilar que las incisiones para separar la piel se efectúen siempre de la parte interior al exterior para evitar introducir contaminación,

utilizar preferiblemente cuchillos con punta roma o redondeada, con lo cual se evita la perforación de vísceras internas.

Quitar todos los restos de cuero antes de la terminación del canal y desde luego antes del lavado, para evitar la difusión de la carga microbiana al resto de la canal.

Evitar que las manos sucias del operador entren en contacto con la canal después de haber tocado la piel, por lo que debe habérselas lavado previamente. (13).

Eviscerado, cortado y lavado de la canal

Una vez desollado el animal, se procede a retirar las vísceras, para lo que se utiliza una sierra automática con mucho cuidado para no abrir las vísceras. La sierra siempre debe ser desinfectada entre canal y canal para evitar la contaminación cruzada, para lo cual se desinfecta utilizando agua caliente a 82°C o una solución de ácido peracético al 0,003%. Las vísceras se recolectan en recipientes, por separado las comestibles de las no comestibles, y luego son inspeccionados por el veterinario para identificación de posibles enfermedades (14).

Almacenamiento

Una vez listas las canales son enviadas a través de rieles a la cámara de refrigeración la cual debe estar limpia y desinfectada para evitar contaminaciones cruzadas.

4.2 Vulnerabilidad de la Carne de Avestruz: Requisitos

La carne de avestruz al igual que la carne de mamíferos, es una carne de color rojo brillante, con alto contenido de proteínas, bajo porcentaje de grasas y agua, además de otros nutrientes en menor proporción. Por ser un producto rico en proteínas y agua es fácilmente contaminable por microorganismos.

Los tejidos del animal sano están protegidos frente a la infección por una combinación de las barreras físicas y de la actividad del sistema inmune. Los órganos internos y los músculos de una canal recién obtenida por sacrificio del animal deben estar relativamente exentos de microorganismos.

Las zonas del avestruz que se encuentran densamente colonizadas pueden contaminar la carne son la piel, plumas y el tracto gastrointestinal. La piel y el plumaje presentan una carga

microbiana propia del suelo y heces como micrococos, estafilococos, pseudomonas, levaduras y mohos (1).

Si se mantienen buenas prácticas de higiene durante el faenamiento, la contaminación provocada por los materiales que se emplean en el desuello, por los cuchillos y por los operadores, es menos importante que la contaminación debida a los propios animales.

El lavado baja considerablemente la contaminación microbiana de las canales, pero es necesario llevar a cabo un tratamiento de desinfección, por lo que se puede utilizar compuestos como ácidos orgánicos que reducen las cargas bacterianas.

Entre los factores que influyen a la multiplicación de la flora inicial esta la actividad de agua (a_w), que al ser más próxima a 1, más intenso es el desarrollo microbiano. Las variaciones de la a_w de la superficie tienen grandes repercusiones sobre el crecimiento microbiano superficial. El descenso de la a_w provoca desecación superficial de la carne, esto no permite el crecimiento microbiano pero supone una pérdida de peso y calidad, por lo que es necesario que el frigorífico se encuentre en una humedad ambiente

que provoque una a_w en la carne compatible con pérdidas de masa limitada, buen aspecto y calidad higiénica satisfactoria. (3)

En cuanto al potencial de óxido reducción (Eh), una vez que el animal a muerto, el músculo todavía contiene reservas de oxígeno, que hacen que el Eh sea positivo y elevado (+250mV) lo que favorece al crecimiento microbiano de bacterias aerobias. Una vez que las reservas de oxígeno se agotan el Eh, se reduce e inmediatamente alcanza la cifra de -200 mV en las profundidades del músculo lo que provoca el desarrollo de gérmenes anaerobios de la putrefacción. El pH normal de la carne de res es de 5.7, en las carnes de avestruz el pH varía de 5.5 a 6.2, regularmente el pH. medido se encuentra por encima de 6.2 y puede provocar la multiplicación microbiana, por lo que es factible utilizar soluciones de ácidos orgánicos que reduzcan el pH, sin afectar la calidad. (3)

Un factor importante en la multiplicación microbiana es la temperatura, ya que a más baja, más lento se reproducen las bacterias.

Considerando una temperatura de -18°C . como óptima para mantener la vida útil del producto y se detiene por completo la multiplicación microbiana

4.3 Inspección del Producto vs Inspección Basada en el Riesgo

Los sistemas tradicionales de inspección siempre se han basado en el producto, la nueva forma de hacer inspección es la que se basa en el riesgo.

Los sistemas tradicionales realizan:

- Inspección del producto final.
- Retiro del mercado.
- Autoridades de Salud.
- Debilidades en supervisión y aplicación.
- Acciones Correctivas.

Los sistemas modernos efectúan datos científicos basados en análisis de riesgo:

- Enfoque preventivo.
- Enfoque de cadena.
- Sistematización.

- Estrategia nacional – Reducción del riesgo.
- Integración al sistema nacional.

La inspección es el retrato instantáneo de lo que ocurre en la fábrica o establecimiento donde se procesan los alimentos.

Cuando se realiza una inspección muchas veces no se ve o se observa parcialmente, y durante el proceso el inspector no puede ver cosas que estén sucediendo en este tiempo. Aunque se realicen pruebas y los productos cumplen con las características de calidad e inocuidad, no necesariamente significa que todos los productos elaborados en la planta poseen idénticas características.

La inspección basada en el riesgo se enfoca en el sistema de producción como un todo y no solo en el producto. Establece que si se llevan a cabo los controles necesarios durante toda la cadena de valor, que por definición controlan todos los factores de riesgos de enfermedades transmitidas por los alimentos asociados a un producto, los riesgos de inocuidad se reducen al mínimo. Este sistema es el equivalente a “cero defectos” que se utiliza en los sectores industriales desde hace mucho tiempo con mucho éxito. En el caso de encontrar un producto defectuoso, la inspección

basada en el riesgo debe determinar donde falló el sistema, o qué peligro no fue exactamente controlado. Este tipo de inspecciones están relacionadas con las Buenas Prácticas Pecuarias, Buenas Prácticas de Faenamiento, Buenas Prácticas Higiénicas.

4.4 Legislación Aplicada a Carnes

La seguridad alimentaria en el Ecuador se afianza en el INEN, el cual se ha encargado de establecer normativas para los productos en el sector cárnico.

La reciente explotación de la carne de avestruz en el país, no ha permitido establecer una normativa que se encargue de regular la calidad microbiológica, bromatológica y organoléptica de la carne de avestruz.

Una normativa debe estar fundamentada en base técnica por organismos como el Codex Alimentarius y la FDA, como lo es la Normativa emitida por el MINSA-DIGESA (Normativa Peruana N° 615-2003) de la cual se obtuvieron los parámetros microbiológicos para la presente tesis:

TABLA 19
PARÁMETROS ESTABLECIDA POR NORMA PERUANA MINSA-DIGESA

Microorganismos	Límites máximos (UFC/cm²)
E.coli	>10²
S.aureus	>10⁶

Fuente: Normativa Técnica Peruana (18)

4.5 Priorización del Riesgo

De acuerdo a la cadena de proceso de faenamiento se identificaron los riesgos y se estableció una escala de prioridad del acuerdo al (Manual de INSPECCIÓN basado en riesgos FAO 2008), la presente tabla debe ser actualizada y revisada después de cada inspección, se indica una escala la prioridad del riesgo estableciendo:

1: Prioridad Alta

2: Prioridad Media

3: Prioridad Baja

TABLA 20
IDENTIFICACIÓN DE RIESGOS

ETAPA	RIESGO	GRADO
Crianza	Enfermedades no controladas durante la etapa de crecimiento.	2
Ingreso-Pre-Faenamiento	Contaminación cruzada por arrastre de suciedades propias del animal y el área.	3
Aturdimiento	Por estrés del animal y malas prácticas.	1
Desangrado	Recolección de sangre en depósitos cercanos a la canal.	1
Desollado	División inadecuada de la piel causa contaminación por la presencia de m .o en la piel	1
Evisceración	Remoción inadecuada de intestino, causa contaminación fecal.	1
División de la Canal	Desinfección inadecuada de equipos causa contaminación cruzada entre canal y canal	1
Almacenamiento	Contaminación entre canales y por condiciones temperatura y superficie inadecuadas.	2

Elaborado por: Marín. K, 2011

4.6 Establecimiento de los riesgos

De acuerdo a la priorización de los riesgos establecidos en la Tabla 20 se indican los riesgos de alta prioridad descritos en la

Tabla 21 se indican las etapas de alta prioridad de riesgo de contaminación en el proceso.

TABLA 21
RIESGOS DE ALTA PRIORIDAD

ETAPA	RIESGO
Aturdimiento	Tiempo y Voltaje > permitido puede causar ruptura de vasos sanguíneos y contaminación de la carne por medio de la sangre.
Colgado y desangrado	Tiempo > permitido ingresan bacterias intestinales al torrente sanguíneo y la carne se puede contaminar desde el interior
Desollado	División inadecuada de la piel causa contaminación por la presencia de m.o en la piel
Eviscerado	Remoción inadecuada de intestino, causa contaminación fecal.
División de la Canal	Desinfección inadecuada de equipos causa contaminación cruzada entre canal y canal

Elaborado por: Marín. K, 2011

4.7 Gestión del riesgo

Objetivo:

Reducir los riesgos de contaminación microbiana originados a lo largo de la cadena de proceso.

Metodología:

Se realizó una inspección determinando los riesgos de algo grado considerando la priorización a lo largo de la cadena de faenamiento y la aplicación de ácidos orgánicos en las canales de avestruz para reducir la carga microbiana inicial.

Alcance:

Se realizó una evaluación para determinar etapas que implican riesgos de alto grado de contaminación con la finalidad de implementar Buenas Prácticas de Faenamiento y Buenas Prácticas de Manufactura de acuerdo a los parámetros establecidos por la normativa consultada.

4.8 Evaluación de los riesgos

De acuerdo a las tablas 20 y 21 se analizó una evaluación de riesgos a nivel estadístico en la cual se determinaron riesgos de alta, media y baja prioridad y se elabora diagrama estadístico de barras los cuales se muestran a continuación:

TABLA 22
ESCALA DE PRIORIDAD DE RIESGOS

Alta Prioridad (1)	Media Prioridad (2)	Baja Prioridad (3)	TOTAL Riesgos
5	2	1	8
62,5	25	12,5	100%

Elaborado por: Marín. K, 2011

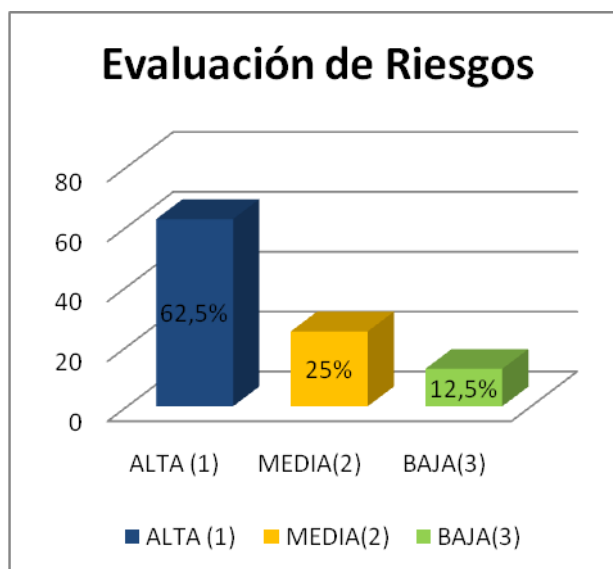


Figura 4.1 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE ESTABLECIMIENTO DE RIESGOS

CAPÍTULO 5

5. CONCLUSIONES

- La reducción de microorganismos como E.coli, Coliformes Totales y S.aureus de acuerdo a la aplicación del método del diseño experimental de mezclas se obtuvo tres modelos matemáticos de predicción estable que se ajustaron a un modelo cúbico para E.coli S.aureus y Lineal para Coliformes Totales determinando que la aplicación individual del ácido láctico al 2,5% reduce en 94% la carga microbiana, el ácido cítrico en 94% coliformes totales y la

mezcla ternaria del ácido láctico, málico y cítrico reduce en 97% para *S.aureus* en canales de avestruz.

- La solución ternaria al 2,5% de concentración de ácido cítrico, láctico y málico reduce al 97% la carga microbiana inicial, con lo que se logro reducir de 1-3 ciclos log , considerándose la adecuada para la aplicación industrial
- En el estudio se logro establecer que los riesgos de alta prioridad (pueden constituir el 62,5%), sin embargo con la implementación de las Buenas Prácticas de Manufactura se puede minimizar estos riesgos.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda para la aplicación industrial utilizar un aspersor de acero inoxidable incorporando un manómetro para el control de la presión que no debe ser mayor a 40 psi y una boquilla de ¼ “ realizando la aplicación a no más de 12” de la superficie de la canal.

- Es importante evaluar los m.o a través del tiempo por lo que pueden generar resistencia a los agentes utilizados, es por ello, que se debe establecer un monitoreo frecuente a fin de determinar la eficacia de los ácidos utilizados y la concentración.
- Se recomienda implementar Buenas Prácticas de Manufactura a fin de complementar la aplicación de métodos de desinfección en canales de avestruz

APÉNDICES

BIBLIOGRAFÍA

- (1). ADAMS, M.; MOSS, M. Microbiología de los alimentos. Editorial Acribia S.A., Zaragoza- España, 2005 Págs. 259, 260, 270,272.
- (2). ANDERLONI, Giorgio. La Cría del Avestruz. Editorial Mundi-Prensa, Madrid-España, 1998. Págs. 17, 31.
- (3). BOURGEOIS,C.;MESCLE,J.;ZUCCA,J.Aspectos microbiológicos de la seguridad y calidad alimentaria. Editorial Acribia S.A., Madrid-España, 1998.Págs. 246-249.
- (4). BURLINI, Francesco. Manuale Practico Per L'Allevavamento Dello Struzzo. Editorial L'Informatore Agrario, Italia, 1997. Págs.62, 64.

- (5). CODEX.Código de Prácticas de Higiene para la carne.
Disponible en: [www.codexalimentarius.net /CACRCP.html](http://www.codexalimentarius.net/CACRCP.html).Marzo
2011.
- (6). CORNELL, Jhon. Experiments with mixtures. Editorial Jhon
Wiley and Sons, USA, 2000. Págs.30, 41, 45, 63.
- (7). DEEMING, D.C. El Avestruz. Editorial Acribia S.A., Zaragoza-
España, 2001. Págs.2, 5, 8,107,241.
- (8). DIDIER,C.;ERCVHEVERRIGARAY,M.;KRATJE,R.;
OICOECHEA, H. Crossed mixture desing and multiple response
análisis for developing complex culture media used in recombinat
protein production. Editorial Chemometrics and Intelligent
Laboratory Systems, USA, 2007. Págs. 1,9.
- (9). ELROD, C.; WILBORN, H. The Ratite Encycopedia Ostrisch-
Emu-Rhea. Editorial, Ratite Records, USA, 1995. Págs.80.
- (10). FAO. Curso: Manipulación de Alimentos.. Desde el 27 de Abril
al 03 de .Mayo 2009.Págs.55, 57,60.

- (11). FAO. *Directrices para el manejo, transporte y sacrificio humanitario del ganado*. Disponible en: www.fao.org. Junio 2011.
- (12). FAO. Manual de Inspección de alimentos basado en el riesgo. Págs. 220,221.
- (13). GARDEA, A.; GONZÁLEZ, G. Buenas Prácticas en la Producción de Alimentos. Editorial Trillas, México, 2007. Pág.97
- (14). GRANJA HILLARY OSTRICH FARM. *Lugar de Investigación* Disponible en: www.hillaryostrichfarm.com. Enero 2011.
- (15). ICMSF. Microorganismos de los alimentos 7. Análisis microbiológico en la gestión de la seguridad alimentaria, España, Editorial Acribia 2004. Págs.45, 46.
- (16). MONTGOMERY, Douglas. Diseño de Análisis y Experimentos. Editorial Limusa, México, 2003 .Págs. 427,429,432.

- (17). MUTEKI, K.; MCGREGOR J. Mixture designs and models the simultaneous selection of ingredients and their ratios. Págs.21.
- (18). Norma Técnica Peruana RM 615.Criterios Microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano. 2003.
- (19). PENN STATE FOOD SAFETY. *Aplicación de agentes sanitizantes en canales de res.* Disponible en: <http://www.foodsafey.cas.psu.edu>. Marzo 2011.
- (20). REVISTA MUNDO ALIMENTARIO. *Descontaminación con Técnicas Químicas en carne.* Disponible en web. <http://www.mundoalimentario.com>.Febrero 2011.
- (21). REVISTA MUNDO ALIMENTARIO. *Empleo del ácido láctico en industrias industrias cárnicas.* Disponible en: <http://mundoalimentario.com>. Marzo 2011.

(22). RODRIGUEZ P. Los ácidos orgánicos como agentes microbianos. Universidad Politécnica de Madrid, España.

(23). TÉCNICAS ALIMENTARIAS. *Soluciones en conservación, preparados completos para la industria cárnica*. Disponible en: <http://www.chemital.es/lmbac>. Abril .2011.

(24). THE CHEMICAL COMPANY. *Propiedades del ácido Máfico*. Disponible en: <http://www.companychemital.com>. Febrero 2011.

(25). USDA. Composicional *nutricional de la carne de avestruz*. Disponible en: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>. Marzo 2011.