



**“Ácidos orgánicos como método de intervención.
Efecto sobre agentes patógenos y alteradores
relevantes en la industria frigorífica. Empleo en
carne equina”**

por

María Florencia Santapaola, MV

**Trabajo realizado como requisito para optar al título de
ESPECIALISTA EN SEGURIDAD ALIMENTARIA**

**Director
Dr. Ricardo Rodríguez**

**Facultad de Ciencias Veterinarias
Universidad Nacional de La Plata**

Año 2013

INDICE DE CONTENIDOS

Agradecimiento	4
Curriculum vitae	
A – INTRODUCCION	7
1. Relevancia de la temática	
2. Objetivos y alcances	
2.1. Objetivo general	
2.2. Objetivos específicos	
3. Motivo de la elección de la temática propuesta	
B – PLANTEAMIENTO DEL TEMA/PROBLEMA	14
C – DESARROLLO	15
1. La matriz alimentaria seleccionada	15
1.1 La carne como matriz para el desarrollo de microorganismos	
2. Microbiota contaminante natural	17
2.1. Carcasas	
2.2. Cortes	
2.3. Vida útil y microbiología	
2.4. Organismos patógenos relevantes y ensayos de desafío	
2.5. Adherencia bacteriana en carne	
3. Características de la carne equina	26
3.1. Estudios en carne equina	
4. Ácidos orgánicos:	27
4.1. Clasificación	
4.2. Mecanismo de acción	
4.3. Utilización para descontaminación en canales	
4.4. Utilización para descontaminación en cortes de carne	
4.5. Utilización para descontaminación en otros productos cárnicos	
5. Efectos de su aplicación en características organolépticas o alteraciones sensoriales	30
6. Ácido láctico	31
6.1 Concentraciones	
6.2. Acción en lo que respecta a disminución en el desarrollo microbiológico	
6.3. Efecto sobre organismos alterantes y patógenos	
6.4. Métodos de aplicación	
6.5. Impacto ambiental	
6.6. Implicancias toxicológicas	

6.7. Normativas y regulaciones	
7. Estudio experimental realizado con ácido láctico y carne equina	36
8. Análisis crítico del uso del ácido láctico en canales	36
9. Análisis crítico del uso en cortes de carne y otros productos cárnicos	37
10. Análisis del uso en carne equina	37
D – CONCLUSIONES	38
E – BIBLIOGRAFIA	45
F – ANEXOS	40

Agradecimientos

Gracias a mis viejos, mis amigos y toda la gente que estuvo junto a mi lado ayudándome en todo ese año de cursada de la carrera de especialización ya que sin su ayuda se me habría hecho imposible realizarla. Agradezco también a todos los docentes y mis compañeros de curso que hicieron que el esfuerzo de los viajes con tantos kilómetros recorridos se haga más ameno. Al Dr. Ricardo Rodríguez, mi director de tesis, que estuvo siempre ayudándome en cada detalle para poder realizar este trabajo lo mejor posible. Y a mi hija Lihuen por aguantar mis ausencias.

Curriculum vitae

Maria Florencia Santapaola

Información personal	<ul style="list-style-type: none">▪ Estado civil: Soltera▪ Nacionalidad: Argentina▪ Fecha de Nacimiento: 29/05/1977▪ Lugar de nacimiento: Paraná – Entre Ríos
Educación	1990 - 1994 Titulo Secundario: Bachiller Especializado en Ciencias Biológicas Instituto Cristo Redentor - Paraná – Entre Ríos 1995 - 2002 Título Universitario: Veterinaria Facultad de Ciencias Veterinarias – Universidad Nacional del Litoral – Esperanza – Santa Fe
Actividades profesionales	03/2003 – 11/2005 Instituto Veterinario Dr. Pablo Etienot Corrientes 221 Paraná – Entre Ríos Tel: 0343-4310906 2/2006 – 5/2007 Horas Cátedras en CEM 40 De Biología de 1 er. Año 12/2007 – hasta la fecha Actividad Profesional privada en mi Clínica Veterinaria “Instituto Veterinario” Chimpay – Río Negro 11/2007 – 09/2009 Directora Técnica en Maxicom S.A. – Choele Choel – Río Negro.Registro N°: 0044

10/2009 – hasta 05/2011

Jefe control de Calidad y Directora Técnica del Laboratorio de Triquinosis – Frigorífico Solemar Alimentaria S.A.

05/2011 – hasta la fecha

Jefe de Servicio de Inspección del Establecimiento Of. N° 3986 “Solemar Alimentaria S.A.”

2010-2011

Ayudante de trabajos prácticos ad-honorem de la cátedra de Histología de la Carrera de Veterinaria perteneciente a la Universidad de Rio Negro

09/2014 hasta la fecha

Jefe de Trabajos Prácticos regular de la cátedra de Tecnología de los Alimentos III, productos de origen animal, en Facultad de Tecnología de los Alimentos de la Universidad Nacional del Comahue.

Cursos y posgrados

Oct 1998 - Jornada sobre Sistemas de Producción Porcina – Facultad de Ciencias Veterinarias (UNL)

Disertante: Dr. Carlos M Zelko

Nov 2001 – Jornada de Cardiología – Facultad de Ciencias Veterinarias (UNL)

Disertante: Dr. Carlos Mucha

Abril 2002 – Jornada de Dermatología - Colegio de Veterinarios de Santa Fe

Disertante: Dra. Alicia Wolberg

Jun 2002 – Jornadas de Reproducción en Pet's – Colegio de Veterinarios de Paraná

Disertante : Dr. Carlos Sorbías

Ago 2002 – Jornada de actualización en emergentología- Colegio de Veterinarios de Santa Fe

Disertante: Dr. Daniel Moro

Oct 2002 – Curso de Posgrado en Bacteriología y Micología en pequeños animales – Facultad de Ciencias Veterinarias de la UBA

Oct 2006 – Curso Acreditación para diagnosticar AIE – Capital Federal

Mar 2010 – Posgrado FEVA “La gestión de la inocuidad alimentaria a nivel de local” - “La Evaluación Bromatológica y Sanitaria basada en los Riesgos y los Peligros Alimentarios

Abril 2012 – Posgrado en Seguridad Alimentaria – Universidad Nacional de La Plata y SENASA (falta presentación de la Tesis Final)

Junio 2012 – Curso on-line de Manejo de Planta Frigoríficas de Especies Mayores dictado por el Aula Virtual de SENASA

Sept 2013 – I Curso Introducción a la Evaluación Cuantitativa de Riesgos en Alimentos de Origen Animal: fundamentos y aplicaciones.

Disertantes: Marcelo Signorini, Ricardo Rodríguez.

A- INTRODUCCION

Cada vez se hace más importante en la industria alimentaria lograr eliminar o eventualmente minimizar los riesgos de contaminación y la presencia de agentes biológicos, químicos y físicos para, de esta manera, asegurar que la elaboración y el consumo de los alimentos no pongan en riesgo a los consumidores. La introducción e implementación de tecnologías que fundamenten los planes de aseguramiento de la inocuidad y de la calidad es uno de los puntos claves en las empresas alimentarias tanto para la permanencia, como el ingreso a nuevos mercados internacionales (Demaschelier y col, 2007).

Varios abordajes tecnológicos se han implementado en las plantas procesadoras de alimentos para contribuir a tener un mejor manejo y mayor control sobre los posibles riesgos asociados a los productos que elaboran. Dentro de los manuales de aseguramiento de la inocuidad se han incorporado en los últimos años, en especial las empresas de mercado internacional, el Sistema de Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control, HACCP – en sus siglas en inglés tal cual es muy utilizado en la producción e industria - que tiene como finalidad un análisis de los peligros en cada planta o proceso en particular según el producto que elabore, con el fin de tener un mayor control de los riesgos asociados con el alimento y determinar que método de control es el más conveniente y de qué manera poder realizarlo. En este contexto diversos métodos y procedimientos de intervención, bajo el paraguas del Sistema HACCP están siendo utilizados en la industria frigorífica de carnes. Algunos ejemplos de estos métodos de intervención lo constituyen, la aplicación de vapor, agua caliente, diversos agentes sanitizantes y el empleo de ácidos orgánicos de cadena corta. La mayor parte de estas estrategias de intervención se llevan adelante en las etapas iniciales del procesamiento – primeras transformaciones, en la industria y en general conllevan la utilización combinada de más de una de estas herramientas (Algino y col., 2007; Bacon y col., 2002). La aplicación y el empleo de ácidos orgánicos viene ganando adeptos en su aplicación comercial, en especial por cuestiones vinculadas a mejoras y resguardo en la salud pública y a aperturas reglamentarias y normativas (EFSA, 2011).

1. Relevancia de la temática

El uso de compuestos acidulantes -ácidos orgánicos (débiles), en la conservación y mejoras de las propiedades sensoriales en alimentos es extenso y variado dependiendo de la matriz alimentaria y las razones tecnológicas de su empleo. En particular, los ácidos que contienen uno o más grupos carboxilos son aditivos alimentarios relevantes (Bacon, 2002). Estos ácidos orgánicos son en general intermediarios o productos finales de ciclos metabólicos básicos que ocurren en una gran variedad de organismos vivientes. Entre estos se incluyen el ácido acético, cítrico, glucónico, fumárico, láctico, málico y tartárico. Su producción industrial se realiza en su mayoría a través de métodos biológicos y los ubica como un prototipo en la Biotecnología Alimentaria (García Garibay y col., 2004).

El uso de ácidos orgánicos en la industria de alimentos cumple diversas funciones tecnológicas dependiendo de la aplicación en particular que se basa en una o varias de las siguientes propiedades, características o atributos (Davidson y Taylor, 2007):

1. Poder acidulante
2. Propiedad amortiguadora o reguladora del pH
3. Agente quelante de iones metálicos
4. Emulsificante
5. Efectos sensoriales beneficiosos
6. Agentes antimicrobianos

La acidificación y el control del pH en niveles bajos inhiben y retardan el crecimiento de microorganismos indeseables, especialmente bacterias alteradoras y algunas patógenas. Es por ello que este trabajo que se propone tendrá en cuenta, especialmente, esta particularidad beneficiosa de los ácidos orgánicos.

Los microorganismos que alteran la carne, llegan a ella por una eventual infección del animal vivo (contaminación endógena) o por invasión *post mortem* (contaminación exógena). Sin embargo, el deterioro de la carne a consecuencia de la contaminación exógena con microorganismos alteradores es la más frecuente y relevante. Después del sacrificio y de la evisceración del animal, el musculo conserva las características microbianas generales que tenía previo al sacrificio. La superficie del animal -cuero, está

contaminada por microorganismos provenientes del suelo, el contenido gastrointestinal, el aire y el agua, mientras que el músculo esquelético está prácticamente libre de ellos -en términos prácticos podría decirse que es estéril (Nychas y col., 2007).

En la medida que la canal está sujeta a los diferentes procesamientos y preparación de los cortes que son requeridos para la comercialización de las carnes, la superficie de contacto con el ambiente es mayor, la estructura anatómica cambia y se modifica y las posibilidades de contaminación también aumentan. Las condiciones medioambientales y de manejo (equipos, utensilios, operarios, entre muchos otros), y las características de la carne determinan finalmente la cantidad y variedad de los microorganismos presentes. La microbiota resultante en la matriz en cuestión, es derivada entonces, de la contaminación inicial y de los factores ecológicos determinantes en el medio ambiente y en el producto lo cual sustenta las asociaciones microbianas descritas en términos de la ecología microbiana de los alimentos (Boddy y Wimpenny, 1992; Galland, 1997; Nychas y col., 2007). Una problemática adicional en la industria de alimentos y en especial en la cárnica, asociada a la contaminación microbiana, lo constituye la formación de biofilms bacterianos –tanto alteradores como patógenos, en las superficies de contacto y en la matriz del producto, resultante de la adherencia de las bacterias sobre las superficies respectivas. Esto representa, a su vez, un desafío para su control y eliminación (USDA, 2006; Tarver, 2009).

Está bien establecido que el agua, las proteínas y las grasas son los principales componentes de los tejidos musculares, mientras que los componentes menores incluyen carbohidratos como glucógeno y productos intermediarios de la glucólisis (glucosa, glucosa 6 fosfato y lactato). El fin de la respiración celular y la glucólisis conduce a la acumulación de ácido láctico y una concomitante reducción del pH. En los tejidos con alto contenido de glucógeno inicial el pH puede alcanzar de 5,5 a 5,9 antes que la actividad enzimática asociada con la glucólisis finalice debido a una incapacidad de mantener niveles suficientes de ATP. La disminución del pH muscular y la liberación de ciertos metabolitos facilitan la desnaturalización de ciertas proteínas y la disponibilidad de enzimas proteolíticas con la consiguiente degradación de las proteínas musculares. Los cambios que se producen durante el deterioro tienen lugar en la fase acuosa de la carne que contiene glucosa, ácido láctico, aminoácidos, nucleótidos, urea y las proteínas

solubles en agua. Estos son sustrato para el desarrollo de la mayoría de las bacterias de la microflora de la carne (Poulanne y col., 2002).

El proceso de deterioro del tejido adiposo es similar al del tejido muscular, sin embargo cuando se emulsiona y hay una fase acuosa presente puede utilizarse de una manera más eficiente como sustrato. Puesto que las enzimas lipolíticas no son producidas por los microorganismos hasta que se agoten los hidratos de carbono, el deterioro del tejido adiposo no depende necesariamente de la capacidad de la microflora para producir lipasas. Además las cantidades de componentes solubles son menores. Por otro lado, además de contener menores cantidades de carbohidratos el tejido adiposo tiene menos ácido láctico lo cual hace que el pH de la superficie sea generalmente mayor (pH 7). No obstante, se ha demostrado que la grasa superficial es un excelente sustrato para el desarrollo de *Pseudomonas*, *Enterobacteriaceae* y *Brochothrix thermosphacta* (Lasta y col., 1994).

Aunque los alimentos cárnicos pueden contaminarse con una amplia gama de microorganismos, su deterioro se debe a la selección de especies dominantes durante el almacenamiento y el desarrollo de una asociación microbiana. El almacenamiento en frío y la composición gaseosa que rodea el tejido, como factores tecnológicos y el pH y el a_w como factores del producto determinan la composición de la flora dominante. La contaminación de canales de bovino y porcino después del sacrificio y enfriamiento, es variable y puede estar constituida por 10^1 - 10^5 microorganismos mesófilos aeróbicos por centímetro cuadrado, dependiendo de la canal, sitio de la canal y lugar de donde provenga. (Lasta y col, 1992; Masana y Rodríguez, 2006). La microbiota contaminante de la carne está integrada principalmente por bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Brochotrix*, *Proteus*, *Flavobacterium*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Listeria* y *Streptomyces*. La microbiota resultante (final), sin embargo, dependerá de la microbiota inicialmente presente en el producto, de los factores de procesamiento, de las condiciones de almacenamiento y de la competencia que se produzca entre los microorganismos presentes que en buena medida -a su vez, determinaran la vida útil del producto (Rodríguez y col., 2000). La presencia de organismos patógenos en canales y carnes es una amenaza para la industria y la salud pública; esto a su vez ha generado el desarrollo de tecnologías y sistemas para minimizar o mitigar el impacto de estos patógenos en la

cadena agroalimentaria (Desmarchelier y col., 2007; Algino y col., 2007). Los estudios publicados sobre la microbiota alteradora y patógena de canales y cortes de carne equina, por otro lado, son escasos (Gill, 2005).

La carne equina se caracteriza por ser de un alto valor nutritivo, libre de aftosa y de BSE, con bajo contenido de grasa la cual está compuesta por 4% de ácido palmítico y esteárico y un 96 % de ácido oleico. Esta carne es rica en hierro, vitaminas y minerales (zinc y selenio), y contiene un porcentaje importante de proteínas de alto valor biológico. Es una carne tierna que no se modifica con la edad de faena, sexo, raza, alimentación o tipo genético. La carne de mulo y asno, a su vez, es más tierna que la del caballo. Es apta para el consumo directo (carne fresca), como para la elaboración de distintos productos. Por otra parte, el intestino delgado se considera, por su firmeza y porosidad, una envoltura ideal para embutidos de primera calidad (Catelli, 2006).

En relación a la producción de carne equina en nuestro país entre 1969 y 1974 se faenaron alrededor de 360.000 animales por año. Se ha mantenido relativamente constante en los últimos años lo que ha determinado un volumen importante de exportación tanto en carnes frescas, procesadas y otros productos derivados. Desde el 2004 al 2009 el promedio mensual de faena fue de 16.618 cabezas; de los animales faenados el 45 % fueron caballos, el 42 % yeguas, un 4 % potrillos y el resto se distribuyó entre padrillos, mulas y asnos.

Los principales países a los cuales se exporta son: Rusia, Holanda, Italia, Francia y Japón. Entre los años 2000 y 2009 se exportaron 332.153 toneladas de las cuales 122.727 pertenecían a carne fresca y el resto a menudencias y vísceras, cueros y pieles, demás comestibles y otros (ONCCA, 2009).

Se ha indicado que las cualidades intrínsecas de la carne equina en general impiden la rápida descomposición microbiana, ya sea aeróbica o anaeróbica, cuando el número de bacterias presentes inicialmente es bajo debido al alto contenido en glucógeno que genera que al final del *rigor mortis* la carne alcance habitualmente un pH inferior a 6 (Gill, 2005). En cuanto a los microorganismos patógenos, diversos estudios sugieren que es baja la incidencia de *Campylobacter* y *Escherichia coli* productor de toxina Shiga / Verotoxigenico, STEC/VTEC, sin embargo la contaminación con *Salmonella*, *Listeria* y

Yersinia enterocolitica puede o no ser significativa dependiendo del origen y la tecnología del procesamiento de la carne (Assis y col., 2000; Gill, 2005).

La aplicación de ácidos orgánicos está legislada en los EEUU para el uso de los ácidos acético, cítrico y láctico en concentraciones que van del 1,5 al 2,5 % como intervenciones aceptables para reducir la contaminación bacteriana de la canal (FSIS/USDA, 1996) y su utilización ha sido ampliamente estudiada (Bacon, et al, 2002). Su aplicación en plantas faenadoras bovinas en EEUU lleva décadas de uso probado y eficiente, para mejorar las condiciones de inocuidad microbiológica de las canales en el marco de un plan HACCP. En la Unión Europea se ha realizado, por otra parte, un extenso estudio sobre la eficacia y seguridad del uso del ácido láctico en las canales bovinas. En este se evaluaron 25 artículos científicos en lo cual se evidenció que 11 de ellos que se clasificaron por alto nivel de evidencia, el ácido láctico mostró reducir los recuentos de la microbiota natural. También demuestra reducir la prevalencia de *Salmonella* y/o STEC/VTEC (EFSA, 2011).

La Unión Europea aprobó recientemente el uso de ácido láctico en las canales bovinas a través del Reglamento UE 101/2013 en el cual autoriza su empleo en canales enteras, medias reses y cuartos únicamente mediante pulverización o nebulización en concentraciones comprendidas entre el 2% y 5%. El ácido láctico debe cumplir las especificaciones establecidas en el Reglamento UE 231/2012 y en condiciones controlables y comprobables dentro de un sistema de gestión basado en los principios de HACCP. Sin embargo, el empleo de los ácidos orgánicos en las playas de faena de bovinos es controversial en algunos países, ya que se tiene el concepto de que su inclusión podría enmascarar fallas en las buenas prácticas de manufactura y en los procedimientos de sanitización (EFSA, 2011). Su utilización, por otro lado, además de las ventajas mencionadas no tendría impactos ambientales negativos, como tampoco riesgos toxicológicos asociados a su uso (EFSA, 2011).

Este trabajo, cuya propuesta se presenta, propone evaluar la actividad de los ácidos orgánicos y sus beneficios en relación al control del desarrollo de microorganismos indeseables en carnes rojas y especialmente en carne equina.

2. Objetivo y alcance

El presente trabajo evaluará la utilización de ácidos orgánicos en carcasas para disminuir el riesgo de desarrollo de microorganismos, en especial patógenos y su alcance es la aplicación en establecimientos frigoríficos comerciales equinos.

2.1 Objetivo general

Mejorar las condiciones higiénicas y sanitarias de matrices cárnicas de origen equino mediante la utilización de ácidos orgánicos.

2.2 Objetivos específicos

- Determinar qué tipo de ácidos pueden utilizarse en la matriz cárnica en estudio.
- Evaluar la acción de ácidos orgánicos seleccionados sobre la matriz en lo que respecta a disminución de la microbiota contaminante.
- Determinar efectos sobre microorganismos patógenos y alterantes.
- Evaluar posibles efectos o alteraciones sensoriales.
- Determinar metodologías y procedimientos de utilización.
- Analizar y evaluar la posible inclusión dentro de la normativa pertinente y uso en los manuales de aseguramiento de la calidad e inocuidad.

3. Motivo de elección de la temática propuesta

La elección de la temática propuesta se debe fundamentalmente a las razones descritas al comienzo de la Introducción. Adicionalmente, en particular quien lleva a delante este trabajo ha estudiado y profundizado en la temática realizando ensayos, sobre la utilización de los ácidos orgánicos y como afectan en el desarrollo microbiano de la carne equina. En esta línea es importante destacar que la Argentina es uno de los países de mayor producción y exportación de carne

equina hacia los mercados internacionales, los cuales cada vez requieren mayores controles y exigencias sanitarias.

B- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los microorganismos eventualmente presentes en la superficie de la carne son los responsables del deterioro, de este producto altamente perecedero, así como la presencia de organismos patógenos representa un alto riesgo para la salud pública. El desafío entonces de los sectores productivos e industriales, en la agroindustria de la carne, es tener sistemas y tecnologías efectivas y disponibles para mitigar e idealmente eliminar estos peligros para el consumidor. El uso y aplicación de ácidos orgánicos, como parte de estos sistemas y tecnologías, en particular en la industria frigorífica de carne es la hipótesis que se plantea para controlar el desarrollo microbiano descrito y resguardar adecuadamente la inocuidad de los productos de esta industria.

C- DESARROLLO

1. La matriz alimentaria seleccionada

1.1 Canales y carne equina como matriz experimental de estudio y análisis.

La carne está básicamente compuesta por agua, proteínas, lípidos, minerales y algunos carbohidratos. El contenido de proteínas y agua disminuye a medida que aumenta el contenido de grasa.

Las proteínas musculares se dividen en tres tipos:

- Miofibrilares: principalmente la miosina y la actina que proveen la estructura a la miofibrilla y la troponina y tropomiosina que actúan en la contracción del músculo.
- Sarcoplásmicas: son solubles en agua y comprende el 30 al 35% de las proteínas musculares. Incluye a la mioglobina, proteína que le da el pigmento natural – color, a la carne.
- Proteínas del estroma: principalmente colágeno que da la estructura al músculo.

Lípidos: La cantidad en el músculo es alta y depende del grado de gordura y la cantidad de tejido adiposo. Se puede encontrar dentro del músculo (intramuscular), entre los músculos (intermuscular) y por fuera de ellos (tejido adiposo)- (Toldra, 2007).

Los triglicéridos son el mayor componente del tejido graso. El contenido de ácidos grasos depende de la edad, alimentación y el entorno. Los fosfolípidos representan una menor cantidad pero tienen gran influencia en el desarrollo del sabor y la oxidación. La cantidad de estos depende del tipo genético y de la localización anatómica del músculo y es mayor en los músculos rojos oxidativos. En el Anexo 1, se describen tablas con la composición de la carne equina.

Metabolismo y calidad del músculo *Postmortem*

Luego de la muerte del animal, la glucosa es hidrolizada a ácido láctico por las enzimas glucolíticas a través de la vía anaeróbica lo cual se produce en todas las especies. Debido a la ausencia de la circulación sanguínea el ácido láctico se acumula en el músculo produciendo un descenso del pH a valores cercanos a 5,6 – 5,8 en unas pocas horas de haber cesado las funciones vitales (el *rigor mortis* comienza a valores de 5,7-5,8). Durante la primera fase del *rigor* (fase de retraso) el músculo todavía es extensible debido a que todavía hay ATP disponible para unirse con Mg lo que ayuda a desconectar los puentes cruzados de actina y miosina y hace que los músculos se relajen. El fosfato de creatina se agota en esta etapa que inhibe la fosforilación del ADP en ATP. Esto provoca una fuerte disminución en la concentración de ATP que da inicio a la fase de *rigor*. Debido a que hay poco ATP disponible para romper las uniones de actina y miosina, los músculos no pueden relajarse y por lo tanto se convierten en inextensibles. La velocidad del descenso del pH depende de la concentración de glucosa, temperatura del músculo y el status metabólico del animal previo a la faena (Toldra, 2007). La velocidad y el grado de descenso del pH tienen una gran incidencia en la calidad final de la carne. El estrés previo al sacrificio produce un descenso rápido del pH y la desaparición casi completa del ATP con el resultado de carnes pálidas, blandas y exudativas (PSE) en carnes de cerdos y aves de corral. Finalmente la carne oscura, firme y seca (DFD), presente en todas las especies, se produce en animales exhaustos en donde el glucógeno muscular se consume antes de la faena entonces la producción de ácido láctico es escasa con lo que

no hay una adecuada disminución del pH (6,4 – 6,8). Las carnes DFD son sensibles a la acción de los microorganismos y hacen difícil su conservación aun en refrigeración (Nychas y col., 2007).

2. Microbiota contaminante natural

2.1. Carcasas/canales

El proceso de faena frecuentemente contribuye con una contaminación de la superficie de las carcasas o canales con recuentos microbianos que van de 10^2 a 10^4 UFC/cm². Estos niveles de contaminación pueden ser reducidos mediante diversos procedimientos, desarrollados en la industria, especialmente enfocados en la reducción de patógenos. La línea media, el cuello y el cuarto trasero de la media res han sido relacionados con áreas frecuentemente contaminadas con esta microbiota natural (Galland, 1997).

Es generalmente aceptado que, en los animales sanos, los tejidos situados debajo del cuero no contienen microorganismos -se consideran estériles y en consecuencia las superficies de los músculos y tejidos asociados se pueden contaminar durante las diferentes etapas del proceso en la playa de faena (Nychas y col., 2007). Las fuentes de contaminación de la carne durante la faena se pueden clasificar básicamente como (Galland, 1997):

- Aquellas asociadas con el animal: una fuente importante de potencial contaminación de las canales es el contenido gastrointestinal. También pueden serlo la tierra adherida al cuero y los pelos, las moscas, los fluidos corporales- de mayor riesgo aún si están infectados, tales como orina, leche, sangre, moco, contenido ruminal o abscesos.
- Aquellas asociadas al procesamiento: la contaminación puede suceder en cualquier parte del proceso. Aunque las técnicas varíen, los pasos básicos son similares. Desuello y evisceración son procedimientos que pueden depositar organismos de origen fecal en las carcasas. Los intestinos de los animales contienen un gran número de microorganismos con niveles de *E. coli* usualmente mayores a 10^5 UFC/g, y entre estos microorganismos pueden encontrarse patógenos productores de Enfermedades de Transmisión Alimentaria, ETA tales

como *E. coli* O157:H7, *Salmonella spp* y *Campylobacter*. También la superficie de los cueros son fuente importante de contaminación con niveles de 3,5 a 12,5 log₁₀ UFC/cm².

- Aquellas asociadas a las instalaciones: las buenas prácticas de saneamiento y la prevención del contacto de la carcasa con superficies fuera del protocolo reduce el riesgo de contaminación
- Aquellas asociadas a los manipuladores: los hábitos de higiene no adecuados son uno de los mayores causantes de contaminación cruzada. Debido a esto, las buenas prácticas higiénicas son altamente incidentes en la disminución del riesgo de contaminación por parte de los manipuladores. (Tabla 1)

Tabla 1. Recuento de microorganismos en canales y carne picada (Adaptado de Huffman, 2002)

Microorganismos	Unidad de medida	Bovino UFC/cm ²	Cerdo UFC/cm ²	Equino Log UFC/cm ²
Recuento de aerobios en placa	UFC/g o cm ²	475 - 1130	4900	400-1000
Coliformes totales	UFC/g o cm ²	35 - 40	77	25-40
<i>E. coli</i> genérico	UFC/g o cm ²	33 - 35	76	30-35

2.2. Cortes de carne

El crecimiento microbiano en el tejido muscular y adiposo

En los tejidos musculares comestibles de los animales sanos antes de su procesamiento, los microorganismos contaminantes se encuentran generalmente solo en la superficie de los mismos. Por lo tanto, el deterioro es generalmente una consecuencia del crecimiento microbiano que sigue a la unión-adherencia de células microbianas y posterior colonización de superficies musculares. Dos etapas están involucradas en la formación de biofilms tanto en superficies bióticas como abióticas. La primera es una débil unión reversible que puede ser debido a fuerzas de van der Waals u otros factores fisicoquímicos. Otro de los factores que influyen en este tipo de adhesión es el número de bacterias en la fase acuosa. La segunda etapa consiste en una unión irreversible de las células a las superficies y formación de biofilms que implica la producción de una matriz

de polisacárido extracelular llamada glicocalix (Tarver, 2009). Factores como características de las superficies, propiedades de los sustratos, etapa fisiológica, características de la superficie celular y motilidad celular pueden tener influencia en la adherencia y el crecimiento bacteriano en las superficies (Nychas y col., 2007).

Las asociaciones microbianas en tejidos musculares almacenados en condiciones aeróbicas a temperaturas de refrigeración se caracterizan por un metabolismo oxidativo. Las bacterias Gram negativas que alteran la carne son o bien aerobios o anaerobios facultativos. *Pseudomonas*, *Shewanella putrefaciens* y *Photobacterium phosphoreum* resultan ser las especies dominantes en tejidos musculares almacenados a bajas temperaturas (Masana y rodíguez, 2006; Lasta y col., 1995). El proceso de deterioro del tejido adiposo es similar a la del tejido muscular, sin embargo, y tal cual se mencionó, se utiliza de una manera más eficiente cuando se emulsiona y hay una fase acuosa presente. Debido a que las enzimas lipolíticas no son producidas por los microorganismos hasta que se agotan los hidratos de carbono, el deterioro del tejido graso no depende únicamente de la capacidad de producción de lipasas. Cuando la glucosa está presente en el musculo en concentraciones mayores de 0,1 mg/gr el deterioro se retrasa hasta que los valores de la microbiota de deterioro son de alrededor de 10^8 UFC/cm². Si poco o nada de glucosa está presente en los tejidos, el deterioro se presenta con recuentos de 10^6 UFC/cm² (Nychas y col., 2007).

Mientras que el proceso de deterioro y la tasa de crecimiento de las bacterias son similares en los tejidos muscular y adiposo, la producción de olores está asociado con recuentos más bajos de bacterias en el tejido adiposo donde la mayoría de la glucosa disponible se agota cuando las poblaciones llegan a $>\log_6$ UFC/cm². Además de contener menos concentraciones de hidratos de carbono, el tejido adiposo tiene menos ácido láctico y por lo tanto el pH de la superficie es mayor. Como resultado de esta situación el deterioro del tejido adiposo ha sido comparado con el de las carnes DFD y puede implicar el crecimiento de *Shewanella putrefaciens* (Nychas y col., 2007).

Tal cual se señaló, el crecimiento microbiano se produce en la fase acuosa que rodea el producto (superficie externa) por lo que las profundidades de la matriz muscular se consideran estériles. Esto es debido que, aun microorganismos altamente proteolíticos no son capaces de afectar al endomisio (Gill y Penny, 1988). Las concentraciones de

carbohidratos, especialmente glucosa y glucógeno, en la carne *post-rigor* son bajas comparado con las proteínas, disponibles en cantidad suficiente para soportar el crecimiento de un gran número de microorganismos (Tabla 2) (Nychas y col., 1988). Luego del consumo de la glucosa, la microflora comienza a utilizar aminoácidos como fuente de energía con la consecuente producción de compuestos volátiles, responsables de los cambios de olor (pútridos) de la carne (Gill, 1976; Nychas y col., 1988)

Algunas bacterias, incluidas las del género *Pseudomonas*, producen amoníaco como producto del metabolismo de aminoácidos. Los microorganismos Gram negativos que predominan durante la contaminación aeróbica de la carne, son responsables generalmente por la producción de olores pútridos y sulfurosos.

Son numerosos los factores que influyen en el tipo y tasa de crecimiento microbiano en los productos cárnicos, los cuales se pueden dividir en:

- Intrínsecos: contenido de nutrientes, pH, actividad acuosa, potencial redox
- Extrínsecos: temperatura, humedad, tensión de oxígeno

Tabla 2. Principales componentes de bajo peso molecular en carne bovina pre y post *rigor* (Adaptada de Nychas y col., 2007)

Componente	Concentración pre rigor (mg/gr)	Concentración post rigor (mg/gr)
Creatina fosfato	3.0	-
Creatinina	4.5	6.5
Adenosina trifosfato	3.0	-
Inosina monofosfato	0.2	3.0
Glucógeno	10.0	1.0
Glucosa	0.5	0.1
Glucosa 6 fosfato	1.0	0.2
Acido láctico	1.0	9.0
pH	7.2	5.5
Aminoácidos	2.0	3.5
Carnosina, Arserina	3.0	3.0

Los sustratos de crecimiento bacteriano más importantes son la glucosa, glucosa-6-fosfato, ácido láctico y aminoácidos. Todas las bacterias de relevancia como deteriorantes de la carne muestran una preferencia por la glucosa. El indicio de ello es que la síntesis de enzimas bacterianas proteolíticas queda reprimida hasta el agotamiento de los componentes solubles de menor peso molecular y más rápidamente asimilables en el músculo (Greer, 1988). Debido a esto la desnaturalización de las proteínas musculares se produce luego de un prolongado almacenamiento donde la concentración bacteriana excede los 7 log UFC/gr de carne (Gómez y Lorenzo, 2012).

2.3. Vida útil y microbiología

La vida útil puede definirse como el periodo de tiempo que un producto puede ser almacenado sin ser sensorialmente inaceptable o que constituya un riesgo para la salud del consumidor. La durabilidad (vida útil) de la carne tiene directa relación con el valor de pH presente en la misma. En la carne *post mortem*, este parámetro está en función de la cantidad de ácido láctico producido a partir del glucógeno durante la glucólisis anaeróbica. Cuando el pH final de la carne se sitúa en valores que oscilan entre 6 – 6,5, y debido a que el pH óptimo para el desarrollo bacteriano se encuentra entre los valores de neutralidad, se deduce que este tipo de carnes estará más predispuesta a la acción microbiana.

La actividad de agua (a_w) es otro factor importante que condiciona el crecimiento. La carne fresca tiene un a_w de 0.99 y por lo tanto muy susceptible a la acción de las bacterias. La humedad es otro factor condicionante ya que el desarrollo bacteriano es diez veces mayor cuando la carne está húmeda que la almacenada en seco a temperatura de 2-3°C (Lawrie, 1977; Prandl y col., 1994). La temperatura es quizás el factor ambiental principal que influye en el crecimiento de las bacterias sobre la carne. Las especies psicrótrofas, como *Pseudomonas* spp y enterobacterias, son las que prevalecen en carne envasada a temperaturas de refrigeración (0-4 °C). El almacenamiento de la carne a bajas temperaturas retrasa el crecimiento bacteriano extendiendo así su vida útil. (Ver Anexo 2).

La tensión de oxígeno influye también por la prevalencia del tipo de microorganismo. En condiciones de aerobiosis los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella* y *Flavobacterium* exhiben un desarrollo superior, mientras que en las carnes envasadas al

vacío y en atmósfera modificada prevalecen las bacterias lácticas y *Brochothrix thermosphacta* que inicialmente representan un bajo porcentaje de microflora inicial pero que progresivamente se constituye en el 70-90% de la población final. (Rodríguez y col. 2000; Prandl y col., 1994).

De los numerosos métodos de conservación para extender la vida útil de la carne, la refrigeración es el método más importante en la industria, sin embargo en la carne fresca refrigerada pueden desarrollar microorganismos alternantes tales como *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Aeromonas*, *Enterobacterias*, *Brochothrix thermosphacta*, *Lactobacillus*, *Staphylococcus*, *Carnobacterium* y *Leuconostoc* (Aymerich y Hugas, 1998).

El envasado al vacío es uno de los métodos más comunes en modificar el ambiente interno del envase y es muy utilizado por la industria cárnica. La extensión de la vida útil de la carne envasada al vacío radica en los cambios que se producen en las concentraciones de O₂ y CO₂ dentro del envase generándose de esta manera una selección microbiana. Se inhibe el crecimiento de microorganismos aerobios (principalmente *Pseudomonas*), favoreciendo el desarrollo principalmente de *Lactobacillus* aunque *Brochothrix thermosphacta*, puede también desarrollar si inicialmente estaba presente (Rodríguez y col., 2000). De esta forma se prolonga la vida comercial del productos en forma considerable; ha sido reportado que puede ser entre un 50% y 400% (Garriga y col., 1996).

Tabla 3. Análisis microbiológico y pH de *Longissimus dorsi* envasado al vacío refrigerado para extensión de su vida útil (Adaptada de Rodríguez R. y col., 2000).

Almacenamiento (días)	Análisis Microbiológicos					pH	
	RCT	RP	RBt	RL	RE	superficie	profundidad
0	2.58	1.92	1.67	1.67	1.02	5.45	5.4
30	6.17	4.46	2.44	5.29	2.15	5.35	5.54
60	6.10	5.19	3.43	4.76	2.52	5.26	5.51
90	6.98	4.29	1.95	5.56	2.45	5.07	5.34

RCT: Recuento colonias totales
 RP: Recuento *Pseudomonaceae*
 RBt: Recuento *Brochothrix thermosphacta*
 RL: Recuento *Lactobacillaceae*

RE: Recuento *Enterobacteriaceae*

2.4. Organismos patógenos relevantes y ensayos de desafío

La importancia de la carne y productos cárnicos como vehículos de agentes patógenos es bien conocida. Los agentes patógenos tales como *Salmonella* spp, *Escherichia coli* O 157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium perfringens* entre otros, no son infrecuentes como contaminantes en la carne y productos cárnicos (Algino y col., 2007).

El pH generalmente bajo y altos niveles de glucosa en la carne equina han llevado a pensar que la calidad de almacenamiento debe ser adecuada en general, asumiendo que la contaminación microbiológica está bien controlada durante su preparación. El supuesto entre los consumidores de carne equina cruda de que la misma es libre de patógenos si el animal ha sido correctamente cuereado no es válida ya que la contaminación con *Salmonella* spp. y *Yersinia enterocolitica* puede estar presente (Gill, 2005).

De importancia primordial para la industria de la carne roja es *E. coli*, bacteria que habita normalmente en los intestinos del hombre y animales de sangre caliente. Su presencia es indicador de contaminación de los alimentos con materia fecal. Por su impacto a nivel de salud pública y comercio internacional, será descrito con un grado de detalle relevante a los objetivos del trabajo.

Tabla 4. Clasificación de *E. coli* patógeno según mecanismo para producir enfermedad (Adaptado de Michanie, 2003):

Tipo o Grupo	Símbolo
<i>E. coli</i> enteropatógenos	ECEP
<i>E. coli</i> enteroinvasivos	ECEI
<i>E. coli</i> productores de toxina Shiga o enterohemorrágicas	ECST (STEC) ECEH
<i>E. coli</i> enterotóxicos	ECET
<i>E. coli</i> de adherencia difusa	ECDA
<i>E. coli</i> enteroadherentes/ enteroagregativas	ECEA

A cada uno de estos grupos pertenecen varios serotipos. *E. coli* O157:H7 pertenece al grupo de las ECST (STEC, en la sigla en inglés). Las ECET son también conocidas como las causantes de la diarrea del turista.

Tabla 5. Parámetros que regulan el desarrollo de *E. coli* (Adaptado de Michaine, 2003).

	Mínima	Óptima	Máxima
Temperatura °C	7-8	35-40	44-46
pH	4.4	6-7	9
Actividad de agua	0.95	0.995	

E. coli O157:H7 ó *E. coli* O157 –no móvil- pertenece al grupo de *E. coli* enterohemorrágico, sin ser la única variedad serológica que integra el grupo. Otras cepas enterohemorrágicas que han afectado en varios países son las serovariedades O26:H11, O111:H8, O103:H2, O113:H21 y O104:H21 (Michanie, 2003). Los rumiantes, y en particular los bovinos, son el reservorio más importante de STEC/VTEC. Estos organismos no han sido reportados en carne o productos cárnicos equinos (Gill, 2005).

Los niños menores de 5 años y los adultos de la tercera edad son en general los grupos más vulnerables a la enfermedad por STEC. La dosis requerida para enfermar parecer ser del orden de 10 a 100 células por gramo o centímetro cúbico. Se produce diarrea acuosa o usualmente con sangre, dolores abdominales severos, náuseas y vómitos, y a veces fiebre. La colitis hemorrágica puede derivar en una falla aguda del riñón o en Síndrome Urémico Hemolítico (SUH) en el 5 % de los infectados. Del 3 a 5 % de los pacientes que padecen SUH pueden sufrir la muerte. Los que consiguen recuperarse padecen fallas renales, complicaciones neurológicas y otras secuelas por mucho tiempo. En Argentina, se ha informado que hay al menos entre 300 y 350 casos de SUH por año en niños menores de 5 años. (Rivas y col., 2006; Rivero y col., 2004).

Alimentos involucrados: han estado involucrados en brotes la carne bovina picada insuficientemente cocida, hamburguesas, “roast beef”, agua de pozos (en los que percoló la bacteria), agua de piletas de natación, jugo de manzana no pasteurizado (pH 3,5), brotes de rabanitos (Japón), yogur, vegetales crudos (brotes de alfalfa), salame, lechuga, quesos, leche cruda y otros. La carne bovina fue el alimento involucrado con mayor

frecuencia en brotes en los EE.UU., y las hamburguesas poco cocidas el alimento más frecuente (Michanie, 2003).

Las informaciones publicadas sobre la microbiología y otras cualidades de la carne equina son limitadas. Sin embargo la información disponible indica que las cualidades intrínsecas de los músculos del caballo en general impiden su temprano desarrollo microbiano, ya sea aeróbica como anaeróticamente cuando el número de bacterias inicial es bajo. Sin embargo según otras publicaciones la contaminación con *Salmonella* y *Yersinia enterocolitica* es muy factible de aparecer (Gill, 2005).

Se han desarrollado modelos matemáticos para predecir los efectos de la temperatura, la a_w , el pH y el CO_2 en el crecimiento y supervivencia de las bacterias alteradoras y patógenas. Sin embargo la aplicación de estos se utiliza como una herramienta de gestión para la predicción de la vida útil y la seguridad, así como una herramienta científica para comprender mejor el deterioro de los alimentos (Nychas y col., 2007).

La incidencia de *Salmonella* spp, *Listeria* spp y *L. monocytogenes* en carne equina para consumo humano ha sido investigado. Muestras de carne equina congelada de establecimientos faenadores de Brasil han sido analizadas por un período de un año. De las muestras analizadas el 18,2 % resultaron positivas a *Listeria* spp y un 7,4% resultaron positivas a *L. monocytogenes*. Ninguna muestra dio positiva a *Salmonella* spp (Assis y col., 2000).

2.5 Adherencia bacteriana en carne

Aunque los alimentos de base muscular pueden ser contaminados por una amplia gama de microorganismos, su deterioro es causado en general por un mínimo de ellos que se convierten en dominantes a través de la selección durante el almacenamiento y una asociación microbiana dada. Almacenamientos de la carne en condiciones aeróbicas a bajas temperaturas y con humedad relativamente alta es un factor selectivo para *Pseudomonas*. Bacterias Gram positivas (bacterias ácido lácticas y *Brochothrix thermosphacta*) y Gram negativas (*Photobacterium phosphoreum* y *S. putrefaciens*) desarrollan en pescado refrigerado y carnes envasadas en atmósfera modificada (Nychas y col., 2007).

Como vimos anteriormente son dos las etapas involucradas en la adherencia de las bacterias en superficies bióticas o abióticas. La primera y más débil es una unión reversible que puede ser debida a fuerzas de van der Waals u otros factores fisicoquímicos. Uno de los factores que influyen en este tipo de adhesión es el número inicial de microorganismos (Anexo 3). La segunda etapa consiste en una adhesión irreversible de las células a la superficie con la consiguiente formación de una biopelícula -biofilm y producción de una matriz de desarrollo llamada glicocalix. Características de la superficie, propiedades del sustrato, etapa fisiológica y características de la superficie celular también pueden influenciarlo (Tarver, 2009). Las diferencias en las tasas de unión de ciertas cepas bacterianas puede influir en la composición de la microbiota inicial, por ejemplo, *Pseudomona* ha sido reportado de unirse más rápidamente a superficies de la carne de lo que lo hacen otras bacterias alterantes (Rodríguez, 2012).

Las asociaciones microbianas en desarrollo, en tejidos musculares almacenados aeróbicamente o a temperaturas frías se caracterizan por un mecanismo oxidativo. Las bacterias Gram negativas que alteran la carne son, o bien aerobios o anaerobios facultativos. *Pseudomonas*, *Shewanella putrefaciens* y *Photobacterium phosphoreum* resultaron ser las especies dominante en el tejido muscular almacenado a temperaturas de refrigeración (Nychas y col., 2007).

3. Características de la carne equina

3.1. Estudios en carne equina

El uso de caballo como fuente de carne ha sido cuestionado en términos de calidad de alimentos a pesar de su valor nutritivo, bajo costo y bajo contenido en grasa en comparación con otras carnes.

Los ácidos grasos poliinsaturados (AGPI) y monoinsaturados (AGMI) tienen valores nutricionales y de salud beneficiosos. Contribuyen a una reducción en la aparición de enfermedades vasculares, carcinoma de cuello uterino y enfermedades inmunológicas. El colesterol es un componente importante de las membranas celulares y precursor de hormonas esteroideas, ácidos biliares y vitamina D.

Estudios realizados evidencian que la carne de caballo tiene concentraciones de colesterol más bajo que la carne de otras especies. Desde el punto de vista nutricional es una buena fuente de proteína y con bajos contenidos de lípidos totales lo que lo hace recomendado para dietas saludables (Tonial, 2009) (Anexo 1).

La carne equina es una valiosa fuente de P, Fe, Zn, Cu y Mg (231, 3.89, 3.72, 0.20 y 28.9 mg/100 gr de porción comestible, respectivamente) (Badiani, 1997).

En comparación con la carne de vacuno, la carne equina tiene un gran porcentaje de grasa subcutánea y bajo porcentaje de grasa inter e intramuscular, lo que la convierte en una carne magra (Tonial y col., 2009).

Estudios revelan que la carne equina tiene similares niveles de proteína (21,1 vs 20 %) y bajos niveles de grasas (6 vs 14 a 16%) comparados con la carne vacuna y de cerdo. También contiene mayores niveles de ácido palmítico y linoleico (Lee y col., 2007).

4. Ácidos Orgánicos

4.1. Clasificación

Los ácidos orgánicos se clasifican en:

- Monocarboxílicos o monobásicos: son los formados por un grupo carboxilo y son los que mayor poder oxidante tienen. Ejemplos son, fórmico, acético, butírico.
- Dicarboxílicos o bibásicos: tienen en su composición dos grupos carboxilos. Ejemplos son: oxálico, malónico, glutárico.
- Polibásicos: son los que poseen más de dos grupos carboxilos. Ejemplos es: sulfúrico.
- Mixtos: son los que poseen otros grupos como el alcohol o enlaces dobles.
- Grasos: son los que poseen muchos carbonos en su estructura y provienen de las grasas y los aceites vegetales.

4.2. Mecanismo de acción

La eficacia antimicrobiana de ácidos orgánicos está relacionada con el pH, y la forma no disociada del ácido es principalmente responsable de la inhibición de los microorganismos. Por lo tanto en la elección de un ácido orgánico como uso de aditivo antimicrobiano en alimentos, tanto el pH del producto como el pKa (que es la fuerza que tienen las moléculas para disociarse) del ácido deben tenerse en cuenta. La forma no disociada del ácido puede penetrar la membrana lipídica de las células con mayor facilidad. Una vez dentro de la célula el ácido se disocia porque el interior de la célula tiene un pH más alto que el exterior (Davidson y Taylor, 2007).

Las bacterias generalmente mantienen un pH interno cercano a la neutralidad para evitar cambios conformacionales de las proteínas estructurales, enzimas, ácidos nucleicos y fosfolípidos. Los protones generados a partir de la disociación intracelular del ácido orgánico acidifican el citoplasma y deben ser eliminados al exterior. De acuerdo a la teoría quimiostática, la membrana citoplasmática es impermeable a los protones y deben ser transportados al exterior. Esta extrusión de protones crea un potencial electroquímico a través de la membrana llamada “fuerza protomotiva” (PMF). Esta perturbación de la función de la membrana por los ácidos orgánicos da lugar a un mecanismo inhibitorio afectando gravemente a su metabolismo, ya que afecta al gradiente de protones y de carga con el exterior, e interfiere con los sistemas de transporte de aminoácidos y fosfatos. Además, muchas enzimas esenciales para el metabolismo microbiano se inactivan a pH ácidos.

Ácido acético: pKa de 4,75. Es el componente primario del vinagre y sus sales son algunos de los componentes antimicrobianos más antiguos en los alimentos. Solo especies de *Acetobacter*, bacterias ácido lácticas y butíricas son resistentes. Las bacterias inhibidas por este ácido incluyen: *Bacillus* spp, *Campylobacter jejuni*, *Clostridium* spp, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Pseudomonas* spp, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*. Levaduras y mohos sensibles incluyen los géneros: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Rhizopus* y algunas cepas de *Saccharomyces* (Davidson y Taylor, 2007).

Ha demostrado un éxito variable como antimicrobiano en alimentos. Puede aumentar la vida útil en productos de aves de corral cuando se añade en agua fría en cortes de

pollos. La adición de ácido acético al 0,1% en tanques de escaldado disminuye la resistencia al calor en *Salmonella entérica* y *C. jejuni*. (Davidson y Taylor, 2007).

Ácido Láctico: pKa 3,79. Es producido naturalmente durante la fermentación de los alimentos por las bacterias ácido lácticas (BAL). Este y sus sales actúan como agentes antimicrobianos, agentes de control de pH y de aromas en los productos alimenticios y en algunos casos extiende la vida útil. Es uno de los ácidos con mayor distribución en la naturaleza y el más empleado con fines preservantes. Las bacterias inhibidas por este incluyen: *Clostridium botulinum*, *Clostridium sporogenes*, *L. monocytogenes*, *Salmonella*, *S. aureus*, *Y. enterocolítica* y *E.coli* (Davidson y Taylor, 2007).

4.3 Utilización para la descontaminación de canales

La utilización de ácidos orgánicos en el lavado final de la media res y antes del enfriamiento es el método más utilizado y el aprobado por los organismos de control en Estados Unidos (EFSA, 2011). Generalmente es en forma de spray o nebulización en concentración UFC/g o cm²es que varían del 2,5 al 5% y generalmente se utilizan en soluciones a temperatura de 55°C (Davidson y Taylor, 2007).

Estudios demuestran que la mayor reducción en el recuento de colonias aerobias mesófilas y psicrótrofas en canales de pollo se encuentra sobre todo en los tratados después del desplume y las más bajas en los tratados después de la refrigeración. El recuento de enterobacterias fue más marcadamente reducido cuando la descontaminación se aplicó luego de la evisceración (Van der Marel, 1987). En cuanto al tiempo de preservación de las canales, se observa un aumento en el tiempo de durabilidad en las canales tratadas llegando a niveles de deterioro crítico (7-8 log₁₀) no antes de los 18 a 22 días en comparación con las canales control llegando a ese nivel a los 7 días aproximadamente (Van der Marel, 1987).

El ácido acético ha demostrado una eficacia variable como antimicrobiano de desinfectante de aerosol en las canales de carne. El uso de ácido acético al 2% dio lugar a reducciones variables de *E. coli* O157:H7 después de 7 días a 5°C. En las canales de cerdo y vacuno también se ha evidenciado que la combinación de vapor y ácido láctico reduce el recuento microbiano inmediatamente después del tratamiento y

produce un retardo en el crecimiento durante el almacenamiento en refrigeración (Pipek et al, 2006, 2005).

En estudios realizados sobre aplicación de spray de soluciones de ácido láctico al 2 % en carcasas de ovejas se observó una reducción muy significativa en el número de coliformes y *E. coli* y se concluyó que su aplicación inmediatamente después de la faena incrementa la vida útil, reduce los microorganismos patógenos y contribuye a una mejora en la salud pública (Beyaz, 2010).

4.4 Utilización en cortes de carne

La utilización de ácidos puede aumentar la vida útil de carne de pollo cuando se utiliza adicionado al agua fría en que se colocan las piezas de pollo a un pH de 2,5. También la adición al 0,1% a los tanques de escaldado utilizado en los procesamientos de aves disminuye la resistencia al calor de *Salmonella* enterica serovares Newport y Typhimurium y *C. jejuni* (Davidson y Taylor, 2007).

Ensayos de laboratorio indican también que la utilización de ácidos orgánicos en cortes mayoristas y minorista son eficaces, en los cuales se encontró reducción significativa de *E. coli* en filetes de costilla bovina tratados por inmersión en solución de ácido acético (Theron y Lues, 2007).

4.5 Utilización en productos cárnicos

Los ácidos y sus sales han demostrado reducir el desarrollo de *Clostridium botulinum*, *Clostridium sporogenes*, *L. monocytogenes*, *Salmonella*, *S. aureus* en varios productos cárnicos como salchichas, mortadelas, jamones y salmón ahumado. También la descontaminación con ácido láctico al 1-2% a pH 2, cuando se aplica poco antes de la refrigeración, mejora notablemente la seguridad bacteriana y aumenta el tiempo de conservación en refrigeración de canales de pollos (Van del Marel y col., 1987). El ácido acético es el antimicrobiano más eficaz contra *E. coli* O157:H7 en carne bovina picada y rostizada en comparación con los ácidos cítricos y lácticos de acuerdo a Davidson y Taylor- (2007).

5. Efectos de la aplicación de ácidos orgánicos sobre las características organolépticas o alteraciones sensoriales.

A pesar de una considerable cantidad de investigaciones ya realizadas sobre la eficacia antimicrobiana de los ácidos orgánicos, hay pocos datos sobre los efectos en las prácticas comerciales y los informes limitados de ensayos en los que los ácidos orgánicos han sido aplicados directamente a los productos de venta al por menor.

Los estudios no han evidenciado cambios organolépticos notables en la utilización de ácidos orgánicos como láctico, acético utilizados como spray o nebulización de las carcasas bovinas y porcinas antes del enfriamiento, sin embargo la utilización directa sobre cortes de carne pueden causar cambios irreversibles sobre la apariencia. (Theron y Lues, 2007).

6. Ácido láctico

Es el principal metabolito producido por las bacterias ácido lácticas homofermentativas. Es uno de los ácidos con mayor distribución en la naturaleza y el más empleado como preservante (Hugas, 1993). El ácido y sus sales actúan como antimicrobianos, agentes de regulación del pH y como aromatizante en productos alimenticios. Es incoloro, no volátil, muy soluble en agua y con un pKa de 3,857.

6.1. Concentraciones

En la mayoría de los casos los spray o nebulizaciones de ácido láctico a concentraciones entre 0,2 a 2,5% ha resultado efectiva descontaminante de canales de cerdo, vacuno y pollo incrementando la estabilidad microbiológica de las carnes envasadas al vacío. La combinación de tratamiento con vapor de agua seguido de pulverización con una solución de ácido láctico al 2% aplicado en canales bovinas en el extremo de la línea de faena reduce de forma inmediata los recuentos microbianos de superficie y retrasa el crecimiento durante el almacenamiento en frío. El efecto es mayor sobre canales contaminadas (Pipek y col., 2005). También el mismo método de aplicación en canales porcinas produjo en mismo efecto y fue más visible que en las canales de bovinos (Pipek y col., 2006).

6.2. Acción del ácido láctico sobre el desarrollo microbiológico.

La descontaminación de las canales bovinas con vapor y ácido láctico reduce de forma inmediata los recuentos microbianos de superficie y retarda el crecimiento microbiano durante el almacenamiento. (Pipek y col., 2005). (Anexo 4).

Mezclas de lactato de sodio o calcio (1,25 a 6%) y diacetato de sodio (0,25 a 5%) han demostrado ser eficaces en el control del desarrollo microbiológico en carnes y productos de mar. Los compuestos en combinación fueron capaces de reducir los recuentos totales de 1,5 a 2,5 log UFC después de 2 a 3 semanas de almacenamiento. (Davidson y Taylor, 2007).

Estudios realizados en carcasas de pollo evidencian que es mayor la reducción del recuento de mesófilos aerobios y psicrotrofos cuando el tratamiento con ácido láctico se realiza luego del desplume comparándolo con el más bajo que es luego de la refrigeración. Reducciones de \log_{10} 5,2 a \log_{10} 3,7 se evidencian en tratamientos después del desplume con ácido láctico en concentraciones de 1 al 2% en el recuento de colonias aerobias mesófilas. En cuanto al recuento de colonias de enterobacterias se evidencio mayor eficacia los tratamientos luego de la evisceración con disminuciones de \log_{10} 4,2 a \log_{10} 3,0. Luego de su almacenamiento los productos tratados con ácido láctico aumentaron su vida útil en refrigeración llegando hasta recuentos de 7-8 \log_{10} a los 18 a 22 días de su refrigeración (Van der Marel y col, 1988). Ver Tabla 6 -7

Tabla 6. Efecto de la descontaminación de las canales de pollo con ácido láctico (Adaptado de Van der Marel, 1988)

Ácido Láctico (%)	Colonización en \log_{10} /gr en piel de pollo descontaminada							
	Después del desplume				Después de la evisceración			
	1	2	3	4	1	2	3	4
0	5.2 ± 0.4	3.9 ± 0.4	3.3 ± 0.2	≤ 1.8	5.8 ± 0.3	4.0 ± 0.1	4.2 ± 0.3	4.0 ± 0.2
1	3.7 ± 0.3	2.8 ± 0.2	2.6 ± 0.4	≤ 1.8	4.9 ± 0.3	3.0 ± 0.3	3.0 ± 0.2	2.2 ± 0.4
2	3.7 ± 0.6	2.7 ± 0.5	2.5 ± 0.2	≤ 1.8	4.9 ± 0.5	3.3 ± 0.4	3.0 ± 0.2	≤ 1.8

	Después del enfriamiento				Triple tratamiento			
	1	2	3	4	1	2	3	4
0	5.4 ± 0.2	4.2 ± 0.2	4.2 ± 0.2	≤ 1.8	5.7 ± 0.3	4.3 ± 0.5	4.5 ± 0.6	≤ 1.8
1	5.1 ± 0.4	3.5 ± 0.4	3.8 ± 0.5	≤ 1.8	NT	NT	NT	NT
2	4.8 ± 0.5	3.2 ± 0.4	3.3 ± 0.4	≤ 1.8	4.5 ± 0.3	3.1 ± 0.5	3.0 ± 0.4	≤ 1.8

1= Mesófilos aerobios

2= Psicrotrofos

3= Enterobacterias UFC

4= *Staphylococcus aureus* UFC

NT= no tratadas

±= desviación estandar

Tabla 7. Efecto de la descontaminación con ácido láctico al 1% y 2% después del enfriamiento. Canales de pollo (Adapatado de Van der Marel, 1988).

Concentración de ácido láctico (%)	Recuento de mesófilos aerobios en log ₁₀ /gr por días de refrigeración						
	0	7	11	15	18	22	25
0	5.4 ± 0.2	5.6 ± 0.4	6.7 ± 0.7	8.3 ± 0.3	8.9 ± 0.3	nt	nt
1	5.1 ± 0.4	4.5 ± 0.4	4.6 ± 0.3	5.3 ± 0.7	7.2 ± 0.5	8.1 ± 0.3	8.5 ± 0.4
2	4.8 ± 0.5	4.6 ± 0.4	4.3 ± 0.3	5.5 ± 0.8	5.8 ± 1.0	7.5 ± 0.9	8.5 ± 0.4
Concentración de ácido láctico (%)	Recuento de picrotrofos en log ₁₀ /gr por días refrigeración						
	0	7	11	15	18	22	25
0	4.2 ± 0.2	4.0 ± 0.5	6.8 ± 0.5	8.4 ± 0.4	8.9 ± 0.4	nt	nt
1	3.5 ± 0.4	2.9	4.3 ± 0.6	5.4 ± 0.7	7.2 ± 0.5	8.2 ± 0.3	8.6 ± 0.3
2	3.2 ± 0.4	3.7 ± 0.8	3.9 ± 0.7	5.1 ± 0.9	5.7 ± 0.9	7.7 ± 1.0	8.1 ± 0.5
Concentración de ácido láctico (%)	Recuento de UFC de Enterobacterias en log ₁₀ /gr por días de refrigeración						
	0	7	11	15	18	22	25
0	4.2 ± 0.2	4.0 ± 0.5	3.8 ± 0.4	3.9 ± 0.4	4.6 ± 0.5	nt	nt
1	3.8 ± 0.5	2.9 ± 0.7	3.5 ± 0.4	3.1 ± 0.7	3.5 ± 0.8	3.3 ± 0.6	3.2 ± 0.5
2	3.3 ± 0.4	2.5 ± 0.2	2.4 ± 0.4	2.6 ± 0.6	2.4 ± 0.4	2.6	2.8 ± 1.0

6.3. Efectos sobre organismos alterantes y patógenos

Mezclas de lactato de sodio (2,5%) y acetato de sodio (0,25%) inhibieron el crecimiento de *L. monocytogenes* en jamón cocido y salchichas almacenadas por 5 semanas a

4°C. El ácido láctico causa la permeabilización de la membrana externa de *E. coli* O157:H7, *Pseudomona aeruginosa* y *S. typhimurium* (Davidson y Taylor, 2007).

Evaluaciones de estudios sobre la aplicación de ácido láctico previo al enfriamiento en carcasas fueron los siguientes: (EFSA, 2011)

- Reducciones de *Salmonella* en rangos que varían de 1,2 a 3,1 y 1,5 a 4,4 unidades en log₁₀.
- Reducciones de STEC/VTEC en rangos que varían de 0,2 a 2,6 y 1,2 a 5,2 unidades en log₁₀
- Reducciones de Enterobacterias en rangos que varían de 0,1 a 3,7 y 0,2 a 2,6 unidades en log₁₀

También hay evaluaciones realizadas en carcasas de ovejas con ácido láctico en concentraciones entre el 1 y 2% de las cuales se obtuvieron los siguientes resultados (Tablas 8 y 9):

Tabla 8. Números de microorganismos examinados entre reses control y reses tratadas con ácido láctico al 1% 30 min luego de la aplicación. (log UFC/cm²).

Microorganismos	Reses control (30 min)	Reses Tratadas (30 min)
TVC	4.99 ± 0.08	3.42 ± 0.12
Coliformes	3.08 ± 0.13	0.39 ± 0.11
<i>E. Coli</i>	2.36 ± 0.14	0.30 ± 0.09

Tabla 9. Números de microorganismos examinados entre reses control y reses tratadas con ácido láctico al 2% 30 min luego de la aplicación. (log UFC/cm²).

Microorganismos	Reses control (30 min)	Reses Tratadas (30 min)
TVC	5.03 ± 0.09	3.26 ± 0.10
Coliformes	2.98 ± 0.12	0.00 ± 0.00
<i>E. Coli</i>	2.23 ± 0.12	0.00 ± 0.00

6.4 Métodos de aplicación

Los métodos más utilizados de aplicación de los ácidos orgánicos son en forma de spray o nebulización. También se utilizan soluciones para inmersión.

6.5 Impacto Ambiental

Se estima que utilizando ácido láctico en concentraciones entre 2,5 y 5% hay unos 10 mg por litro de agua residual justo antes de entrar en el sistema de tratamiento de efluentes. La contribución de tales niveles de ácido láctico a la disminución del pH de las aguas residuales puede considerarse como despreciable. Dado que el ácido láctico es completamente biodegradable, esta concentración se reduce aún más, por lo tanto no se considera riesgoso su uso como posible contaminante ambiental (EFSA, 2011)

6.6 Implicancias toxicológicas

El lactato es una sustancia endógena y un componente natural de muchos alimentos, en particular frutas y productos fermentados. El ácido láctico está presente en una variedad de alimentos, como el yogurt que contiene 9 gr/kg, el queso tradicional 8 gr/kg, los embutidos crudos curados 9-15 gr/kg y la carne de res con un contenido de 1,4 a 5 gr/kg. La cantidad de ácido láctico que puede ser adsorbida desde el tratamiento puede ser estimada dentro de los 50 a 190 mg/kg, así la concentración de ácido láctico en la carne de vacuno no será mayormente afectado por los niveles residuales. Para los grandes consumidores de carne el consumo de la carne tratada correspondería a una ingesta diaria adicional de hasta 650 µg de ácido residual/kg de peso corporal/día en un adulto.

No hay datos toxicológicos proporcionados, en razón que el ácido láctico es un aditivo alimentario autorizado (E270) que se utiliza en una variedad de alimentos.

La cantidad de ácido láctico en sangre en el humano se estima en los 90 mg/l en estado de reposo. En base a esto el potencial de aumento de ácido láctico en el cuerpo después del consumo de carne tratada sería insignificante. (EFSA, 2011).

6.7 Normativas y regulaciones

Son varias las normativas y regulaciones que se fueron aprobando a lo largo del tiempo en base al uso de otras sustancias distintas del agua para eliminar la

contaminación. La base legal de la misma lo da el artículo 3 del Reglamento (CE) N° 853/2004.

La Unión Europea aprobó recientemente el uso de ácido láctico en las canales bovinas a través del Reglamento UE 101/2013 en el cual autoriza su empleo en canales enteras, medias reses y cuartos únicamente mediante pulverización o nebulización en concentraciones comprendidas entre el 2% y 5%. El ácido láctico debe cumplir las especificaciones establecidas en el Reglamento UE 231/2012 y en condiciones controlables y comprobables dentro de un sistema de gestión basado en los principios de HACCP.

7. Estudio experimental realizado con ácido láctico y carne equina

El estudio fue realizado en el año 2009 en un frigorífico elaborador de carne equina de la Argentina.

Los ensayos fueron realizados sobre recortes de carne extraídos en la despostada. Se consideraban cuatro muestras (recortes). El ensayo se repitió cuatro veces. En los recortes de carne se realizaba el muestreo con esponjas embebidas en agua peptonada. Luego a estos mismos cortes se le aplicaba mediante un rociador el ácido láctico en las diferentes concentraciones ensayadas (0,5%, 0,7%, 1%, 1,3% y sin tratar). Se dejaba actuar la solución aplicada durante 5 minutos y luego se volvía a tomar muestras mediante esponjado descripto antes. En el último ensayo realizado, por otra parte, se contaminó la muestra respectiva con material del contenido intestinal equino.

A la muestra en esponja se le adicionaba 10 ml de agua peptonada y se mezclaba en forma manual durante un minuto para que el diluyente tome contacto con toda la esponja. Se pipeteaba 1 ml del homogenato obtenido y se colocaba en placa de Petrifilm.

Las condiciones de incubación de las placas, para las determinaciones realizadas, fueron las siguientes:

Aerobios mesófilos: $30 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 72 ± 2 hs.

Enterobacterias: $30 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 24 ± 2 hs

E. coli: $35^\circ \pm 1^\circ\text{C}$ durante 48 hs ± 2 hs

Los resultados obtenidos indican que las concentraciones de ácido láctico que mostraron disminución de los recuentos fueron al 1% y al 1,3%. En las concentraciones de 0,5% y 0,7% no hubo variaciones entre las muestras control y las tratadas. En el último ensayo se contaminó las muestras con contenido intestinal (Anexo 5).

Del análisis de los resultados se observó que la solución de ácido láctico en concentración del 1% obtuvo un porcentaje de disminución de los recuentos de un 13% en promedio. La elevación de la concentración a nivel de 1,3% aumentó este porcentaje de disminución de los recuentos a un valor promedio del 60%. En el gráfico que se presenta en el Anexo 5, por otra parte, puede observarse además el porcentaje de disminución de aerobios mesófilos, enterobacterias y *E. coli*, en las muestras tratadas.

8. Análisis crítico del uso del ácido láctico en canales

El uso del ácido láctico en las canales ha sido evaluado largamente. Los estudios realizados en las diferentes instituciones de investigación a través de los últimos años han concluido que el mismo es útil tanto para el control del desarrollo de microorganismos patógenos como también de alterantes, prolongado de esta manera también la vida útil de los alimentos.

Más allá de los resultados, se debe tener en cuenta que la utilización de métodos de reducción de microorganismos patógenos y alterantes debe ser una herramienta en los sistemas de gestión de la inocuidad y consecuentemente un punto más en los manuales de HACCP y en el cual las buenas prácticas de manufactura debería ser siempre el punto primordial dentro de las industrias procesadoras de alimentos.

Debido a que el ácido láctico es un producto normal del metabolismo y que los residuos luego de su utilización se ha estudiado que no afectan o no ponen en riesgo

la seguridad alimentaria, debería implementarse como un método adicional de control y mejora de la inocuidad. Recientemente SENASA, ha aprobado el uso del ácido láctico para ser utilizado en la industria cárnica (SENASA, 2014), como “agentes de descontaminación de las superficies de las canales o carcasas, a aquellos elementos físicos (vapor de agua y vacío) o químicos (ácidos orgánicos diluidos) en su composición, condiciones, proporciones y métodos de aplicación aprobados por el SENASA, que tienen por objeto disminuir la carga bacteriana en todas las especies de faena permitida, pudiendo aplicarse luego del lavado y escurrido, previo al enfriado”. Esta modificación normativa ha quedado incorporada en el Capítulo I del Reglamento de Inspección de Productos, Subproductos y Derivados de Origen Animal aprobado por el Decreto N° 4.238.

9. Análisis crítico del uso del ácido láctico en cortes de carne y productos cárnicos

Se ha estudiado que el uso de ácido láctico y otros ácidos en cortes de carne prolongan la vida útil de los mismos. Esto es importante sobre todo en lo que respecta a los mercados en el exterior de carne enfriada ya que el tiempo que se pierden en los trasportes marítimos es considerable, quedando un margen muy chico de tiempo de venta al público. Además su uso también disminuye la proliferación de microorganismos psicrófilos que son los que sobreviven o perduran en las carnes refrigeradas.

10. Análisis del uso en carne equina

El uso de ácido láctico en carne equina no ha sido estudiado ni analizado extensamente como en otro tipo de carnes, quizás debido a que su consumo no está generalizado a nivel mundial e incluso en algunos países está prohibida su comercialización.

Teniendo en cuenta que la carne equina posee aspectos nutritivos y sanitarios diferentes a las otras carnes, el uso de ácido láctico como medida más de prevención

y control de microorganismos alterantes y patógenos sería de gran importancia para mejorar la inocuidad y vida útil del producto y el mercado de la carne equina a nivel mundial.

La inclusión del uso de ácidos orgánicos como una herramienta más en la mejora de la seguridad alimentaria y de la extensión de la vida útil del producto supone un incremento en las oportunidades comerciales de la carne equina a nivel mundial.

D – CONCLUSIONES

A pesar que grupos de consumidores están abogando por el uso de agentes preservantes en los alimentos, la industria y otros grupos de consumidores –a su vez, están también preocupados por los riesgos de la proliferación de los microorganismos patógenos en lo alimentos. Esto abre una línea para la aplicación de productos seguros como el ácido láctico en el marco de sistemas de aseguramiento de la inocuidad.

Se debe tener presente que aún bajo la aplicación de BPM y HACCP, puede esperarse algún grado de contaminación biológica en las canales de los animales de abasto y esto puede propender tanto al deterioro como a la introducción de peligros a la salud pública dependiendo de la microbiota contaminante presente. El uso de métodos de intervención que incluyan la aplicación de ácidos orgánicos, como el ácido láctico, pueden contribuir muy favorablemente a minimizar el riesgo de las situaciones descritas.

El uso de agentes antimicrobianos es una herramienta que la industria de la carne debe considerar para controlar el riesgo de la presencia de agentes alterantes y patógenos, prevenir la adherencia de los mismos y mejorar la inocuidad y calidad del producto final. Sin embargo, esta aplicación debe hacerse en el marco de un sistema de mejora de la inocuidad y respetando las normativas y regulaciones vigentes. La aparición de microorganismos emergentes, por otro lado, como fue el caso de *E. coli* O104H4 en la UE en el año 2011, nos debe poner una luz de alerta

y estar preparados con medidas y sistemas proactivos para asegurar la inocuidad a mercados y a consumidores cada vez más demandante en estos aspectos.

Como hemos visto durante todo este trabajo la aplicación de ácido láctico como método de intervención tiene muchas ventajas en la industria de la carne incluyendo la carne equina:

- Control del riesgo de presencia de agentes patógenos mejorando la inocuidad.
- Control del riesgo de presencia de agentes alterantes mejorando la calidad del producto final y la prolongación de su vida útil.
- Al ser un producto normal del metabolismo muscular no altera la composición de la carne y no altera sus características organolépticas.
- Las concentraciones a las cuales su utilización da resultados importantes en el control del desarrollo de microorganismos son bajas; esto es importante desde el punto de vista comercial y sobre su adición sobre el producto.

En base a la información analizada y según todos los estudios realizados considerados en este trabajo, puede decirse que no hay desventajas en el uso de ácido láctico en las condiciones prescritas. Se debe considerar, sin embargo, los costos iniciales de la implementación de los sistemas de aplicación y el costo de los insumos respectivos. Pero todo esto en realidad no puede entenderse como desventajas, sino como inversiones en herramientas para mejorar inocuidad, proteger salud pública y asegurar demandas de consumidores y mercados.

Anexo 1.

Composición química y concentración de colesterol en el músculo *Longissimus dorsi* en el equino (Adaptado de Tonial, 2009).

Composición química	g/100 g carne ± d.e.
Humedad	73.3 ± 1.7
Cenizas	1.1 ± 0.1
Proteínas	22.5 ± 1.1
Lípidos Totales	2.9 ± 0.3
Colesterol (mg/100 g carne)	40.5 ± 2.6

Composición de ácidos grasos y la suma y la relación de los ácidos grasos de la grasa en el músculo *Longissimus dorsi* de los caballos en comparación con la grasa del mismo músculo en otras especies. (Adaptado de Tonial, 2009).

Ácidos grasos(%)	Promedio ± d.e.	Cabra	Carne de res	Pollo
AGPI	35.8 ± 1.13	4.9	73.0	27.3
AGMI	27.4 ± 0.66	32.3	45.6	41.8
AGS	36.8 ± 0.80	62.9	47.0	31.0
AG O-6	34.9 ± 1.13	3.9	46.6	24.2
AG O-3	0.86 ± 0.02	1.01	20.9	2.00
O-6/O-3	40.60 ± 1.16	3.90	2.23	12.62
AGPI/AGS	0.97 ± 0.21	0.08	0.15	0.88

AGPI: Ácidos grasos poliinsaturados, AGMI: Ácidos grasos monoinsaturados, AGS: Ácidos grasos saturados, AG O-6: Ácidos grasos omega 6, AG O-3: Ácidos grasos omega 3

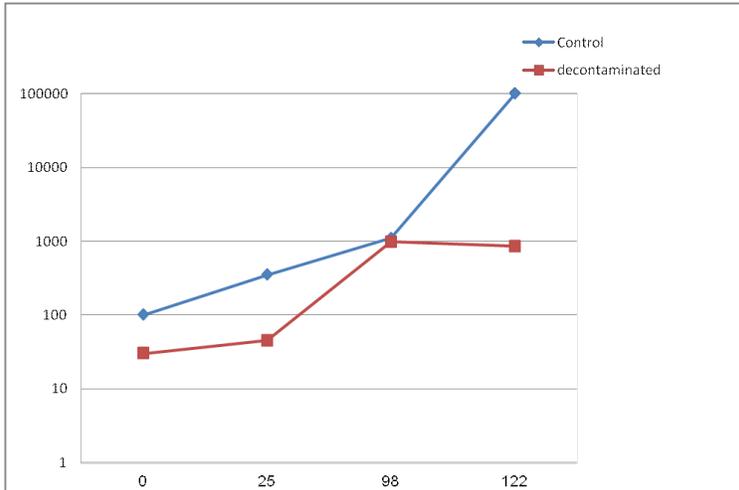
La Carne de Caballo es una valiosa fuente de P, Fe, Zn, Cu y Mg (231, 3.89, 3.72, 0.20 y 28.9 mg/100 gr de porción comestible. (Badiani, 1997).

Concentraciones de algunos minerales en la carne equina (Adaptado de Badani, 1997).

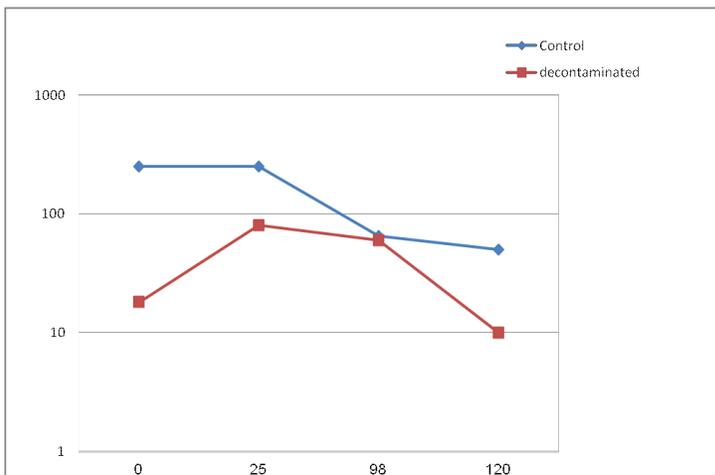
Minerales	Promedio ± d.e.	Rango
Sodio	74.2 ± 2.7	68.8 – 82.9
Potasio	331 ± 8	308 – 353
Magnesio	28.9 ± 0.1	28.7 – 29.1
Calcio	3.77 ± 0.05	3.64 – 3.68
Fosforo	231 ± 3	225 - 240
Hierro	3.89 ± 0.18	3.59 – 4.58
Cobre	0.20 ± 0.01	0.17 – 0.24
Zinc	3.72 ± 0.21	2.95 – 4.22

Anexo 2.

Crecimiento de organismos psicrófilos durante el almacenamiento (Adaptado de Pipek y col., 2005)



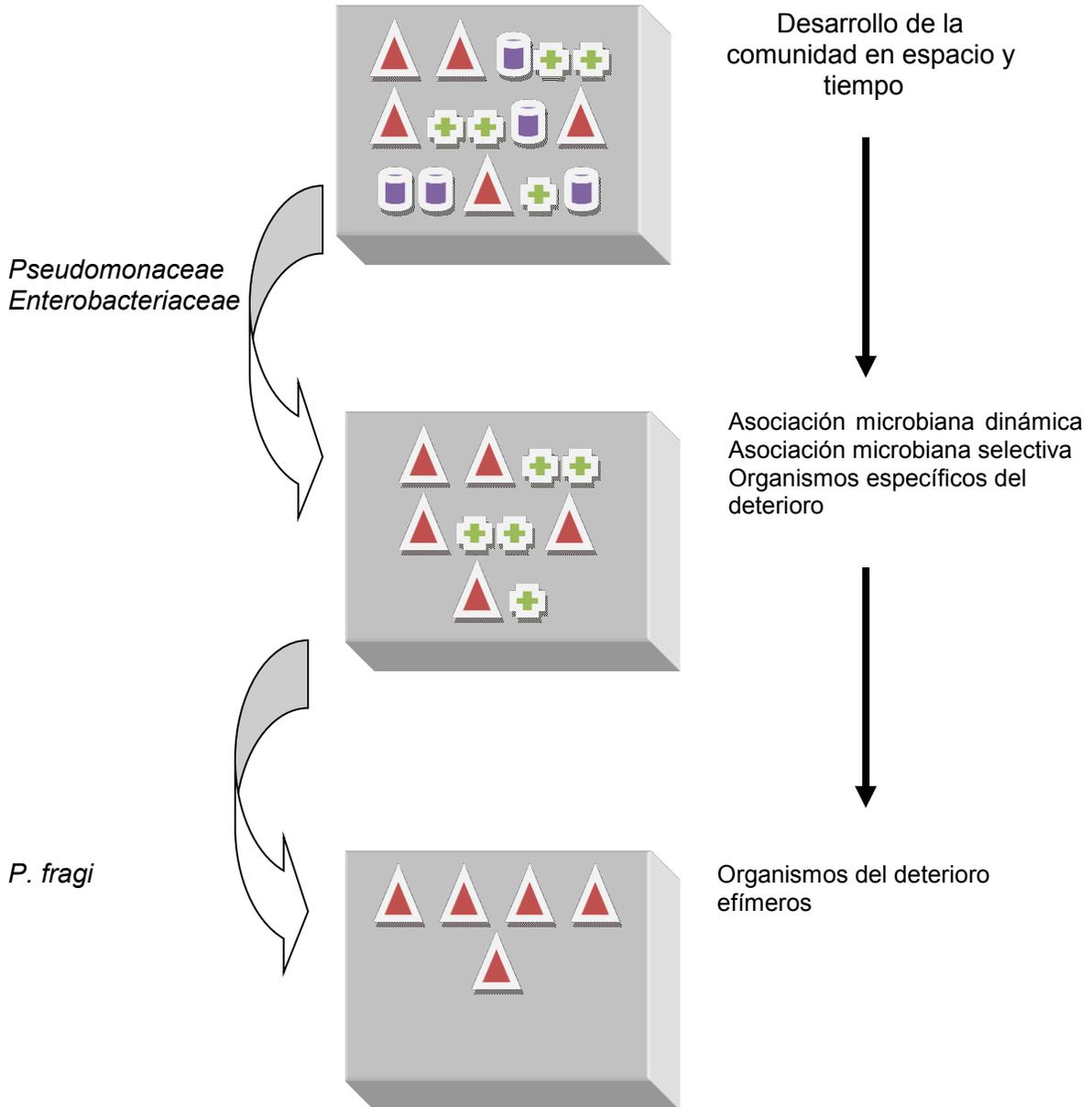
Crecimiento de organismos mesófilos durante el almacenamiento (Adaptado de Pipek y col., 2005)



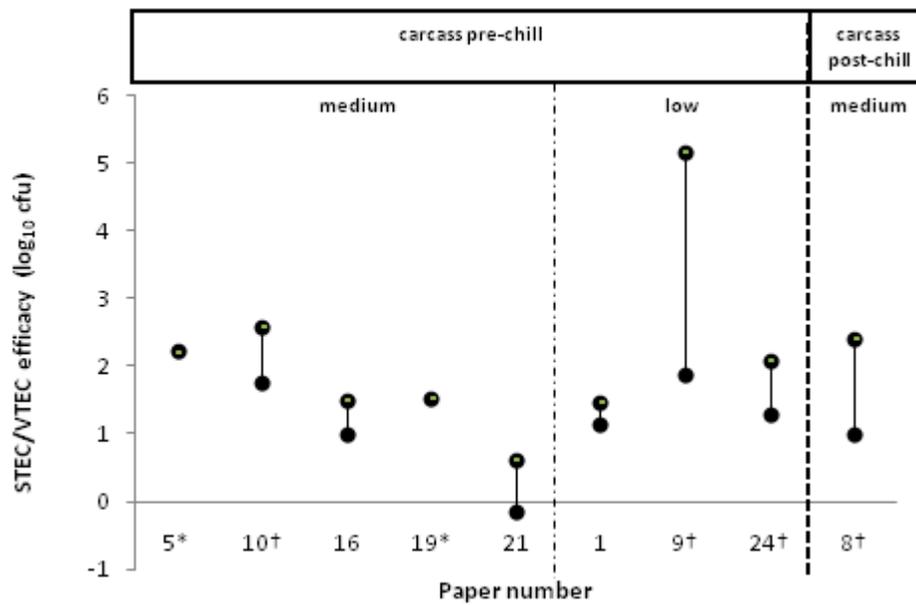
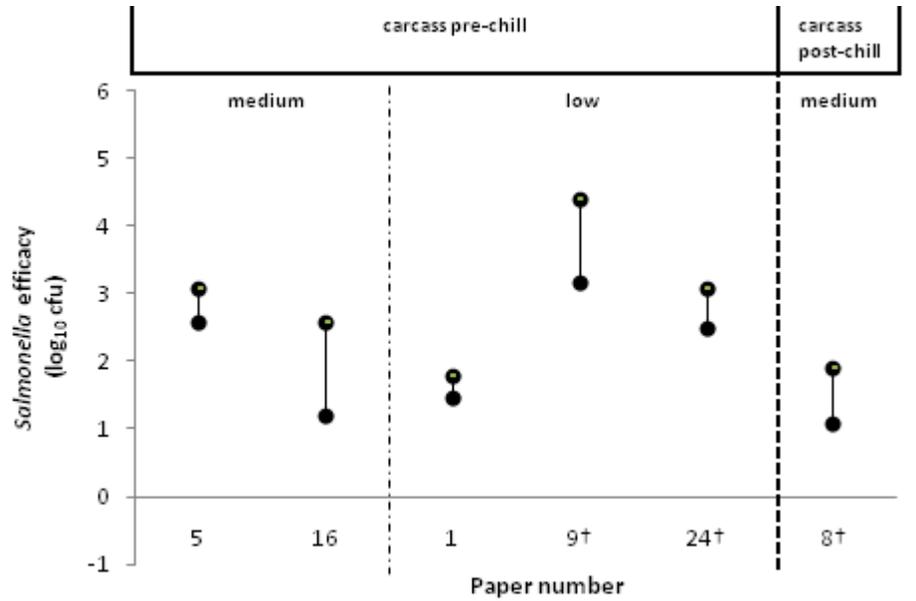
Anexo 3. Ejemplo de desarrollo de asociación microbiana en musculo

Asociación Microbiana (Adaptado de Nychas y col. 2007)

Factores de transformación y embalaje



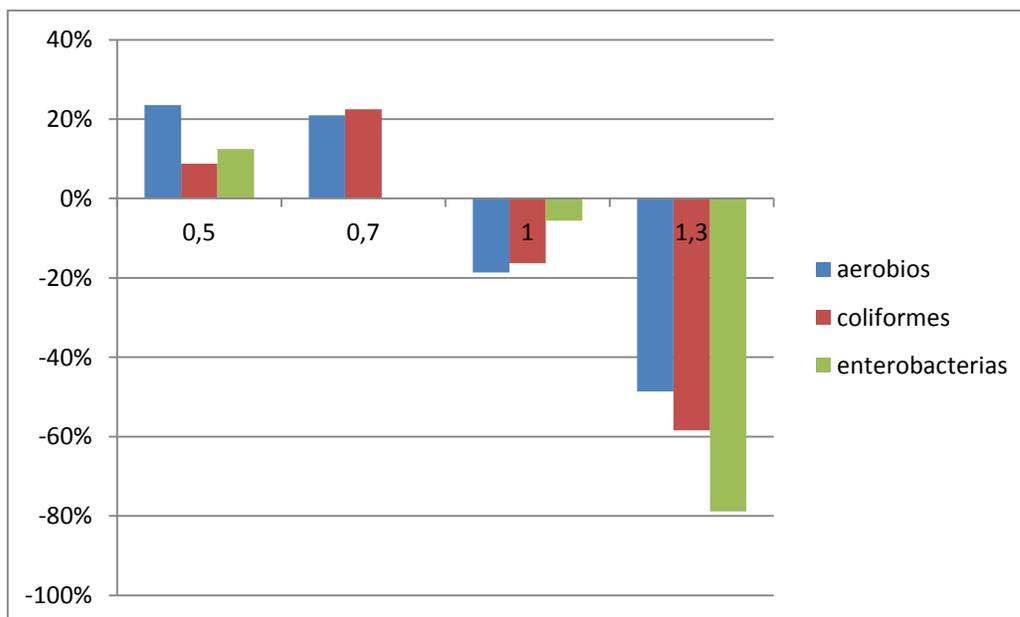
Anexo 4. La eficacia del tratamiento de ácido láctico en carcasa pre y post enfriamiento (en escalas de reducción de log₁₀ UFC). (Adaptado de EFSA, 2011)



Anexo 5. Resultados del estudio experimental en planta procesadora equina

24/05/2010	Sin Acido	Con Acido 0,5%								
Coliformes	29	30	24	26	41	46	18	20		
Enterobacterias	1	1	0	0	2	3	0	0		
Aerobios	53	60	48	73	93	106	47	54		
21/06/2010	Sin Acido	Con Acido 0,7%								
Coliformes	34	15	31	8	5	6	29	87		
Enterobacterias	0	0	0	0	0	0	0	0		
Aerobios	49	101	69	93	82	59	620	440		
27/07/2010	Sin Acido	Con Acido 1%	Sin Acido	Con Acido 1%	Sin Acido	Con Acido 1%				
Coliformes	31	28	21	18	8	6				
Enterobacterias	12	10	3	3	0	0				
Aerobios	109	97	114	107	49	30				
08/09/2010	sin acido	acido 1,3 %	sin acido	acido 1,3 %						
E Coli	16	1	49	9	119	53	14	3	140	21
Coliformes	185	56	300	94	70	43	320	62	130	85
Enterobacterias	160	63	280	136	200	95	340	220	220	125
Aerobios	1.700	560	1.900	800	1.040	880	1.700	540	1.350	600

A.Láctico	Aerobios	Coliformes	Enterobacterias	
0,5		24%	9%	13%
0,7		21%	22%	0%
1		-19%	-16%	-6%
1,3		-49%	-58%	-79%
Grand Total	-0,227508271	0,435097012	-0,719388089	



BIBLIOGRAFIA

Algino R.J., Ingham S.C., Zhu J., Survey of Antimicrobial Effects of Beef Carcass Intervention Treatments in Very Small State-Inspected Slaughter Plants, *Journal of Food Science*, 2007, Vol 72, N° 5, M173-M175

Assis M., Destro M.T., Franco B., Landgraf M. Incidence of *Listeria* spp. and *Salmonella* spp. in horsemeat for human consumption, *International Journal of Food Microbiology* 62, 2000, p 161–164.

Aymerich, MT; Hugas, M. Estado actual de la bioconservación en productos cárnicos. *Eurocarne*, 72, 1998, p 39-50

Bacon RT, Sofos JN, Belk KE and Smith GC, Commercial application of lactic acid to reduce bacterial populations on chilled beef carcasses, subprimal cuts and table surfaces during fabrication. 2002, *Dairy, Food and Environmental Sanitation*, 22, 674-682.

Bandiani A., Nanni N., Gatta P., Tolomelli B., Mamfredini M., Nutrient profile of horsemeat *Journal of food composition and analysis* 10, 1997, p 254-269

Boddy L., Wimpenny J.W.T, Ecological concept in food microbiology *Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement* 1992, 73, 23S-38S.

Catelli J.L., *La Carne Equina*, Olivos, Buenos Aires, Ed Alfavet, 1999, p 21-31.

Commission Regulation (EU) No 231/2012. Laying down specifications for food additives. *Official Journal of the European Union*, vol 55, 22 March 2012.

Commission Regulation (EU) No 101/2013. Concerning the use of lactic acid to reduce microbiological surface contamination on bovine carcasses. *Official Journal of the European Union* L 34/1-34/3. 4 February 2013.

Davidson PM and Taylor TM. Chemical preservatives and Natural Antimicrobial Compounds. En: *Food Microbiology: Fundamentals and frontiers* 3ra. Edición. Washington, Estados Unidos, Ed. Doyle and Beuchat, ASM press, 2007, p. 713-745

Desmarchelier P., Fegan N., Smale N., Small A. Managing safety and quality through the red meat chain, *Meat Science* 77, 2007, p 28–35.

EFSA Panel on Biological Hazards (BIOHAZ); Scientific Opinion on the evaluation of the safety and efficacy of lactic acid for the removal of microbial surface contamination of beef carcasses, cuts and trimmings. *EFSA Journal* 2011, 9(7):2317.35p.

FSIS-USDA. Pathogen Reduction: Hazard Analysis and Critical Control Point (HACCP) Systems; Final Rule. 1996. *Federal Register* 61 (No.144): 38806-38989.

García Garibay, Quintero Ramírez, López Munguía. Producción de materias primas y aditivos. En: García Garibay, Quintero Ramírez, López Munguía *Biología Alimentaria* 5ta. Edición. Distrito Federal, México, Ed Limusa, 2004, p. 553-577.

Garriga M., Marcer M., Hugas M., *Microbiología de la carne fresca y productos cárnicos envasados*, Eurocarne 49, 1996, p. 69-73.

Galland J.C. Risks and Preventions of contamination of beef carcasses during the slaughter process in the United States of America. *Rev. sci. tech. Off. int. Epiz*, 1997, 16 (2), 395-404.

Geer G.G., Effects of phage concentration, bacterial density, and temperature on phage control of beef spoilage, *J. Food Sci.*, 53 1988, pp. 1226–1227

Gill C.O., The control of microbial spoilage in fresh meats A.M. Pearson, T.R. Dutson (Eds.), *Advances in meat research, Meat and Poultry Microbiology*, Vol. 2, 1986, pp. 49–88

Gill C.O. Safety and storage stability of horse meat for human consumption, *Meat Science* 71, 2005, p. 506–513

Gill C.O.; Penny N., The effect of the initial gas volume to meat weight ratio on the storage life of chilled beef packaged under carbon dioxide, *Meat Science* 22, 1988, p 53-63.

Gomez M., Lorenzo J.M., Effect of packaging conditions on shelf-life of fresh foal meat, Meat Science 91, 2012, p. 513-520.

Huffman R.D., Current and future technologies for the decontamination of carcasses and fresh meat, Meat Science 62, 2002, p. 285-294

Hugas M., Acción antimicrobiana de las bacterias lácticas: sistemas naturales de conservación de los alimentos. Eurocarne 45, 1993, p 47-52.

Lasta J.A., Rodríguez R., Zanelli M., Margaria C.A. Bacterial count from bovine carcasses as an indicator of hygiene and slaughtering places: A proposal for sampling. Journal of Food Protection, Vol. 5, N° 4, 1992, p. 271-278.

Lasta J.A., Pensel N., Masana M., Rodriguez R., Garcia P., Microbial Growth and Biochemical Changes on Naturally Contaminated Chilled-Beef Subcutaneous Adipose Tissue Stored Aerobically, Meat Science 39, 1994,149-158.

Lawrie, R.A. Ciencia de la Carne. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. España. 456 p

Masana, M. y Rodríguez, R. Ecología microbiana. En: Ciencia y Tecnología de Carnes, Capítulo 10, Parte IV, Microbiología y Sanidad, Eds. Hui, Y.H., Guerrero Legarreta, I. y Rosmini. M., Editorial Limusa S.A., México. ISBN 968-18-6549-9. 2006, pags. 293-336.

Michanie S. *Escherichia coli* O157:H7 La bacteria que disparó el HACCP en la industria de la carne. Ganados & Carnes N° 17, 2003, p 40-42.

Nychas G-JE, Marshall DL, Sofos JN. Meat, Poultry and Seafood. En: Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers 3ra. Edición. Washington, Estados Unidos, Ed. Doyle and Beuchat, ASM press, 2007, p. 105-140.

Nychas G-JE, Dillon V.M., Board R.G, Glucose the key substrate in the microbiological changes occurring in meat and certain meat products, Biotechnology and Applied Biochemistry, 10 (1988), pp. 203–231

Oficina Nacional de Control Comercial Agropecuario (ONCCA). Anuario Equino, 2009.

Pipek et al, Microbial decontamination of beef carcasses by combination of steaming and lactic acid spray, En: Journal of Food Engineering 67, 2005, p. 309-315.

Pipek et al, Decontamination of pork carcasses by steam and lactic acid, En: Journal of Food Engineering 74, 2006, p. 224-231.

Prändl, O.; Fischer, A.; Schimidhofer, T. y Sinell, H. J. Fundamentos de la conservación de la carne en Tecnología e Higiene de la Carne. Editorial Acribia, 1994.

Puolanne J., Reeta Pösö A., Ruusunen M., Sepponen K. and Kylä-Puhju M. Lactic Acid in Muscle and its Effects on Meat Quality. En: Proceedings of the 55th Annual Reciprocal Meat Conference, July 28 - 31, 2002, p. 57- 63.

Rivas M., Miliwebsky E., Chinen E., Deza N., Leotta G., Epidemiología del Síndrome Urémico Hemolítico en Argentina. Diagnóstico del agente etiológico, reservorio y vías de transmisión, Medicina, Volumen 66, Suplemento 3, 2006, p. 27-32.

Rivero MA, Padola NL, Etcheverría AI, Parma AE. *Escherichia coli* enterohemorrágica y Síndrome Urémico Hemolítico en Argentina. Medicina (B Aires) 2004; 64: 352-6.

Rodríguez R., Meichtri L., Margaria C., Pensel N., Rivi A., Masana M. Shelf life evaluation of refrigerated vacuum packaged beef kept for extended storage, 46Th ICoMST, Argentina, 2000, p. 668-669.

Rodríguez, R. 2012. Ecología microbiana de alimentos. Clases en la CESA, Carrera de Especialización en Seguridad Alimentaria, FCV, UNLP. Cohorte 2012.

SENASA. 2014. Resolución 247/14. Aprobación de agentes de descontaminación de las superficies de las canales. INFOLEG.

Tarver T., Biofilms: A threat of food safety, IFT Scientific Status Summary, 2009. Food Technology, p. 46-52.

Theron M., Lues J.F.R. Organic Acids and Meat Preservation: A Review, Food Review International, Vol 23, Issue 2, 2007, p. 141-158

Toldra F., Handbook of Fermented meat and poultry, 1^{ra} Edición, Arnes, Iowa, Ed Blackwell Publishing, 2007.

Tonial I.B et al, Fatty acid and cholesterol content, chemical composition and sensory evaluation of horsemeat, En: South African Journal of Animal Science 39, 2009, p. 328-332.

USDA, Food Safety Research Information Office. Food Safety Research: A focus on *Listeria monocytogenes* and Biofilms, USDA, FSRIO, 2006. Disponible en <http://fsrio.nal.usda.gov>

Van der Marel G.M., Van Logtesijn J.G., Mossel D.A.A., Bacteriological quality of broiler carcasses as affected by in-plant lactic acid decontamination, International Journal of Food Microbiology, 6, 1988, p. 31-42