

EVALUACIÓN DE DOS PRESENTACIONES DE ENVASADO AL VACÍO DE VÍSCERAS DE OVINO EN MÉXICO DURANTE SU REFRIGERACIÓN

Evaluation of Two Presentations of Packaged Sheep Viscera in Mexico During Refrigeration

Katia Angélica Figueroa Rodríguez¹, Francisco Hernández Rosas^{1*}, Miguel Álvarez Olguín², Benjamín Figueroa Sandoval² y Oscar Miguel Carrillo Hidalgo²

Colegio de Postgraduados Campus Córdoba. Laboratorio de Biotecnología Aplicada. Carretera Federal Córdoba-Veracruz Km. 348, Congregación Manuel León Amatlán de los Reyes, Veracruz, México. CP 94946. Tel. 01-271-7166000.

² Colegio de Postgraduados Campus San Luis Potosí (*) Tel. 052-271-7166000, fhrosas@colpos.mx.

RESUMEN

Las vísceras de borrego (*Ovis aries*) son utilizadas en la zona central de México para la elaboración del platillo típico “*pancita*” existiendo pocos estudios que determinen la inocuidad de las vísceras empleadas. Se evaluaron microbiológicamente dos presentaciones de empaquetado al vacío en bolsa de polietileno de 60 µm de espesor bajo condiciones de refrigeración ($7 \pm 2^\circ\text{C}$) de vísceras troceadas: una en empaque individual (corazón, falda de corazón, pulmón, hígado, riñón, cuajo, librillo, intestino delgado, intestino grueso, panza y tela de la panza) y, la otra como mezcla de vísceras, por un periodo de 228 horas (h). Se observaron diferencias significativas de la a_w con respecto al tiempo de almacenamiento para las vísceras envasadas individualmente ($P < 0,001$), mientras que para la mezcla, la diferencia no fue significativa ($P = 0,088$). Hubo diferencias significativas entre ambas presentaciones, donde la mezcla tuvo mayor actividad de agua que las vísceras envasadas individualmente ($U = 42,798$, $P = 0,002$). Para el pH no existieron diferencias significativas con respecto al tiempo de almacenamiento (individuales $P = 0,750$ y mezcla $P = 0,314$) ni entre presentaciones ($U = 3094$, $P = 0,059$). La carga microbiana anaerobia de ambas presentaciones se incrementó significativamente durante el tiempo de almacenamiento ($X^2 = 318,92$, $gl = 5$, $P < 0,001$; $X^2 = 68,516$, $gl = 5$, $P < 0,001$), con diferencias significativas entre ambas ($U = 1028,5$, $P < 0,001$). Se detectó la presencia de *E. coli*, *Enterobacterias*, *Salmonella*, *Pseudomonas* y *Lactobacillus*. El modelo de regresión lineal para la a_w y la carga microbiana estableció que, un incremento en 0,039 en la

primera variable generó un incremento en $7,895 \times 10^7$ UFC/g ($R^2 = 0,141$, $P < 0,001$). Se concluye que la mejor presentación de envasado de vísceras fue de manera individual al tener menor actividad de agua y carga microbiana.

Palabras clave: *Ovis aries*, barbacoa, a_w , pH, UFC.

ABSTRACT

Viscera of sheep (*Ovis aries*) used in the Central zone of Mexico to cook a typical dish named “*pancita*”, despite its relevance there are few studies that have analyzed the viscera food safety. Chopped viscera (heart, heart cover, lung, liver, kidney, curdle, intestines, stomach, *librillo*) were packed under vacuum conditions in plastic bags of 60 µm and refrigerated ($7 \pm 2^\circ\text{C}$) in order to be observed. In the first modality, the viscera were packaged individually and in the second one, the viscera were mixed of packaged. In relation to storage time, while there were significant differences for the individually packaged viscera ($P < 0.001$), the difference for the viscera mixture was not meaningful ($P = 0.088$). Comparing the packaging modalities, these showed important differences, the viscera mixture observed higher water activity than the viscera packed individually ($U = 42.798$, $P = 0.002$). In the pH variable, there were neither significant differences in relation to storage time (individual $P = 0.750$ and mixture $P = 0.314$) nor between packaging modalities ($U = 3094$, $P = 0.059$). The counts of anaerobia microbes for both packaging modalities increased significantly over storage time ($X^2 = 318.92$, $gl = 5$, $P < 0.001$; $X^2 = 68.516$, $gl = 5$, $P < 0.001$), with significant differences between packaging modalities ($U = 1028.5$, $P < 0.001$). The presence of *E. coli*, *Enterobacterias*, *Salmonella*, *Pseudomonas* and *Lactobacillus* was observed. The regression model for water activity and micro-

bial counts revealed that an increase of 0.039 in the first variable produced a 7.895×10^7 increase in the second one ($R^2 = 0.141$, $P < 0.001$). It can be concluded that the best way to package viscera is individually. Still, it is recommended to improve the hygienic practices during the slaughter and to reduce the storage temperature.

Key words: *Ovis aries*, “barbacoa”, Aw, pH, CFU.

INTRODUCCIÓN

Se estima que el 90% del consumo nacional aparente de la carne de ovino (*Ovis aries*) en México se hace tradicionalmente como “barbacoa”, junto con el platillo denominado “pancita”, las cuales son cocidas en hornos enterrados [20, 24]. La “pancita” es preparada utilizando las vísceras de borrego troceadas, mezcladas con salsa de chile guajillo (*Capsicum annum*), clavo (*Syzygium aromaticum*), pimienta (*Piper nigrum*), epazote (*Dysphania ambrosioides*), cebolla (*Allium cepa*) y sal. La mezcla se pone dentro del estómago o panza del borrego y se cose con un hilo para prevenir que el contenido se derrame durante el proceso de cocción.

El sacrificio de estos animales es realizado de una manera tradicional, generalmente en el traspatio de la casa del “barbacoyero”, lo que puede provocar problemas de contaminación cruzada que pudiesen afectar la salud de los consumidores. La misma problemática de contaminación cruzada se presenta en los mataderos [1, 12, 19, 31], donde la carne en canal y algunas de las vísceras (riñón, corazón e hígado) adquieren carga microbiana durante el proceso de desollado y eviscerado [19], debido a que la piel y la lana pueden tener un número considerable de patógenos como *Salmonella*. Por su parte, Patterson y Gibbs [23] encontraron concentraciones de 200 Unidades Formadoras de Colonia (UFC)/cm² de *Salmonella* para lana de cordero, mientras que *Listeria monocytogenes* parece también encontrarse sobre la piel y lana.

A la vez, se ha establecido la presencia de ciertos microorganismos en las vísceras que son parte del rumen (cuajo, librillo, panza, intestino delgado, intestino grueso) y del aparato respiratorio (pulmones) como parte de su flora natural, entre ellas las bacterias ácido lácticas: *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Lactobacillus*, *Pediococcus*, además de bacterias de los géneros *Clostridium*, *Campylobacter* y de la familia *Enterobacteriaceae* [3, 4, 8, 16]. La presencia de bacterias de la familia *Pseudomonadaceae* puede darse junto con una variedad de serotipos de *Salmonella* [2]. También, las levaduras (i.e. el género *Candida*, *Cryptococcus* y *Rhodotorula*) usualmente representan un pequeño porcentaje de la microflora [13]. Mientras que Hanna y col. [10] encontraron en hígados, riñones y corazones de ovinos la presencia de *Micrococcus* spp., *Staphylococcus*, *E. coli*, *Moraxella-Acinetobacter* spp., *Streptococcus*, *Flavobacterium* spp., bacterias corineformes así como hongos y levaduras. En virtud de la diversidad de la carga microbiana en

vísceras de ovinos y sobre todo por su daño potencial a la salud humana es necesario contar con más información sobre su comportamiento. Estudios previos han utilizado como indicadores el pH [7, 17] y la actividad de agua [6], como parámetros que afectan su desarrollo.

En la actualidad, la demanda nacional de ovinos no está satisfecha por la producción nacional, por lo que se ha recurrido a importaciones de canales provenientes de Nueva Zelanda y Australia. Bajo este contexto, una opción para los ovicultores nacionales es incrementar sus hatos y mejorar sus prácticas de comercialización al introducir su ganado a mataderos tipo inspección federal (TIF) y vender canales, en lugar de vender ovinos en pie, lo que podría permitirles retener mayor valor económico, lo que a su vez genera una problemática sobre cómo comercializar las vísceras, ya que estas también tienen un valor y demanda en el mercado. Dentro de este contexto, el presente estudio evaluó microbiológicamente dos presentaciones de vísceras utilizadas en la elaboración de “pancita”: envasado individual y envasado como una mezcla, ambas envasadas al vacío y mantenidas en refrigeración ($7 \pm 2^\circ\text{C}$) y monitoreadas a las 0; 44; 97; 133; 189 y 228 h, a fin de establecer el comportamiento de la actividad de agua, el pH y su carga microbiana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron vísceras (corazón, falda de corazón, pulmón, hígado, riñón, cuajo, librillo, intestino delgado, intestino grueso, panza y tela de la panza) de cinco ovinos sanos de la raza Pelibuey de una edad promedio de entre seis y ocho meses, considerando a cada animal como una repetición. Los animales tenían 48 h de ayuno previo a la hora del sacrificio, eran provenientes del sur del país (Oaxaca) y fueron seleccionados por un “barbacoyero” en el estado de Puebla. El sacrificio se realizó de manera tradicional en el traspatio de su casa.

El manejo y toma de muestras se hizo de acuerdo a lo establecido por la NOM-109-SSA1-1994 [29]. Los órganos “calientes” o recién extraídos del animal se tomaron en condiciones asépticas utilizando guantes de látex, cofias y cubrebocas; éstos fueron depositados en bolsas de polietileno con su respectiva etiqueta para transportarse en hieleras de unicel con geles y así mantener las muestras a temperatura no mayor de 8°C durante las dos h que duró el transporte. Las muestras llegaron al laboratorio de “Biotecnología Microbiana Aplicada” en Córdoba, Veracruz a una temperatura de $5 \pm 1^\circ\text{C}$.

Una vez en el laboratorio, las vísceras se lavaron con agua destilada en forma individual, esto con el objetivo de reducir la carga microbiana que pudiese ser atribuible al proceso de matanza, este es un proceso normal en los mataderos. Se tomó el peso individual de cada órgano. Los utensilios utilizados se lavaron con agua destilada y se desinfectaron con cloruro de benzalconio al 0,1%, antes y después de trocear cada órgano. Cada órgano se dividió en dos partes equivalentes

para proceder a picarlos en cubos de 2 x 2 x 2 cm. La primera presentación consistió en envasar de manera individual los órganos troceados en bolsas de 16 x 20 cm para empacado al vacío (espesor de bolsa de 60 µm, marca "Torrey" hechas en México). Para la segunda presentación, los órganos troceados se mezclaron manualmente en una bandeja de acero inoxidable con el objetivo de obtener una mezcla de órganos, similar a la mezcla realizada por los "barbacoyeros" de la zona oriente del estado de México, para la preparación de la "pancita" de borrego, posteriormente la mezcla se fraccionó en forma proporcional en diez bolsas para empacarse al vacío. Las muestras se sellaron con una envasadora marca "Torrey" modelo EVD4, México para después mantenerse en refrigeración ($7 \pm 2^\circ\text{C}$), en un refrigerador marca "Vendo de México" modelo VR17CBMAE fabricante "Fabricante de Refrigeración Comercial" de México, durante las 228 h que duró cada experimento.

Para monitorear la evolución de las presentaciones, se tomaron mediciones a las 0; 44; 97; 133; 189 y 228 h consideradas a partir del momento del envasado. Por lo que la hora 0 corresponde a la hora en que se empacó el producto al vacío en el laboratorio, por lo que es post-sacrificio, dos horas posteriores al sacrificio. Durante cada período de medición, una muestra de vísceras era llevada al "barbacoyero" para su evaluación, a las 228 h, el dictamen del mismo fue de que ya no eran viables para procesarse por lo que se detuvo el experimento [8]. Las dos presentaciones evaluadas consistieron de cinco repeticiones a las que se les midió la actividad de agua (a_w), el pH, y la carga microbiana (UFC/g de víscera). La medición de a_w se realizó con el dispositivo paw kit Decagon Aqua-lab® hecho en EUA, y para el pH se utilizó un potenciómetro marca HANNA® Instruments modelo HI98130 hecho en EUA.

La carga microbiana se determinó de acuerdo a la NOM-110-SSA1-1994 [28], NOM-113-SSA1-1994 [27] y NOM-092-SSA1-1994 [26]. Para la preparación de las diluciones se pesó un g de cada víscera y se colocó en una alícuota de diez mL de agua peptonada (marca Difco®), la alícuota fue agitada en un agitador tipo Vortex marca Labnet® modelo SO200 hecho en EUA, por dos minutos (min) y posteriormente, se realizaron diluciones seriales (10^{-1} hasta 10^{-10}) con volúmenes de un mL contenidos en tubos Eppendorff.

Se utilizó el medio de cultivo agar soya tripticaseína (AST marca Bioxon®) para el conteo de mesófilos aerobios totales, el medio agar bilis y rojo violeta (ABRV marca Bioxon®) para el recuento de organismos coliformes y *Enterobacteriaceae*, el agar salmonella-shigella (ASS) para el conteo de *E. coli* y *Salmonella*, el agar eosina y azul de metileno (EAM marca Bioxon®) para el recuento de *E. coli* y otros coliformes, y el medio man rogosa sharpe (MRS marca DIFCO®) para el recuento de *Lactobacillus* y otras bacterias ácido lácticas. Los medios ABRV y EAM son generalistas para microorganismos coliformes pero para cepas con diferentes características fisiológicas. Para establecer el crecimiento de colonias en medios selectivos se utilizaron el medio Mac Conkey (MC marca Bioxon®), Sulfito Bismuto (BIS marca Bioxon®),

Mueller-Hinton (MH marca Bioxon®) y Salmonella-Shigella (ASS marca Bioxon®).

Las muestras de cada presentación y órgano, se tomaron a las 0; 44; 97; 189 y 228 h para AST, EAM y SS. Para el medio AST se sembraron dos diluciones por triplicado; para EAM y SS sólo se sembró una dilución. Después de la siembra, las placas fueron incubadas a 35°C durante 24 h, en una incubadora marca Binder®, modelo ED 115-UL, Alemania. La siembra en los medios ABRV y MRS se hizo a las 44; 134 y 228 h como controles de medición, el método empleado fue siembra con varilla en "L" con giro de 360° , se sembraron dos diluciones por triplicado. Después del sembrado, las placas fueron incubadas a 35°C durante 24 h. Para los medios selectivos, las siembras se hicieron aislando colonias de interés a las 189 y 228 h, estriándolas en diversos agares para verificar el crecimiento de especies en particular.

Los resultados obtenidos de las mediciones de pH, actividad de agua y carga microbiana se analizaron estadísticamente usando el paquete estadístico SPSS 16,1 para Windows [32]. Cuando el número de observaciones lo permitía se utilizó el análisis de varianza (ANOVA); cuando el número de observaciones era menor a 30 se utilizó la prueba no paramétrica de Mann Whitney o la de Kruskal-Wallis, según aplicase [9].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

pH con respecto al tiempo de almacenamiento

En la TABLA I se observa que no hubo diferencia significativa del pH durante las h evaluadas del tiempo de almacenamiento de las vísceras individuales en su conjunto (M1), $F(5, 276)=0,53$, $P=0,750$, $r=0,097$. De igual manera, el pH de la mezcla de vísceras (M2) no varió significativamente con respecto al tiempo de almacenamiento (H (5)=5,923, $P=0,314$). Para las vísceras individuales en conjunto, en ambas h (97 y 189) se observaron también decrementos sin ser significativos, esto es consistente con lo reportado por Hanna y col. [10] quienes solo registraron pequeños incrementos en el pH después de cinco días (d) de almacenamiento de riñones y corazones de cordero. Es posible que a mayor tiempo de almacenamiento, hasta 1008 h, se presenten cambios significativos en el pH de las vísceras [7].

Por su parte McPhail [17] observó un valor de pH en corazón de vacuno (*Bos taurus*) de 6,24 en fresco, y de 6,30 después de 24 h de almacenamiento, lo cual es consistente con los hallazgos del presente estudio (TABLA I). Para hígado, el mismo autor obtuvo un pH de 6,50 en fresco y 6,36 después de 24 h, valores que se situaron por arriba de lo encontrado en este experimento, y para intestino escaldado de 7,25 en fresco y de 7,40 después de 24 h, en el presente estudio, el intestino delgado tuvo valores superiores a otros órganos con un pH inicial de 6,960, sin embargo, no alcanzó un pH de siete sino hasta después de 134 h de almacenamiento, las diferencias pueden ser entonces atribuibles al escaldado. Mientras que

TABLA I
**pH DE VÍSCERAS ENVASADAS AL VACÍO A DIVERSAS HORAS DE ALMACENAMIENTO
 EN CONDICIONES DE REFRIGERACIÓN**

Órganos	Horas de envasado el vacío					
	0	44	97	134	189	228
Pulmón	6,530 ± 0,282	6,808 ± 0,080	6,568 ± 0,146	6,934 ± 0,149	6,900 ± 0,195	6,966 ± 0,233
Corazón	6,248 ± 0,270	6,428 ± 0,171	6,348 ± 0,440	6,652 ± 0,291	6,644 ± 0,328	6,476 ± 0,188
Cuajo	6,225 ± 0,035	6,540 ± 0,100	6,325 ± 0,165	6,545 ± 0,135	6,310 ± 0,180	6,635 ± 0,115
Cuajo-Librillo	8,593 ± 1,098	8,297 ± 1,194	8,387 ± 1,362	8,413 ± 0,978	8,107 ± 1,004	7,997 ± 0,922
Falda de c.	5,680 ± 0,20	5,920 ± 0,140	5,615 ± 0,055	5,930 ± 0,070	5,985 ± 0,345	6,020 ± 0,080
Hígado	6,240 ± 0,200	6,446 ± 0,063	6,446 ± 0,077	6,790 ± 0,115	6,570 ± 0,188	6,604 ± 0,124
I. delgado	6,960 ± 0,184	6,962 ± 0,074	6,876 ± 0,109	7,170 ± 0,156	6,834 ± 0,126	7,034 ± 0,092
I. grueso	6,906 ± 0,214	6,952 ± 0,174	6,914 ± 0,196	6,958 ± 0,199	6,678 ± 0,233	7,030 ± 0,183
Librillo	6,160 ± 0,120	7,010 ± 0,200	6,58 ± 0,080	6,650 ± 0,100	6,945 ± 0,105	7,195 ± 0,605
Mezcla	6,433 ± 0,334	6,698 ± 0,047	6,616 ± 0,055	6,758 ± 0,091	6,680 ± 0,090	7,140 ± 0,826
Panza	8,088 ± 0,844	8,356 ± 0,760	7,906 ± 0,793	7,748 ± 0,492	7,932 ± 0,625	7,332 ± 0,078
Riñones	6,808 ± 0,242	6,882 ± 0,110	6,448 ± 0,397	7,012 ± 0,207	7,084 ± 0,224	6,868 ± 0,190
Tela de panza	6,277 ± 0,426	6,893 ± 0,143	6,327 ± 0,324	6,623 ± 0,404	6,563 ± 0,135	7,210 ± 0,302

Abdullah [1] encontró un pH de 5,7 en hígado, 6,2 en riñones y 5,8 en corazón, todos estos valores son inferiores a lo encontrado en este experimento. Las diferencias pueden ser atribuibles a la alimentación de los ovinos, ya que el pH de las vísceras depende de la cantidad de glucógeno mismo que se relaciona con la dieta [22, 30] así como con la edad de sacrificio de los animales que a su vez determina la cantidad de grasa en los tejidos [21].

En promedio, el pH de las vísceras individuales (M=6,912, SD=0,921, Mdn=6,84) fue mayor al pH de la mezcla de vísceras (M=6,741, SD=0,768, Mdn=6,67), aunque la diferencia no fue significativa (U=3094,00, P=0,059, r=-0,107). Se realizó esta misma prueba para confrontar el pH de la mezcla y cada uno de los órganos individuales, encontrándose diferencias a diversas horas con el intestino delgado, el hígado, la panza y el cuajo-librillo. Las diferencias pueden explicarse debido al proceso de óxido-reducción por la combinación de todas las vísceras con diferentes pH.

Carga microbiana con respecto al tiempo de almacenamiento

Con el objetivo de tener una variable más representativa se sumó la carga de todos los medios, generales y específicos, con ello se buscaba eliminar los posibles sesgos derivados de la especificidad microbiana según la víscera y el tiempo de almacenamiento. La suma total de las UFC/g de todas las vísceras individuales (M1), varió significativamente para las horas monitoreadas para todos los medios de cultivo sembrados ($X^2=318,92$, gl=5, P<0,001). De hecho, la carga se mantuvo hasta la h 134, disparándose en la h 189, para disminuir nuevamente en la h 228 (TABLA II). El desarrollo de la carga es consistente con lo reportado previamente por Hanna y col.

[10], quienes encontraron que la carga fue significativamente mayor al quinto día de almacenamiento en refrigeración a dos grados centígrados.

En lo que se refiere a la mezcla de vísceras (M2), las medias de las UFC/g tuvieron diferencias significativas para las h de almacenamiento monitoreadas para todos los medios de cultivo consideradas de manera conjunta ($X^2=68,516$, gl=5, P<0,001), con un comportamiento similar al de las vísceras en lo individual (TABLA II).

En la mezcla, al igual que para los órganos individuales, las UFC en medio AST disminuye a las 228 h, mientras que los microorganismos que crecen en medios selectivos tienden a seguir desarrollándose (TABLA II). La diferencia entre la mezcla y los órganos individualizados radica en que la carga del medio EAM se incrementa y ABRV se reduce, por lo que las especies que se favorecen en las diversas presentaciones difieren en concentración. En general se observa que, los microorganismos que se desarrollan en medios como el AST así como los del EAM, tienden a ser inhibidos a partir de la h 189, contrario a los otros como los que se presentan en los medios MRS, ABRV y ASS, lo cual puede relacionarse con que existen condiciones que favorezcan el desarrollo de los segundos. La inhibición de la carga generalista (medio AST) puede explicarse como un efecto del envasado al vacío [8] que favorece el desarrollo de flora anaerobia. Esto coincide con los resultados de Gill y Jeremiah [7], quienes encontraron que, después de tres sem de almacenamiento de hígado de vacuno empacado al vacío los *Lactobacillus* fueron la flora dominante, sin embargo, después de nueve sem, hubo presencia, tanto de *Lactobacillus* como de *Streptococcus*; en tanto que, para el riñón de cerdo (*Sus scrofa domestica*) el número de *Streptococcus* se incrementó y el de *Lactobacillus* disminuyó, en cam-

TABLA II
CARGA MICROBIANA DE VÍSCERAS EN MEDIO AST EN DIVERSAS HORAS DE ALMACENAMIENTO EN CONDICIONES DE REFRIGERACIÓN (UFC/G)

Órgano	Tipo de almacenamiento (h)			
	0	97	189	228
Pulmón ¹	5,62x10 ⁷ ± 3,82x10 ⁷	1,69x10 ⁸ ± 5,71x10 ⁷	8,48x10 ⁹ ± 4,53x10 ⁹	1,07x10 ⁸ ± 2,95x10 ⁷
Corazón ¹	1,12x10 ⁵ ± 1,11x10 ⁵	9,04x10 ⁵ ± 4,48x10 ⁵	8,39x10 ⁹ ± 4,53x10 ⁹	6,49x10 ⁸ ± 3,25x10 ⁸
Cjo-Lib ¹	5,59x10 ⁷ ± 3,83x10 ⁷	3,86x10 ⁶ ± 1,54x10 ⁶	8,59x10 ⁹ ± 4,51x10 ⁹	1,57x10 ⁸ ± 3,98x10 ⁷
Hígado ²	5,61x10 ⁵ ± 3,82x10 ⁵	3,33x10 ³ ± 1,81x10 ³	3,96x10 ⁹ ± 2,64x10 ⁹	1,85x10 ⁹ ± 9,86x10 ⁸
I.delgado ³	8,44x10 ⁷ ± 2,03x10 ⁷	1,69x10 ⁸ ± 5,71x10 ⁷	1,01 ⁷ x10 ⁹ ± 2,92x10 ⁸	3,90x10 ⁸ ± 1,15x10 ⁸
I.grueso ¹	8,39x10 ⁷ ± 4,53x10 ⁷	8,77x10 ⁷ ± 4,52x10 ⁷	4,05x10 ⁹ ± 2,04x10 ⁹	2,21x10 ⁸ ± 5,31x10 ⁸
Panza ¹	5,56x10 ³ ± 3,54x10 ³	8,52x10 ⁷ ± 4,52x10 ⁷	8,44x10 ⁹ ± 4,53x10 ⁹	1,53x10 ⁸ ± 4,05x10 ⁷
Riñones	4,24x10 ⁶ ± 2,18x10 ⁶	8,38x10 ⁵ ± 4,54x10 ⁵	9,36x10 ⁷ ± 4,46x10 ⁷	7,00x10 ⁷ ± 2,16x10 ⁷
Tela pza	2,51x10 ⁸ ± 1,12x10 ⁸	1,30x10 ⁶ ± 6,06x10 ⁶	1,48x10 ⁷ ± 8,04x10 ⁶	1,02x10 ⁸ ± 4,40x10 ⁷
Mezcla ⁴	3,28x10 ⁷ ± 1,85x10 ⁷	1,61x10 ⁸ ± 5,18x10 ⁷	1,17x10 ¹⁰ ± 4,41x10 ⁹	1,38x10 ⁸ ± 3,66x10 ⁷
Promedio ¹	3,30x10 ⁷ ± 9,93x10 ⁶	7,27x10 ⁷ ± 1,33x10 ⁷	5,87x10 ⁹ ± 1,15x10 ⁹	3,81x10 ⁸ ± 1,03x10 ⁸

(1) Diferencias significativas entre h 189 y h 0, h 97 y h 228. (2) Diferencias significativas entre h 189 y h 0 y h 97. (3) Diferencias significativas entre h 189 y h 0, h 97 y h 228 y entre h 228 y h 0. (4) Diferencias significativas entre h 189 y h 97 y h 228 (P<0,05).

bio a las nueve sem hubo crecimiento de *Vibrio* y *Enterobacteriaceae*.

En general, el número de colonias encontradas es superior a lo reportado por la bibliografía. Por ejemplo, Abdullah [1] reportó una carga del orden de 10⁴, mientras que en el presente caso para hígado, y corazón se tuvieron cargas del orden de 10⁵. Las diferencias se explican posiblemente debido a las condiciones de higiene en el proceso de matanza. Esto queda aún más claro si se considera que, para el caso de tela de panza se tuvieron cuentas iniciales de 10⁸, siendo esta sección la más expuesta al ambiente y la que entra en mayor contacto con la piel durante la matanza [19]. Como lo establecen Gill y Jeremiah [7], generalmente se considera que las vísceras son altamente perecederas, no obstante el problema no radica en la calidad intrínseca de los tejidos sino en el mal manejo sanitario que se les da a las vísceras durante el proceso de matanza, por lo que las altas cargas originales de las vísceras reducen su tiempo de almacenamiento. Igualmente deben considerarse los daños previamente sufridos por las vísceras por parásitos, lesiones y otras patologías, que reducen su aceptabilidad y vida de almacenamiento [18, 25].

En términos de evolución de la carga microbiana, Göktan y col. [8] establecieron que, los intestinos muestreados pasaron de una carga de 10³ a 10⁹, después de 96 h de almacenamiento, lo que es consistente con lo encontrado en este experimento. Patterson y Gibbs [23] reportaron que, durante las primeras h de almacenamiento de vísceras al vacío (hasta 168 h), la carga microbiana no se incrementaba notablemente siendo de 10⁴/cm², hasta las 336-504 h en que las cuentas se duplicaban y alcanzaban niveles de 10⁷-10⁹/cm². En el presente estudio, aunque no directamente comparable con la unidad de medida empleada por Patterson y Gibbs, se alcanzaron cuentas de 10⁹/g a las 189 h explicado por la alta carga inicial

(10⁷/g) y la diferencia de la temperatura de refrigeración (4°C vs. 7°C). En este sentido, diversos autores [23, 31] consideran que, la refrigeración no es capaz de impedir el crecimiento microbiano y que por el contrario, pareciera incluso servir para procesos de incubación, en virtud de que la temperatura en el presente experimento osciló alrededor de los 7°C, debe considerarse ésta como alta, por lo que una temperatura de alrededor de los cero grados centígrados y un enfriamiento rápido podrían realmente reducir la actividad microbiana.

Carga microbiana de las vísceras mezcladas y las vísceras individuales

Para observar la diferencia de UFC/g en los diferentes medios de cultivo de las vísceras individuales y la mezcla de vísceras, se utilizó la prueba de Mann-Whitney, ya que las UFC/g no presentaron una distribución normal. Se observa que las UFC/g para todos los medios de cultivo para las vísceras individuales (Mdn= 200,00) difiere significativamente de la mezcla de vísceras (Mdn= 5,0200E6), U= 102803,50, P<0,001, r= -0,11. Al igual que para el pH y la actividad de agua, se hizo esta misma prueba para confrontar el comportamiento microbiológico de la mezcla y las vísceras individuales para todos los medios de cultivo, donde se observa que cada víscera tiene un comportamiento diferente con respecto al tiempo de almacenamiento.

Para los medios de cultivo AST y MRS, las UFC/g de las vísceras individuales difirieron significativamente de las UFC/g de la mezcla de vísceras. En los medios de cultivo ABRV, EAM, ASS, no se pudo observar que las UFC/g de las vísceras individuales fuesen significativamente diferentes a las de las UFC/g de la mezcla de vísceras (TABLA III). Los resultados permiten observar que cada órgano presenta una elevada carga microbiana, lo que se modifica al hacerse la mezcla de

órganos donde los microorganismos deben competir más directamente por los nutrientes.

Microorganismos potencialmente patógenos

Se utilizaron medios de cultivo selectivos para todas las vísceras y la mezcla a fin de verificar la presencia de algunos microorganismos potencialmente patógenos (TABLA IV). Los resultados coinciden con Milios y col. [19] quienes reportan la presencia de *Pseudomonas* spp., Enterobacteriaceae y lactobacilos en mataderos de ovinos en Grecia; por su parte, Patterson y Gibbs [23], encontraron *Pseudomonas aeruginosa* y *Pseudomonas fluorescens* en muestras de hígado envasado al vacío. Devatkal y col. [5] registraron la presencia de Enterobacteriaceae en hígado de búfalo [10], lo que implica que la presencia de microorganismos potencialmente patógenos puede estar ligada más al proceso de manejo de vísceras que a la especie (bovino, ovino, etc.) en particular.

Para establecer si las diferencias entre órganos eran significativas se utilizó la prueba de Ji-cuadrado (χ^2). Se observó que no existía una diferencia significativa entre órganos, MC

($\chi^2(8) = 8,400$, $P=0,395$), BIS ($\chi^2(8)=4,258$, $P=0,833$), MH ($\chi^2(8)=5,965$, $P=0,651$), EAM ($\chi^2(9)=7,616$, $P=0,573$) y ASS ($\chi^2(9)=7,230$ $P=0,613$).

Litte y col. [16], encontraron la presencia de *Salmonella* en 3,1% de las vísceras de cordero muestreadas, mientras que Arroyo y Arroyo [2] lo reportaron para hígado, pulmón y corazón, con un mayor número en el hígado de cordero vendido a temperatura ambiente, en el presente caso no hubo diferencias entre los órganos pero sí se verifica la existencia de *Salmonellas*. La alta presencia de patógenos en vísceras y en particular en el hígado se explica debido a su composición alta en azúcares comparado con otras vísceras [5].

Actividad de agua con respecto al tiempo de almacenamiento

Las vísceras almacenadas de manera individual (M1) tuvieron diferencias significativas con respecto al tiempo de almacenamiento, $F(5, 839) = 31,52$, $P < 0,001$; $r = 0,40$. La actividad de agua se incrementó, al pasar de un promedio de $0,869 \pm 0,034$ a $0,918 \pm 0,031$. Según la prueba de Bonferroni [9] se

TABLA III
MEDIANAS DE LAS VISCERAS ENVASADAS AL VACÍO INDIVIDUALMENTE Y COMO MEZCLA SEGÚN DIVERSOS MEDIOS DE CULTIVO

Cultivo	Individuales (Md)	Mezcla (Md)	Resultado de la Prueba de Mann Whitney
AST	5020000	42000000	U= 17922,00; P<0,001; r= -0,16
MRS	19500	2940000	U= 8733,00; P<0,001; r= -0,24
ABRV	80000	5020000	U= 7831,00; P=0,372; r= -0,09
EAM	12000	15300	U=440,00; P=0,833; r=-0,12
ASS	5900	50200	U= 763,50; P=0,853; r= -0,13

TABLA IV
MEDIOS SELECTIVOS CON Y SIN CRECIMIENTO DE COLONIAS

Órgano	MC		BIS		MH		EAM		ASS		Total (%)	
	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-	+	-
Pulmón	1	0	3	1	5	3	2	0	2	3	70	30
Corazón	2	0	1	1	2	2			2	0	90	10
Cuajo-Librillo	0	1	2	1	2	2	1	0	2	1	67	33
Hígado	2	0	2	2	2	2	2	1	1	3	53	47
Intestino grueso	1	0	1	0	1	1			0	1	80	20
Intestino delgado	1	1	1	1	2	3			2	1	75	25
Panza	1	0	3	0	3	2	2	0	2	2	73	27
Riñones	1	0	1	0	1	1			1	0	100	
Tela de la panza	1	0	1	0			1	0	1	0	75	25
Mezcla					1	1			1	0	100	
Total	10	2	15	6	19	17	8	1	14	11	73	27

No se hicieron aislamientos de las vísceras: cuajo-librillo, librillo, falda de corazón debido a que no había colonias de interés. Las siembras se hicieron con colonias presentes a las 189 y 228 h.

observó que la actividad de agua se incrementó significativamente ($P < 0,001$) para la h 228 ($M = 0,918$, $SD = 0,031$) con respecto a la h 0 ($M = 0,869$, $SD = 0,034$), la h 44 ($M = 0,887$, $SD = 0,031$), la h 97 ($M = 0,881$, $SD = 0,030$), la h 134 ($M = 0,888$, $SD = 0,031$) y la h 189 ($M = 0,890$, $SD = 0,044$). Se observó una tendencia a incrementar con respecto a la hora 0, que varió con respecto a las h 44 y 189 ($P < 0,001$). Para el resto de h no se observaron diferencias significativas. Con respecto a la mezcla de vísceras (M2), no se observó diferencia significativa de la actividad de agua con relación al tiempo de almacenamiento ($X^2 = 9,593$, $gl = 5$, $P = 0,088$). El incremento en la actividad de agua se explica por el estrés que la matanza y el almacenamiento generan en las vísceras, las cuales requieren de la síntesis del consumo de energía como mecanismo de protección desencadenado por las proteínas presentes en las vísceras y en consecuencia la liberación de agua y ATP entre otros metabolitos [15]. Para el caso de la mezcla, la presencia de otro tipo de procesos osmóticos entre vísceras puede no permitir que se metabolicen las proteínas a la misma velocidad que cuando se almacenan individualmente.

Con el objetivo de entender por qué la mezcla tuvo un comportamiento sin diferencias significativas contrario a los órganos individuales en conjunto, se realizó el análisis de varianza para cada una de las vísceras en lo individual para las seis diferentes h de monitoreo, aplicando la prueba de Bonferroni para establecer qué vísceras presentaron mayor variación con respecto al tiempo. Se encontró que exceptuando el librillo ($F(5, 35) = 1,221$, $P = 0,324$) y la falda de corazón ($F(5, 35) = 1,750$, $P = 0,154$), todas las vísceras presentaban diferencias significativas con respecto al tiempo de almacenamiento (cuajo ($F(5, 35) = 4,29$, $P = 0,005$); intestino delgado ($F(5, 89) = 7,61$, $P < 0,001$); intestino grueso ($F(5, 89) = 4,932$, $P = 0,001$); panza ($F(5, 89) = 5,50$, $P < 0,001$); pulmón ($F(5, 89) = 4,513$, $P = 0,001$); hígado ($F(5, 89) = 4,924$, $P = 0,001$); riñón ($F(5, 89) = 3,198$, $P = 0,011$); corazón ($F(5, 89) = 4,716$, $P = 0,001$); cuajo-librillo ($F(5, 47) = 15,8$, $P < 0,001$); tela de panza ($F(5, 48) = 2,495$, $P = 0,044$)), esto se explica principalmente para la h 228 con respecto a la h 0. Por su parte, McPhail y col. [17] inocularon vísceras de res (*Bos Taurus*) con diferentes cepas de *E. coli*, y encontraron que a las 24 h de almacenamiento no había diferencias en la actividad de agua. Mientras que Jones y col. [14] observaron que, el tejido de hígado en refrigeración después de 6 d mantenía una consistencia estable, aunque la estructura celular se deterioraba, lo que representó cambios en la actividad de agua en relación con mayor tiempo de refrigeración.

Actividad de agua de las vísceras individuales (M1) y las vísceras mezcladas (M2)

En promedio, la actividad de agua de la mezcla de vísceras ($M = 0,897$, $SD = 0,036$, $Mdn = 0,880$) fue significativamente mayor a la de las vísceras individuales ($M = 0,885$, $SD = 0,036$, $Mdn = 0,900$), $U = 42,798$, 00 , $P = 0,002$, $r = -0,010$. Esta

misma prueba se hizo confrontando a la mezcla con cada uno de los órganos por individual para las diferentes h de monitoreo, observándose diferencias con respecto a órganos como el cuajo, tela de panza, riñón y corazón. Los resultados permiten intuir que la mezcla de órganos tiene mayor actividad de agua debido a procesos de equilibrio osmótico que se dan entre las diversas vísceras durante el proceso de almacenamiento, en especial debido a los procesos de degradación de vísceras como el hígado y los intestinos [11, 15].

Correlación entre la carga microbiana y las variables de medición

Con el objetivo de corroborar la correlación que pudiese existir entre la actividad de agua, las UFC/g y el pH, se hizo una correlación de Pearson [9], con la cual se pudo determinar que existe una correlación positiva entre la actividad de agua y las UFC/g, $r(927) = 0,34$, $P < 0,001$; en cambio, para las UFC/g y el pH, no existió correlación, $r(308) = 0,06$, $P = 0,627$. Los resultados obtenidos en el presente son consistentes con lo reportado previamente, donde la actividad de agua afecta el desarrollo de microorganismos, no así el pH [7].

Debido a que el medio de cultivo más importante por ser genérico era AST, se realizó un modelo de regresión lineal donde se incluyó sólo a este medio, esto con el objetivo de obtener un modelo más riguroso (TABLA IV), por lo que por cada incremento en 0,039 en la actividad de agua se tiene un incremento en $7,895 \times 10^7$ UFC/g ($R^2 = 0,141$, $P < 0,001$).

Los resultados de crecimiento microbiano con respecto al tiempo son consistentes con lo reportado por Gökten y col. [8], quienes establecieron que, la vida útil de intestinos envasados al vacío era de ocho d Gill y Jeremiah [7] por su parte, para hígado de vacuno y cerdo después de tres sem de envasado al vacío establecieron que la flora microbiana que predominó fueron los *Lactobacillus*, lo mismo sucedió para riñón de cerdo. El crecimiento microbiano es importante ya que estos microorganismos pueden producir lipo-oxidasas que aceleran la oxidación de ácidos grasos insaturados, produciendo aldehídos que contribuyen al enranciamiento [1], mientras que los patógenos pueden generar problemas de contaminación cruzada en los platillos finales de “barbacoa” o “pancita” [16], ya que el “barbacoyero” coce y empaca la carne en el mismo local donde realiza la matanza.

**TABLA IV
PARÁMETROS DEL MODELO DE REGRESIÓN LINEAL:
UFC EN FUNCIÓN DE LA ACTIVIDAD
DE AGUA PARA EL MEDIO DE CULTIVO AST**

	B	SD E	β
Constante	$-1,287 \times 10^9$	$1,685 \times 10^9$	
Actividad de agua	$1,506 \times 10^9$	$1,8655 \times 10^8$	0,375***

$R^2 = 0,141$ para actividad de agua; *** $P < 0,001$.

CONCLUSIONES E IMPLICACIONES

Los resultados permitieron concluir que, existen diferencias entre ambas presentaciones de envasado, donde las vísceras envasadas de manera individual son una mejor opción de almacenamiento, al tener menor actividad de agua y carga microbiana. Estas variables son adecuadas para monitorear vísceras durante su almacenamiento, mientras que el pH no presentó resultados concluyentes, por lo que no se recomienda su medición como indicador de vida de anaquel. Finalmente fue posible obtener un modelo de regresión lineal que establece la relación directa y positiva entre el desarrollo de la carga microbiana total en función del tiempo de almacenamiento. Es recomendable mejorar las prácticas de manejo durante el proceso de matanza a fin de reducir la carga microbiológica inicial de las vísceras y reducir la temperatura de almacenamiento a un valor cercano a los cero grados centígrados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] ABDULLAH, B.M. Composition, chemical and microbiological properties of Jordanian ovine organ meats. **Int. J. Food Sci. Tech.** 43(4): 746-751. 2008.
- [2] ARROYO, G.; ARROYO, J.A. Detection of *Salmonella* serotypes in edible organ meats from markets in Madrid, Spain. **Food Microbiol.** 12: 13-20. 1995.
- [3] CORNELIUS, A.J.; NICOL, C.; HUDSON, J.A. *Campylobacter* spp. in New Zealand raw sheep liver and human campylobacteriosis cases. **Int. J. Food Microbiol.** 99(1): 99-105. 2005.
- [4] CHIBA, L. I., Rumen microbiology and fermentation. In: **Animal nutrition handbook**. Auburn University, AL, USA. Pp 55-79. 2009.
- [5] DEVATKAL, S.; MENDIRATTA, S. K.; KONDAIAH, N.; SHARMA, M. C.; ANJANEYULU, A. S. R. Physicochemical, functional and microbiological quality of buffalo liver. **Meat Sci.** 68(1): 79-86. 2004.
- [6] GERMAMO C., R.; MICHEL DOS S., N.; NUNES DE M., A.; RAMOS DO E. Q., R. C.; SUELY M., M. Microbiological evaluation of precooked goat "Buchada". **Brazil. J. Microbiol.** 37: 362-367. 2006.
- [7] GILL, C. O.; JEREMIAH, L. E. The storage life of non-muscle offals packaged under vacuum or carbon dioxide. **Food Microbiol.** 8(4): 339-353. 1991.
- [8] GÖKTAN, D.; TUNÇEL, G.; ÜNLÜTÜRK, A. The effect of vacuum packaging and gaseous atmosphere on microbial growth in tripe. **Meat Sci.** 24(4): 301-307. 1988.
- [9] GUISANDE-GONZÁLEZ, C. Tratamiento de datos. Díaz Santos, España. 356 pp. 2006.
- [10] HANNA, M.O.; SMITH, G.C.; SAVELL, J.W.; MCKEITH, F.K.; VANDERZANT, C. Microbial flora of livers, kidneys and hearts from beef, pork and lamb: Effects of refrigeration, freezing and thawing. **J. Food Protec.** 45: 63-73. 1982.
- [11] HARPER, N.M.; GETTY, K.J.J.; BOYLE, E. A. E. Evaluation of sample preparation methods for water activity determination in jerky and kippered beef: A research note. **Meat Sci.** 86: 527-528. 2010.
- [12] HERNÁNDEZ S. J., S.; ZÚÑIGA E., A.; SÁNCHEZ O., I.; CASTRO R., J.; ROMÁN G., A. D.; SANTOS L., E. M. . Condiciones microbiológicas en el proceso de sacrificio en un rastro municipal del estado de Hidalgo, México. **Vet. Méx.** 38(2): 187. 2007.
- [13] INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATIONS FOR FOODS (ICMSF). **Microorganisms in foods: Microbiological ecology commodities**. 6ta. Ed. ICMSF, New York. 106 pp. 2005.
- [14] JONES, S.B.; STRANGE, E.D.; MALEEFF, B.E. Ultrastructure of pork liver after freeze-thaw cycling and refrigerated storage. **J. Food Sci.** 51(3): 761-765. 1986.
- [15] LEISTNER, L. Basic aspects of food preservation by hurdle technology. **Int. J. Food Microbiol.** 55(1-3): 181-186. 2000.
- [16] LITTLE, C.L.; RICHARDSON, J.F.; OWEN, R.J.; DE PINNA, E.; THRELFALL, E.J. *Campylobacter* and *Salmonella* in raw red meats in the United Kingdom: Prevalence, characterization and antimicrobial resistance pattern, 2003-2005. **Food Microbiol.** 25(3): 538-543. 2008.
- [17] MCPHAIL, N.; DYKES, G.; EUSTACE, I., Investigation of microbiological growth on offal during cooling. In: **Food Safety**. Meat & Livestock Australia Ltd. 12 pp. 2005.
- [18] MÉNDEZ, A.; AHUMADA, P.; HERNÁNDEZ, M.; DE LA TORRE, R.; MÉNDEZ, J. L.; SIERRA, M. A. Estudio de las lesiones aparecidas en un matadero ovino y caprino en Andalucía. **Proc. XXX Jornadas Científicas de la SEOC**. 28-30 de septiembre y 1ro de octubre. España. Pp 294-297. 2005.
- [19] MILIOS, K.; MATARAGAS, M.; PANTOUVAKIS, A.; DROSINOS, E. H.; ZOIPOULOS, P. E. Evaluation of control over the microbiological contamination of carcasses in a lamb carcass dressing process operated with or without pasteurizing treatment. **Int. J. Food Microbiol.** 146(2): 170-175. 2011.
- [20] MONDRAGÓN A., J.; DOMÍNGUEZ V., I.A.; REBOLLAR R., S.; BÓRQUEZ G., J. L.; HERNÁNDEZ M., J. Margins of sheep meat marketing in Capulhuac, State of Mexico. **Trop. Subtrop. Agroecosys.** 15: 105-116. 2012.
- [21] OSÓRIO, J.C.; OLIVEIRA, N.M.; OSÓRIO, M.T.; PIMENTEL, M.; POUHEY, J.L. Efecto de la edad al sacrificio sobre la producción de carne en corderos no castrados

- de cuatro razas. **Rev. Bras. de Agroc.** 6(2): 161-166. 2000.
- [22] OSÓRIO, J. C.; SIERRA, I.; OLIVEIRA, N. M.; OSÓRIO, M. T.; PIMENTEL, M. Estudio comparativo de tres sistemas de producción de carne de ovinos corriedale en Brasil. **Prod. Ovino Caprina.** XXIII: 465-468. 1998.
- [23] PATTERSON, J. T.; GIBBS, P. A. Vacuum-packaging of bovine edible offal. **Meat Sci.** 3(3): 209-222. 1979.
- [24] RUBIO, M. S.; TORRES, N.; GUTIÉRREZ, J.; MÉNDEZ, R. D. Composition and sensory evaluation of lamb carcasses used for the traditional Mexican lamb dish, "barbacoa". **Meat Sci.** 67(2): 359-364. 2004.
- [25] SAMUEL, W.; ZEWDE, G. G. Prevalence, risk factors, and distribution of *Cysticercus tenuicollis* in visceral organs of slaughtered sheep and goats in central Ethiopia. **Trop. Anim. H. Prod.** 42(6): 1049-51. 2010.
- [26] SECRETARÍA DE SALUBRIDAD. México. NOM-092-SSA1-1994. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. 43 pp. 1994.
- [27] SECRETARÍA DE SALUBRIDAD. México. NOM-113-SSA1-1994. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. 8 pp. 1994.
- [28] SECRETARÍA DE SALUBRIDAD. México. NOM-110-SSA1-1994. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. 7 pp. México. 1994.
- [29] SECRETARÍA DE SALUBRIDAD. México. NOM-109-SSA1-1994. Procedimiento para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. 19 pp. 1994.
- [30] SEN, A.R.; SANTRA, A.; KARIM, S. A. Carcass yield, composition and meat quality attributes of sheep and goat under semiarid conditions. **Meat Sci.** 66(4): 757-763. 2004.
- [31] SHERIDAN, J. J.; LYNCH, B. The influence of processing and refrigeration on the bacterial numbers on beef and sheep offals. **Meat Sci.** 24(2): 143-150. 1988.
- [32] STATISTICAL PACKAGE FOR THE SOCIAL SCIENCES (SPSS) FOR WINDOWS. Version 16. Chicago, USA. 2007.