



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Centro de Estudios de Postgrado

Trabajo Fin de Máster

EFFECTOS DEL TRATAMIENTO DE ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS SÓLO O EN COMBINACIÓN CON OTROS MÉTODOS SOBRE LA CONSERVACIÓN DE SALCHICHAS Y OTROS EMBUTIDOS.

Alumno/a: **Torres Palomo, Iván**

Tutor/a: Pérez Pulido, Rubén
Dpto: Ciencias de la Salud

Julio, 2020



UNIVERSIDAD DE JAÉN
Centro de Estudios de Postgrado

Trabajo Fin de Máster

EFFECTOS DEL TRATAMIENTO DE ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS SÓLO O EN COMBINACIÓN CON OTROS MÉTODOS SOBRE LA CONSERVACIÓN DE SALCHICHAS Y OTROS EMBUTIDOS.

Alumno/a: **Torres Palomo, Iván**

Tutor/a: **Pérez Pulido, Rubén**
Dpto: **Ciencias de la Salud**

Julio, 2020

ÍNDICE.

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	2
1.1 Tipos de carnes.....	2
1.2 La carne en España.....	4
1.3 Derivados cárnicos.....	8
1.3.1 Derivados cárnicos tratados por calor.....	9
1.3.2 Derivados cárnicos no tratados por calor.....	10
1.4 Salchichas.....	11
1.5 Conservación de los alimentos.....	13
1.5.1 Métodos físicos.....	14
1.5.2 Métodos químicos.....	17
1.5.3 Métodos biológicos.....	18
1.6 Altas presiones hidrostáticas.....	21
1.6.1 Ventajas del tratamiento de altas presiones en productos cárnicos.....	22
1.6.2 Efecto sobre los microorganismos.....	23
1.6.3 Efecto sobre las biomoléculas.....	24
1.7 Contaminación de la carne.....	26
1.7.1 Agentes contaminantes.....	26
1.7.2 Tipos de contaminación.....	28
1.8 Posibles microorganismos presentes en la carne.....	30
1.8.1 Bacterias alterantes.....	31
1.8.2 Bacterias patógenas.....	38

2. OBJETIVOS.....	47
3. MATERIAL Y MÉTODOS.....	48
3.1 Artículos sobre salchichas	48
3.2 Artículos sobre embutidos.....	52
4. RESULTADOS.....	62
4.1 Artículos sobre salchichas	62
4.2 Artículos sobre embutidos.....	69
5. COMPARATIVA Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.....	82
5.1 Comparativa y discusión de los artículos sobre salchichas.....	82
5.2 Comparativa y discusión de los artículos sobre embutidos.....	84
6. CONCLUSIONES.....	92
7. BIBLIOGRAFÍA.....	94

RESUMEN.

Los embutidos son un grupo heterogéneo de derivados cárnicos, los cuales han sido consumidos por los seres humanos a lo largo de los tiempos. Es de vital importancia que estos productos sean inocuos, evitando así que podamos llegar a enfermar por su consumo, y que posean una vida media útil lo más extensa posible para evitar que se deteriore antes de su consumo y así evitar grandes pérdidas económicas. Para ello se deben de controlar las etapas de producción, conservación, transporte y manipulación, con el fin de asegurar que el producto no contenga agentes nocivos para la salud o agentes alterantes de los alimentos. Durante estos controles, las cualidades y características organolépticas del producto no deben de cambiar, debido a que el producto podría no resultar apetecible ni atractivo para el consumidor. En esta revisión bibliográfica, se han analizado once artículos diferentes sobre la conservación de salchichas y otros embutidos mediante el tratamiento de altas presiones combinado o no con otras técnicas, para evaluar así los efectos de este tratamiento sobre las poblaciones de microorganismos y sobre sus características innatas.

ABSTRACT.

Sausages are a heterogeneous group of meat derivatives, which have been consumed by humans throughout time. It is vitally important that these products are innocuous, thus preventing us getting sick from their consumption, moreover they have the longest possible shelf life to prevent them from spoilage before consumption, furthermore thus avoid major economic losses. For this purpose, we must control the stages of production, conservation, transport and handling to ensure that the product does not contain spoilage agents to health or that alter food. During this controls, the qualities and organoleptic characteristics of the product should not be changed, because the product might not be appetizing neither attractive to the consumer. In this review, eleven different articles on the preservation of sausages by high-pressure treatment combined or not with other techniques have been analysed to evaluate effects of this treatment on microorganisms and sausage innate characteristics.

1. INTRODUCCIÓN.

La carne, según el Decreto 2484/1967, del 21 de septiembre, por el cual se aprueba el texto del Código Alimentario Español del Código Alimentario Español, se define como aquella parte comestible procedente del sacrificio en condiciones higiénicas de animales sanos. Las características organolépticas de la carne dependerán de la especie animal de la que provenga, la raza de dicho animal, edad, alimentación, estilo de vida, forma de sacrificio y período de tiempo transcurrido desde dicho sacrificio.

La carne está compuesta de agua en un 60-80%, de proteínas de alto valor biológico en un 16-23%, lípidos cuyos ácidos grasos son mayoritariamente saturados, aunque también posee ácidos grasos insaturados, en un 3-30%; y una pequeña porción de carbohidratos. La carne es una fuente de vitaminas como B₁, B₂ y B₁₂, esta última solo se encuentra en alimentos de origen animal; y de minerales como hierro, potasio, selenio y cinc (Ávila *et al*, 2009).

Hablar sobre la calidad de la carne resulta complicado debido a que esta es un producto muy heterogéneo, además, los criterios que determinan su calidad son muy subjetivos debido a que no existen métodos objetivos (instrumentales) de fácil aplicación en el mercado que permitan medir estos atributos como en el caso del color, la textura, jugosidad, etc. Desde otro punto de vista, el término de calidad de la carne puede interpretarse atendiendo a los aspectos higiénicos durante su producción, el consumo de carne no debe suponer ningún daño para el consumidor; a su valor nutritivo o a las características organolépticas, cuando este producto satisface las necesidades metabólicas del organismo por su contenido en energía, proteína, vitaminas y minerales; o tecnológicas. A grandes rasgos, los criterios que determinan la calidad de la carne son la composición química, pH, color, textura, jugosidad y flavor. Todos ellos dependen de diferentes factores que se pueden clasificar en dos grandes grupos: intrínsecos o propios del animal, como el sexo, la raza y extrínsecos; o no dependientes del animal, como pueden ser la alimentación, el transporte o el sistema de producción (Horcada Ibáñez *et al*, 2010).

1.1 Tipos de carnes.

Según el capítulo X de la tercera parte del Decreto 2484/1967, del 21 de septiembre, por el cual se aprueba el texto del Código Alimentario Español, las carnes se pueden organizar atendiendo cuatro clasificaciones:

- a) Según la especie animal de la que provenga dicha carne: Carnes de bóvidos, de camélidos, de cápridos, de cetáceos, de équidos, de ovinos y de suidos.
- b) Según la clase de la canal, entendiéndose esta como los cuerpos de los animales sacrificados una vez que sus vísceras han sido extraídas sin tener en cuenta los riñones, puede tener o no la cabeza, patas y piel. La canal debe presentar una masa muscular correctamente desarrollada por todo el cuerpo del animal. Las normas para poder clasificar las canales serán señaladas por la reglamentación y legislación complementaria a este Código.
- c) Según la categoría, entendiéndose por esta los diferentes tipos de carnes que proporcionan cada una de las regiones anatómicas dentro de la canal. Los reglamentos establecerán las diferentes categorías de carnes en los distintos tipos canales. Las pautas para el despiece adecuado de las distintas canales estarán señaladas por la reglamentación y legislación del Código.
- d) Según las formas en la que la carne se ha conservado para ser consumida por el ser humano, que puede ser:
 - a. Frescas. Aquellas que únicamente han sufrido las manipulaciones concretas del faenado previas a su distribución y cuya temperatura de conservación no sea inferior a cero grados centígrados.
 - b. Refrigeradas. Aquellas que además de las manipulaciones propias de las carnes frescas, se conservan industrialmente a unas temperaturas y humedades necesarias para alcanzar el centro de la masa muscular hasta una temperatura ligeramente superior a la temperatura de congelación de los jugos tisulares. Estas carnes, hasta su venta y después de la misma, hasta su consumo, deben mantenerse en condiciones similares.
 - c. Congeladas. Aquellas que además de las manipulaciones propias de las carnes frescas, se conservan industrialmente hasta que se consigue en el interior de la masa muscular una temperatura inferior a los -18 grados centígrados, según la especie y tiempo de conservación previsible. Estas carnes, hasta su venta y después de la misma, hasta su consumo, deben mantenerse en condiciones similares.
 - d. Impropias. No se permite la venta ni el consumo de estas carnes.

- e. Defectuosas. Aquellas que debido a las condiciones en vida del animal sacrificado ha habido un descenso en su valor nutritivo, además de poder presentar características organolépticas anormales.
- f. Nocivas. Aquellas que pueda provocar alteraciones en el consumidor por ser portadoras de microorganismos patógenos, parásitos y toxinas, o bien, por estar mal estado y/o mal conservada.

1.2 La carne en España.

El modelo español de ganadería se empezó a perfilar a finales de los años cincuenta y el principio de los sesenta del siglo XX. El modelo se centró inicialmente en aves y posteriormente en cerdos, mientras que en el caso del sector vacuno tuvo connotaciones distintas. La producción de ganado caprino y ovino, ganado típico del interior peninsular, quedó al margen de estos procesos de intensificación–modernización casi en su totalidad.

La nueva ganadería alteró intensamente el sistema tradicional de producción español en pocos años provocando:

- La sustitución de las razas autóctonas presentes en España por otras razas más especializadas en la producción cárnica. Esto tuvo su parte positiva como facilitar la producción de carne para abastecer una demanda creciente, pero también una parte negativa y es que influyó en la gran pérdida de diversidad genética del ganado español, que estaba adaptado a las condiciones duras agroclimáticas, y provocó que algunas razas desaparecieran.
- La modificación del mapa ganadero tal y como se conocía tradicionalmente en España: las regiones tradicionales que más producían como Galicia, Extremadura o Asturias cedieron su puesto a los grandes núcleos de la nueva ganadería intensiva, situados Cataluña, que arrastraba las producciones de Aragón, Valencia y el entorno de Madrid. Aun así, se mantuvo gran parte de la producción de Murcia y parte de Galicia, ligadas a empresas concretas.
- Cambio en los sistemas de producción: en las tres grandes especies productoras de carne como son las aves, el ganado porcino y vacuno, se consolidó una división entre las zonas de cría y el cebo, otras subfases de la

producción ganadera pasaron a desarrollarse en diferentes áreas geográficas, quedando separadas a grandes distancias y llevadas a cabo por ganaderos diferentes. Mientras gran parte de la cría quedó en áreas de ganadería tradicional, el cebo se trasladó a los nuevos núcleos mencionados y fue desarrollado por nuevos agricultores, para los que la ganadería era una nueva actividad y, frecuentemente, secundaria en la explotación.

- El desarrollo de la ganadería intensiva, así como cambios que fueron fundamentales en la producción de nuevos piensos y en la estructura y organización de la matanza.

Antes de la integración de España a la entonces Comunidad Económica Europea el sector ganadero–cárnico se había consolidado como uno de los más eficaces de la agricultura española. La producción española de carne siguió creciendo entre 1985 y 2005 la producción total de carne aumentó en 88%; la carne de aves 62%, la de porcino 123%, la de vacuno 78% y la de ovino 16,6%.

Desde el inicio de la década de los años noventa del siglo XX, España se convirtió en una gran exportadora de animales vivos, carnes y productos cárnicos, destacando las exportaciones porcinas. Sin embargo, el consumo de carnes dentro de España apenas ha subido desde la adhesión a la CEE, incluso se han producido caídas significativas, las cuales aún mantienen una tendencia a la disminución del consumo per cápita, paralela a un incremento del consumo de pescado.

A finales de la década de los noventa, el consumo de carne se vio afectado severamente debido a las crisis de las dioxinas y de la Encefalopatía Espongiforme Bovina (EBB). Todos los países de la UE arrastraron problemas enormes en su producción y estos hechos fueron los principales desencadenantes de la Política de Seguridad Alimentaria y de la implantación generalizada de la trazabilidad por toda la producción agraria, pero especialmente para la producción carnes y piensos, las nuevas exigencias han provocado grandes cambios (Langreo Navarro, 2008).

Según el informe del consumo alimentario en España de 2018 elaborado por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, el consumo de carne durante 2018 alcanza los 2.114,78 millones de kg, un 2,6% menos que el año anterior. Los hogares españoles destinaron el 20,64% de su presupuesto para alimentación a la compra de

carne durante el año 2018, lo que equivale a un gasto anual por persona de unos 308,98 €, un 0,8% inferior comparado con lo invertido en el año 2017. Por su parte, el consumo per cápita se sitúa en unos 46,19 kilos por persona al año, lo que supone una reducción de un 2,9% respecto al año anterior.

La tendencia de reducción en la demanda de carne iniciada en 2012 continúa en 2018, siendo la carne fresca en la que más se nota el descenso. Solo la carne transformada logró en 2018 un incremento de consumo con respecto al año anterior.

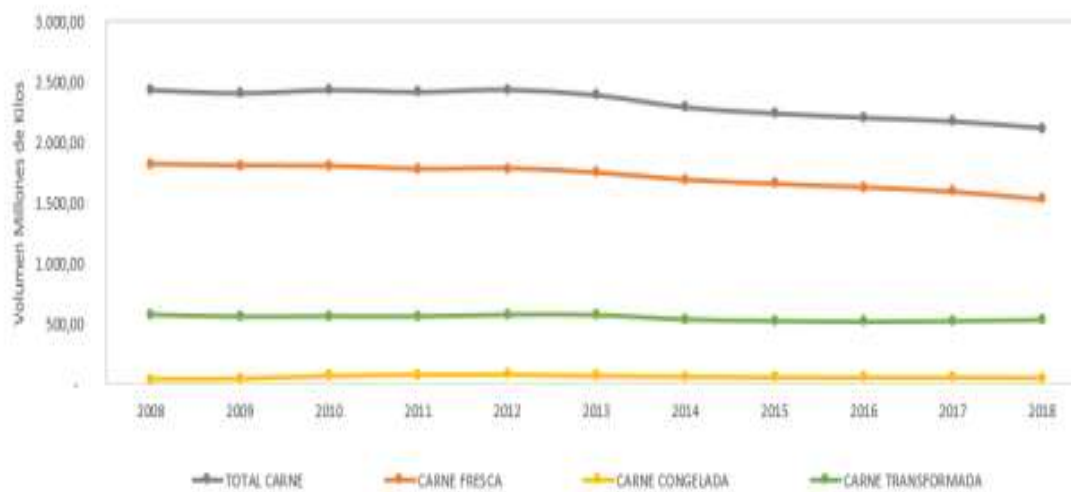


Figura nº1. Gráfico sobre la evolución desde 2008 hasta 2018 en la compra (millones de kilogramos) de varios tipos de carne (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2019).

El consumo per cápita de carne fresca durante el 2018 es de 33,48 kilos por persona, esto implica una reducción con respecto al año 2017 del 4,2%. Las carnes de pollo y cerdo respectivamente, son las más consumidas por los españoles.

	Consumo per cápita	
	AÑO 2017	AÑO 2018
CARNE FRESCA	34,93	33,48
CARNE VACUNO	5,19	4,90
CARNE POLLO	12,99	12,57
CARNE OVINO/CAPRINO	1,49	1,36
CARNE CERDO	10,23	9,99
CARNE CONEJO	1,16	0,97
CARNE DESPOJOS	0,93	0,89
OTRAS CARNES FRESCA	2,95	2,81

Figura nº2. Consumo per cápita de carne fresca en 2017 y 2018 (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2019).

Los españoles con el mayor consumo per cápita de carne son las personas retiradas, seguidas de los adultos independiente y a continuación las parejas adultas sin hijos. Por el contrario, las personas que conforman las parejas con hijos pequeños, poseen un consumo de carne un 35% más bajo que la media nacional, es decir, consumen una media de 16,13 kilos menos al año por individuo.

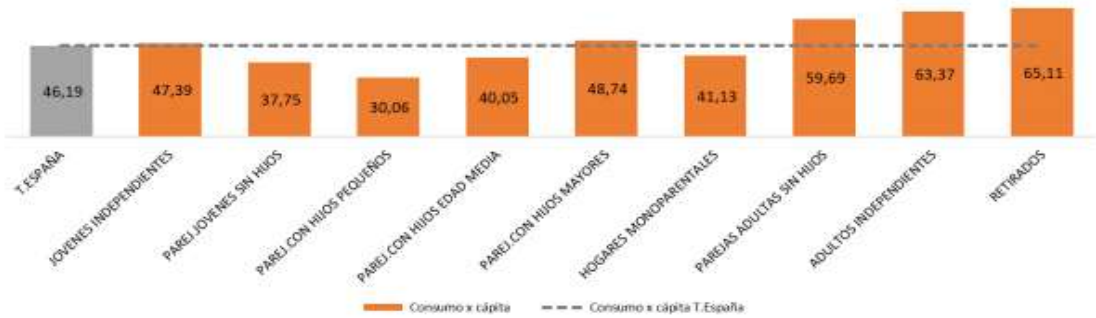


Figura nº3. Diagrama del consumo per cápita de carne por cada grupo demográfico (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2019).

El consumo de carne transformada por parte de los hogares españoles en 2018 crece un 1,9% con respecto a 2017. El gasto que realizaron los hogares también aumenta un 2,4% debido a que el precio medio se sitúa en los 8,68€/kg. Un 6,73% del presupuesto de los hogares españoles se destina a la compra de carne transformada, lo que supone un gasto por persona al año de unos 100,77€, una cantidad superior en un 2,0% a la invertida en el año anterior. También ha aumentado el volumen y el valor de esta carne transformada con respecto al año anterior en un 1,9% y 2,4% respectivamente (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2019).

2018		
	Consumo doméstico de Carne Transformada	% Variación v2018 vs.2017
VOLUMEN (Miles kg)	531.546,54	1,9%
VALOR (Miles €)	4.613.328,21	2,4%
CONSUMO x CAPITA (kg)	11,61	1,5%
GASTO x CAPITA (€)	100,77	2,0%
PARTE DE MERCADO VOLUMEN (%)	1,84	2,1%
PARTE DE MERCADO VALOR (%)	6,73	0,8%
PRECIO MEDIO (€/kg)	8,68	0,5%

Figura nº4. Información sobre la carne transformada (o derivados cárnicos) (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, 2019).

1.3 Derivados cárnicos.

Según el Real Decreto 474/2014, de 13 de junio, por el que se aprueba la norma de calidad de derivados cárnicos, se entienden por derivados cárnicos a los productos alimenticios que han sido preparados de forma total o parcial con carnes o menudencias de animales citadas en el punto 1.1 del anexo I del Reglamento 853/2004 del Parlamento Europeo y del Consejo de 29 de abril de 2004 por el cual se establecen las normas específicas de higiene de los alimentos de origen animal y sometidos a operaciones específicas antes de su puesta al consumo.

Estos derivados cárnicos deben de tener como ingrediente principal alguno de los siguientes elementos:

- a) Carne.
- b) Menudencias.
- c) Sangre o sus componentes o ambos.
- d) Tocino o grasa.
- e) Tripas naturales.

Y podrán tener como ingredientes secundarios alguno de los siguientes alimentos:

- a) Aceites y grasas comestibles.
- b) Agua.
- c) Azúcares solubles totales expresados en glucosa siendo como máximo un 5%
- d) Especies y condimentos.
- e) Gelatinas comestibles.
- f) Harinas y almidones expresado en glucosa siendo como máximo un 10 %, salvo en los casos de que el ingrediente principal sea rico en estos elementos.
- g) Proteínas de lácteos y proteínas de origen vegetal siendo como máximo un 3%.
- h) Vinos y licores.
- i) Otros productos alimenticios y alimentarios autorizados.

Cuando el ingrediente principal del derivado cárnico sea cereal u otro producto vegetal, podrá superar los límites marcados.

Los derivados cárnicos se clasifican atendiendo si durante su elaboración han sufrido tratamiento térmico o no, por tanto, los derivados cárnicos se dividen en tratados por calor y no tratados por calor.

1.3.1 Derivados cárnicos tratados por calor. Según el capítulo I del título primero del Real Decreto 474/2014, de 13 de junio, por el que se aprueba la norma de calidad de derivados cárnicos, se distinguen a su vez tres subgrupos según los tratamientos térmicos utilizado en la elaboración de los productos cárnicos. Estos subgrupos son:

- Derivados cárnicos esterilizados. No requieren de refrigeración para su conserva. Según provengan de las piezas cárnicas, carnes picadas o a partir de grasa, sangre o menudencias se dividen en:
 - Piezas: Jamón cocido y otras piezas cárnicas esterilizadas en conserva.
 - Carnes picadas: Salchichas enlatadas, chópéd enlatado, magro de cerdo en conserva, etc.
 - Otros: Productos esterilizados a partir de carne, sangres o menudencias o bien, una mezcla de ellas.
- Derivados cárnicos pasteurizados. Requieren de refrigeración para su conservación. Según provengan de piezas cárnicas, carnes picadas o a partir de grasa, sangre o menudencias se dividen en:
 - Piezas: Jamón cocido, paleta cocida, pechuga de pavo cocida, pechuga de pollo cocida, lomo cocido, etc.
 - Carnes troceadas o picadas: Mortadelas, budín de cerdo, butifarra, salchichas cocidas, magro de cerdo, etc.
 - Otros: Chicharrones, callos, lengua cocida, estómagos cocidos, etc.
- Derivados cárnicos con tratamiento térmico incompleto. Requieren de refrigeración para su conservación y generalmente de un tratamiento culinario previo para su consumo. Según provengan de piezas cárnicas, carnes picadas o a partir de grasa, sangre o menudencias se dividen en:
 - Piezas: Lomo semicocido, panceta y bacón.
 - Carnes troceadas o picadas.
 - Otros: Morcillas y algunas butifarras.

1.3.2 Derivados cárnicos no tratados por calor. Según el capítulo II del título primero del Real Decreto 474/2014, de 13 de junio, por el que se aprueba la norma de calidad de derivados cárnicos, se distinguen a su vez cinco subgrupos según el

tratamiento que se ha utilizado en la elaboración de los productos cárnicos. Estos subgrupos son:

- Derivados cárnicos curado-maduros. Integra aquellos productos sometidos a un proceso de salazón y de curado-maduración suficiente como para que estos productos adquieran unas características organolépticas concretas. Según provengan de piezas cárnicas o carnes picadas o a partir de grasa, sangre o menudencias se dividen en:
 - Piezas: Jamón y paletas curados, cecinas, tocino salado, panceta salada, lomo embuchado, etc.
 - Carnes troceadas o picadas. Chorizos, chistorras, salchichones, fuet, salami, sobrasadas, etc.
- Derivados cárnicos oreados. Integra aquellos productos sometidos a un proceso de salazón y de curado-maduración seguido de un tiempo de oreo suficiente para que adquieran características organolépticas propias. Según provengan de piezas cárnicas, carnes picadas o a partir de grasa, sangre o menudencias se dividen en:
 - Piezas: Lacón, panceta oreada, bacón oreado, etc.
 - Carnes troceadas o picadas: Chorizo oreado, chorizo criollo, morcilla oreada, alguna butifarra, etc.
 - Otros: Algunas salchichas y algunas butifarras.
- Derivados cárnicos marinados-adobados. Integra aquellos productos sometidos a un proceso de marinado-adobado. Requieren de refrigeración para su conservación y generalmente de un tratamiento culinario previo para su consumo. Según provengan de piezas cárnicas, carnes picadas o a partir de grasa, sangre o menudencias se dividen en:
 - Piezas: Lomo adobado.
 - Carnes troceadas o picadas: Pincho moruno.
 - Otros: Zarajos.
- Derivados cárnicos salmuerizados. Integra aquellos productos que han sido sometidos a un tratamiento con salmuera con el objetivo de mejorar sus

características organolépticas y su conservación. Por ejemplo: Codillo en salmuera.

- Derivados cárnicos no sometidos a tratamiento. Integra aquellos productos no pertenecientes a los otros grupos anteriores, estos productos han sido elaborados con carne fresca manipulada o sin manipular a la cual se le han añadido otros condimentos o aditivos. Por ejemplo: La hamburguesa, el flamenquín, longaniza, etc.

1.4 Salchichas.

Según la RAE, la salchicha es un embutido, que se encuentra en una tripa delgada, de carne de cerdo magra u otras carnes, bien picada, que se sazona con sal, pimienta y otras especias. Para realizar este trabajo nos hemos enfocado en el término inglés “Sausage” en el que se encuentran las salchichas al uso y los demás tipos de embutidos que conocemos como el chorizo, la morcilla, el salami, el fuet, etc. Según ese término, nos encontramos que existen varios tipos de salchichas que son las siguientes:

- Salchichas frescas. Estas salchichas se fabrican mezclando carne molida con condimentos. Este tipo de salchichas deben ser refrigeradas y cocinadas antes de consumir. Estas salchichas son fuente de proteínas, ácidos grasos monoinsaturados, hierro, fósforo, selenio, niacina y tiamina. Cada 100 gramos de estas salchichas aportan 295 Kcal; 12,9 g de proteínas, 27 g de lípidos totales de los cuales 9,97 g son saturados y 60,1 g de agua (Ávila *et al*, 2009).
- Salchichas cocidas y ahumadas. Estas salchichas se fabrican con carne molida sazonada que se embute en tripas y se cuece a una temperatura interna mínima de 68°C, después de esto se ahúma, luego se envasan y se distribuyen, deben estar refrigeradas hasta su consumo y poseen una vida útil de una o dos semanas. Estas salchichas son una fuente de proteínas, ácidos grasos monoinsaturados, fósforo, selenio, niacina, timina y vitamina B. Cada 100 gramos de estas salchichas aportan entre 230 hasta más de 300 Kcal, esto depende de su porcentaje de grasas; 12 g de proteínas, 27 g de lípidos totales

de los cuales 9,71 g son saturados, 3 g de hidratos de carbono y 58 g de agua. Tanto por su sabor como la facilidad de consumo es un producto con gran aceptación entre los pequeños y jóvenes (Ávila *et al*, 2009).

- Salchichas crudas y ahumadas. Estas salchichas se fabrican con carne molida sazónada que se embute en tripas y se ahúma, debe de cocinarse antes de consumirse. Estas deben ser almacenadas bajo refrigeración o puede ser congelado para un almacenamiento más largo.
- Salchichas secas o fermentadas. Estas salchichas se fabrican con carne molida sazónada que se embute, se cura y se deja secar cuidadosamente, tras este proceso de secado y fermentación, las salchichas adquieren un sabor característico debido al ácido láctico y las sales que se le añade. Ejemplo de este tipo de salchichas es el fuet.
- Salchichas fermentadas. Estas salchichas se fabrican con productos cárnicos picados o molidos que debido a la fermentación de un azúcar y al proceso de secado pueden ser vendidas y consumidas sin más cocción o tratamiento de calor, estos productos suelen tener un proceso de secado. Ejemplo de este tipo de salchichas es el salchichón.
- Salchichas semisecas. Estas salchichas difieren de las secas debido a su sabor picante. Estas se embuten en tripas naturales y pueden ser ahumadas o cocidas ligeramente, además pueden secarse, pero menos tiempo que las salchichas secas.
- Salchichas maduras con moho. Estas salchichas se fabrican con productos crudos y fermentados que poseen un largo tiempo de maduración y secado. Estas salchichas son muy similares a las fermentadas (Mohan, 2014).

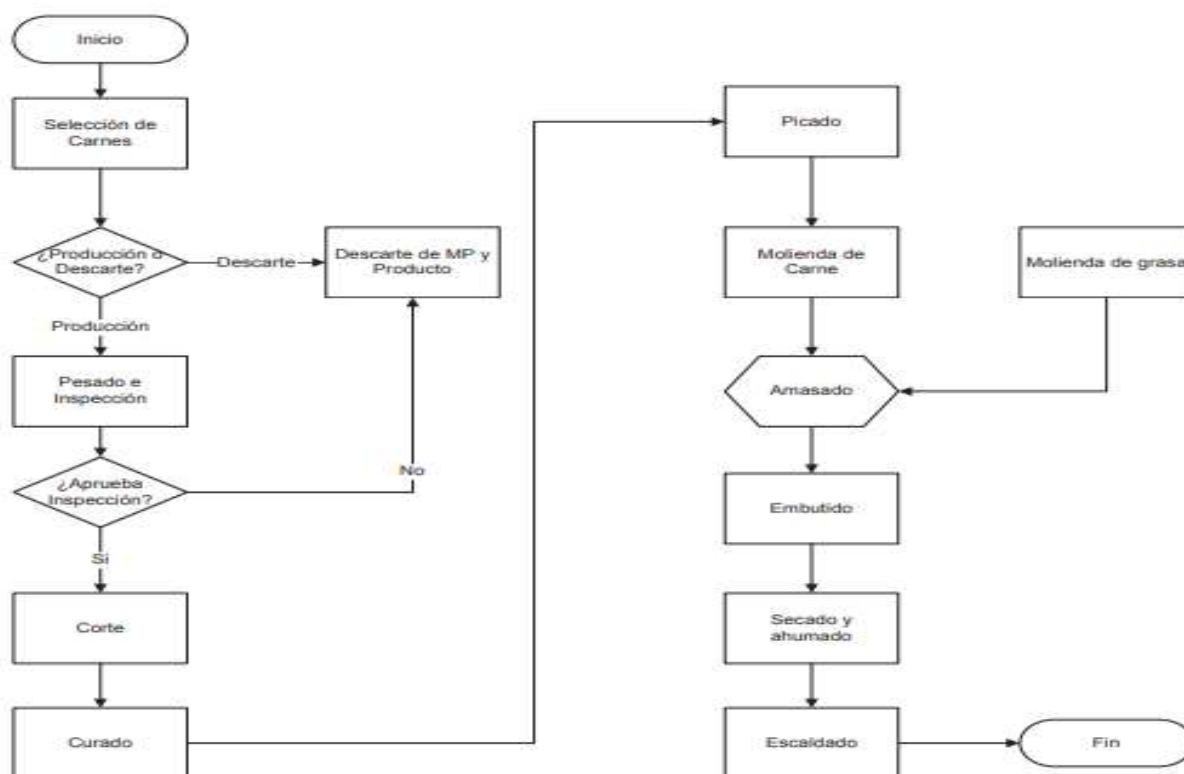


Figura nº 5. Diagrama de flujo sobre la elaboración de las salchichas (Zambrano Macías, 2011).

1.5 Conservación de los alimentos.

Las técnicas de conservación de los alimentos tienen como fin el mantener las propiedades naturales innatas de los alimentos como son sus características nutricionales y organolépticas, evitando su deterioro durante el mayor tiempo posible, así como para asegurar niveles aceptables de seguridad alimentaria evitando el crecimiento de posibles microorganismos alterantes, patógenos o sus toxinas.

Estos métodos de conservación comienzan con el análisis y comprensión completa de la cadena alimentaria, incluyendo la producción, procesamiento, embalaje, almacenamiento y la distribución de dichos alimentos.

Es de suma importancia la identificación de aquellas propiedades o características de los alimentos que deben ser preservadas según el alimento, debido a que una propiedad puede ser importante para un producto en concreto, pero puede ser perjudicial para otro (Rahman, 2007).

Las técnicas o métodos de conservación de los alimentos se pueden clasificar en tres grandes grupos: Métodos físicos, métodos químicos y métodos biológicos (Amit *et al*, 2017).

1.5.1 Métodos físicos.

Los métodos físicos de conservación de los alimentos son aquellos que utilizan tratamientos de tipo físico para destruir, eliminar o inhibir aquellos microorganismos que puedan ser perjudiciales para el ser humano sin el uso de químicos antimicrobianos o productos del metabolismo microbiano como factores para la conservación (Farkas, 2007).

La duración del proceso de conservación debe ser el suficiente para así asegurar la reducción de las poblaciones microbianas a unos niveles seguros. Debemos de tener que la intensidad del proceso físico debe ser el adecuado para asegurarnos que llega al centro del producto (Heldman, 2013).

1.5.1.1 Altas temperaturas.

La temperatura de almacenaje influye en los procesos de deterioro de los alimentos puesto que esta es uno de los factores más importantes para el mantenimiento de los productos y de su calidad. Por lo general, la temperatura ambiente provoca más rápidamente la pérdida de la calidad del producto, estos cambios incluyen cambios organolépticos y demás propiedades debido a la proliferación de microorganismos alterantes de estos alimentos (Hamad, 2012). Cuando la temperatura del medio supera la temperatura óptima para el crecimiento de un determinado microorganismo, la división celular se relentiza y finalmente cesa, mientras que un nuevo aumento de temperatura hasta llegar a unos 55-90°, tiene un efecto perjudicial para los microorganismos, estos sufrirán lesiones a nivel de membrana, ribosomas y/o proteínas que pueden acarrear su muerte. Mientras que unas temperaturas mayores pueden inactivar las esporas bacterianas.

Los tratamientos de conservación a altas temperaturas consisten en calentar el alimento rápidamente a una temperatura predeterminada, mantener esta temperatura durante un tiempo concreto y posteriormente, enfriar al producto. Las etapas de calentamiento y enfriamiento son esenciales para reducir al mínimo los posibles daños del producto y asegurar su conservación. Los diferentes tipos de tratamientos térmicos son la pasteurización, esterilización y escaldado (Yousef *et al*, 2013).

1.5.1.2. Bajas temperaturas.

Las temperaturas bajas mantienen las características del producto durante su almacenaje durante más tiempo, prolongando así su vida útil (Hamad, 2012). Mientras que las altas temperaturas destruyen los microorganismos presentes en el alimento, las bajas temperaturas suprimen el crecimiento bacteriano. Los diferentes tratamientos a bajas temperaturas son la refrigeración y la congelación. La refrigeración consiste en mantener a los alimentos a una temperatura menor que la ambiental, una contraprestación de este método es que dichas temperaturas bajas promueven el crecimiento de las bacterias psicrófilas y pueden poner en peligro la inocuidad del alimento. La congelación detiene la actividad metabólica de los microorganismos y, por tanto, se evita el deterioro de los productos por estos microorganismos. Los ciclos de congelación y descongelación pueden provocar daños físicos y matar a las células vivas, pero las toxinas de los alimentos generadas por los microorganismos por lo general no se ven afectadas por este proceso (Yousef *et al*, 2013).

1.5.1.3 Descenso concentración de agua.

La seguridad microbiológica de los alimentos está íntimamente influenciada por la concentración del agua. La actividad de agua (A_w) se refiere a agua que no está ligada a las moléculas de los alimentos y pueden favorecer al crecimiento de los microorganismos. Cada microorganismo posee un mínimo, un óptimo y un máximo de actividad de agua, estos microorganismos en general crecen mejor entre valores de A_w de 0,980-0,995 deteniéndose a valores de $<0,900$. Las levaduras y mohos pueden crecer a valores bajos de A_w , en torno a 0,6 (Dave *et al*, 2011).

Eliminar o restringir la disponibilidad de esta agua puede preservar los alimentos suprimiendo la multiplicación bacteriana o bien su metabolismo, extendiendo así la vida útil y la seguridad del producto. Existen diferentes métodos para modificar la cantidad de agua en los alimentos. El secado es el método más utilizado, este proceso consiste en la movilización del agua interina del alimento hacia su superficie donde se evaporará, también se emplea la adición de sustancias que ayudan a retener humedades como son el glicerol o la sal. Otros procesos son la liofilización donde se congela el producto primero y posteriormente se elimina la humedad por sublimación

y deshidratación osmótica, la cual permite eliminar el agua mediante soluciones hipertónicas de azúcares, sales u otros humectantes (Yousef *et al*, 2013).

1.5.1.4 Radiación ionizante.

El espectro electromagnético incluye frecuencias que pueden ser utilizadas en el procesamiento de alimentos, siendo la radiación gamma, los rayos X, la luz ultravioleta y la energía de microondas las más utilizadas. La irradiación provoca un daño permanente a los microorganismos presente en el alimento, a consecuencia de esto pierden su capacidad de multiplicarse y proliferar. La irradiación, además de los alimentos la pueden recibir otros objetos de la industria alimentaria como plásticos para el envasado alimenticio (Ganguly *et al*, 2012).

Las radiaciones electromagnéticas con longitudes de onda cortas (por ejemplo, la radiación gamma) tienen un efecto letal sobre los microorganismos. Cuando los alimentos se irradian con las radiaciones de longitud de onda larga (por ejemplo, las microondas), éstas se convierten en calor, que es la causa directa de la letalidad microbiana. La radiación puede utilizarse para tratar a una variedad de alimentos, como son carne, pescado, nueces, granos, vegetales, especias y mariscos. Dependiendo de la intensidad de la dosis la irradiación puede utilizarse para pasteurizar o esterilizar los alimentos (Yousef *et al*, 2013).

1.5.1.5 Campos de pulsos eléctricos (PEF)

Este tratamiento que conserva las características sensoriales y nutricionales innatas de los alimentos, consiste en la aplicación de una corta ráfaga de alto voltaje (20 a 80 Kv/cm) a un alimento colocado entre dos electrodos durante un tiempo del orden de microsegundos o milisegundos. El objetivo de este proceso es la destrucción de los microorganismos presentes en el alimento mediante la ruptura de su membrana, e incluso las enzimas presentes en estos. La temperatura de los alimentos aumenta como resultado de la resistencia a la electricidad, por eso se incluyen etapas de enfriamiento antes y después del tratamiento (Kumar *et al*, 2015).

1.5.1.6 Altas presiones.

Este tratamiento de altas presiones para la conservación de alimentos implica el uso de presiones en el rango de 100 a 1000 MPa para destruir o inactivar a los

microorganismos de los alimentos. Esta técnica será ampliamente descrita en otro apartado.

1.5.2 Métodos químicos.

La conservación química de los alimentos se basa en el uso de compuestos químicos orgánicos o inorgánicos carentes de toxicidad y que son capaces de evitar el crecimiento de microorganismos manteniendo el valor nutritivo del producto, por este motivo se añaden a los alimentos para mejorar su conservación. Estos compuestos químicos o aditivos cumplen una serie de funciones como evitar la descomposición del alimento por el crecimiento microbiano, mantener sus condiciones físico-químicas del producto, así como para ayudar en su fabricación o procesamiento y potenciar o mejorar su sabor (Toledo-del-Árbol, 2016). La eficacia de estos conservantes antimicrobianos depende de múltiples factores como el tipo de alimento, su procesamiento, el entorno de almacenamiento posterior y el tipo de microorganismos. Dicha conservación se logra más eficientemente cuando se conocen los microorganismos a inhibir, la concentración y tipo de antimicrobiano, las condiciones de almacenamiento de los productos, el pH de los alimentos y la presencia de otros agentes que afectan a la vida útil del alimento (Davidson *et al*, 2013).

Existe una amplia gama de aditivos que se utilizan para la conservación de los alimentos, según Codex Alimentarius, se clasifican atendiendo a su función tecnológica. Según las normas en los alimentos preenvasados estos deben rotularse de forma específica, con excepción de los saborizantes y los almidones que se pueden rotular en forma genérica (Viñuela, 2017). Algunos grupos de aditivos son conservantes, antioxidantes, colorantes, espesantes, estabilizantes, aromatizantes, edulcorantes, etc. Estos aditivos pueden ser naturales o sintéticos, los sintéticos no se encuentran en la naturaleza. Independientemente de su procedencia, estos conservantes deben ser seguros y deben estar recogidos y reconocidos por el Reglamento (UE) N° 1129/2011 de la comisión de 11 de noviembre de 2011 por el que se modifica el anexo II del Reglamento (CE) N° 1333/2008 del Parlamento Europeo y del Consejo para establecer la lista de aditivos alimentarios de la Unión Europea, muchos de estos conservantes legalmente permitidos son ácidos y ésteres orgánicos, incluyendo ácido cítrico, ácido acético, ácido láctico, ácido sorbido, sulfitos, nitritos entre otros. Los nitritos, nitratos y sulfitos, por ejemplo, se utilizan regularmente

en muchos alimentos como ingredientes funcionales y conservantes para curar la carne (Rahman, 2007).

La mayoría de las legislaciones de aditivos están basadas en listas positivas, en las cuales se consideran aditivos prohibidos a aquellos que no han sido autorizados expresamente, estas listas no están cerradas y pueden variar según los estudios pertinentes, ya sea para eliminar algunos, incorporar nuevos o variar los límites propuestos. A nivel de legislación internacional los aditivos alimentarios están más restringidos que los del Codex, la Unión Europea ha publicado varias directivas, una relativa a aditivos alimentarios distintos a los colorantes y edulcorantes y otras directivas específicas para colorante y edulcorantes. La FDA de Estados Unidos en el CFR (Code of Federal Regulations) Título 21, publica los listados de aditivos directos, indirectos, los aditivos denominados GRAS (Generalmente reconocidos como seguros) y en el caso de los colorantes, aquellos que necesitan una certificación y los que no necesitan esta certificación, presentando también diferencias con el Codex. Las diferencias más marcadas entre los aditivos permitidos en Estados Unidos y Europa están en los listados de colorantes y edulcorantes (Viñuela, 2017).

Muchas plantas poseen compuestos con actividad antimicrobiana, estos compuestos se catalogan como bioconservantes, el interés en estos se ha ampliado en estos últimos años debido a que los consumidores demandan alimentos más frescos y sin aditivos, por ejemplo, algunas especias y sus aceites esenciales: eugenol, aldehído cinámico, carvacrol, timol, etc; las cuales provienen de plantas como el orégano, tomillo, salvia o romero tienen actividad bioconservante (Burt, 2004).

1.5.3 Métodos biológicos.

Estas técnicas de conservación se denominan biopreservación, esta se define como la conservación que usa microorganismos (incluidos bacteriófagos), los productos de su metabolismo o ambas para la preservación del alimento (Montville *et al*, 2013).

Las bacterias del ácido láctico (BAL) se han utilizado durante miles de años para la producción de alimentos fermentados debido a la capacidad de estos para producir cambios en su sabor, aroma y textura, así como para inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos y alterantes. Dado que el consumo de alimentos fermentados es frecuente, las BAL, no deben de suponer ningún riesgo para la salud humana y se designan como organismos GRAS (Generally Recognized as Safe).

Estas bacterias producen in situ diferentes antimicrobianos como son el ácido láctico, ácido acético, peróxido de hidrógeno, dióxido de carbono y bacteriocinas (Jeevaratnam *et al*, 2005).

Las bacteriocinas se definen como péptidos o proteínas sintetizadas por bacterias que inhiben o destruyen a otros microorganismos, estas pueden tener un amplio espectro de acción. La mayoría de las bacteriocinas destruyen a las células diana por la permeabilización de su membrana celular, esta actividad es específica, ya que emplean receptores específicos en las superficies de las células diana (Kjos *et al*, 2011). Las bacterias producen bacteriocinas de forma natural para competir con otras bacterias por los nutrientes del medio. Los medios complejos con cambios en las condiciones de crecimiento de las bacterias, nutrientes, pH, actividad del agua (A_w) y temperaturas tendrán un efecto sobre el número de células bacterianas, su actividad metabólica y la producción de dicha bacteriocina (Dicks *et al*, 2018).

Las bacteriocinas se dividen en cuatro clases:

- Clase I. Lantibióticos. Pequeños péptidos modificados. (<5 kDa, termolábiles).
- Clase II. No lantibióticos. Pequeños péptidos no modificados. (<10 kDa, termoestables).
- Clase III. Péptidos más grandes (>30 kDa, termolábiles).
- Clase IV. Bacteriocinas complejas (De Vuyst, 2007).

Los esquemas de clasificación para las bacteriocinas están constantemente evolucionando debido al aumento en la complejidad y diversidad de estos péptidos. Con una mayor comprensión de cómo funcionan las bacteriocinas y la identificación de nuevas bacteriocinas, los sistemas establecidos para agruparlas deberán adaptarse y cambiar como consecuencia (Dicks *et al*, 2018).

Las bacteriocinas se pueden añadir directamente al alimento, como la nisina, también se pueden agregar cultivos bacteriocinógenos a los alimentos para la producción in situ de la bacteriocina o bien, se puede facilitar el uso de cultivos iniciadores, pero únicamente en alimentos fermentados (Montville *et al*, 2013).

De igual modo que con los antibióticos, las cepas tratadas con bacteriocinas pueden desarrollar resistencia. Los mecanismos implicados en la resistencia a la bacteriocina pueden ser adquiridos o innatos. La resistencia innata puede desarrollarse debido a

que la bacteria imita el sistema inmune de la cepa productora de bacteriocina, degradando así la bacteriocina o bien adaptando su envoltura celular bacteriana y las condiciones de crecimiento, esto se debe a la presencia de genes homólogos a los genes de inmunidad de cepas productoras de bacteriocina. La expresión de los genes homólogos confiere protección contra la bacteriocina. Además, algunas bacterias producen enzimas que degradan las bacteriocinas. Las mutaciones en los genes que codifican las proteínas involucradas en la estructura de la pared celular conducen a cambios en la carga de la superficie celular, evitando que la bacteriocina se una a la célula. A diferencia de la resistencia innata, las propiedades asociadas con la resistencia adquirida solo se encuentran en ciertas cepas de una especie. Los mecanismos responsables de esta resistencia varían mucho entre las mismas cepas y especies. Esta resistencia resulta de mutaciones genéticas o transferencia horizontal de genes mediante transformación, conjugación o transducción, alterando la pared celular, la membrana celular, los receptores y los sistemas de transporte. En definitiva, las bacteriocinas pueden ser una alternativa a los antibióticos (Dicks *et al*, 2018).

Por otra parte, las investigaciones sobre biología molecular de fagos impulsaron la utilización de bacteriófagos, virus altamente específicos que invaden las células bacterianas, como antimicrobianos naturales en alimentos naturales para inhibir a microorganismos indeseables en los alimentos (García *et al*, 2008). Los bacteriófagos no poseen metabolismo propio, ya que dependen de la bacteria huésped en la que se multiplican. La primera adhesión es reversible mientras que la segunda adhesión es irreversible, y posteriormente, el ADN del fago se integra en la bacteria sintetizando las proteínas del fago. Estas proteínas secuestran la célula huésped por completo y la obligan a producir exclusivamente bacteriófagos nuevos. Después del ensamblaje de la progenie del fago, dos proteínas del fago promueven la descomposición de la envoltura celular (lisis), lo que resulta en la liberación de nuevos bacteriófagos, listos para comenzar de nuevo ciclo. En ausencia de las bacterias objetivo, los bacteriófagos se desintegran. La población de fagos solo aumentará cuando haya un número suficiente de la célula huésped (Rossi *et al*, 2010).

Estos bacteriófagos pueden usarse:

1. Terapia para prevenir y reducir la colonización y enfermedades en el ganado.

2. Descontaminar canales u otros productos crudos, así como superficies de contacto.
3. Extender la vida útil de los alimentos perecederos como conservantes naturales (biopreservación) (García *et al*, 2008).

A pesar de estas ventajas, algunos autores han desarrollado argumentos que cuestionan la efectividad de los bacteriófagos como agentes antimicrobianos, por ejemplo, la transducción de bacteriófagos puede llegar a transferir características indeseables, como genes virulentos, de un organismo a otro, o producción por conversión lisogénica de células bacterianas que ya no son susceptibles a dichos ataques. Estos bacteriófagos también pueden mutar a bacteriófagos virulentos. Por lo tanto, para su aplicación como medio de biopreservación, los bacteriófagos deben caracterizarse cuidadosamente para determinar si pueden realizar una transducción generalizada o si portan algún gen de virulencia que podría expresarse en el huésped antes de la muerte (Rossi *et al*, 2010).

1.6 Altas presiones hidrostáticas.

La demanda por parte de los consumidores de alimentos mínimamente procesados ha aumentado el interés en las técnicas de conservación que no precisan tratamiento térmico o químico, como la tecnología de altas presiones hidrostática (APH) o en inglés, High Hydrostatic Pressure (HHP). Esta tecnología, también denominada pasteurización en frío, se utiliza para inactivar microorganismos patógenos u alterantes transmitidos por los alimentos, así como ciertas enzimas de interés sin modificar las propiedades nutricionales o sensoriales que normalmente se ven afectadas con el uso de tratamientos de conservación térmica (Wang *et al*, 2016).

El fundamento de esta técnica se basa en someter el alimento en cuestión, ya sea sólido o líquido, envasado en su forma final a presiones de entre 100 a 1000 MPa, el agua será el vehículo conductor de dicha presión, a una temperatura que comprende un rango de entre 0 y 100°C durante un tiempo variable (Andrés Martín, 2016).

Existen dos principios fundamentales en los que se basa la aplicación de las altas presiones hidrostáticas:

- Principio de Le Chatelier. Los fenómenos acompañados de una disminución de volumen son favorecidos por un aumento de presión y viceversa.

- Principio de Pascal. La presión que se ejerce sobre un fluido poco compresible y en equilibrio dentro de un recipiente de paredes indeformables, se transmite con igual intensidad en todas las direcciones y en todos los puntos del fluido (Mújica-Paz et al, 2011).

El equipo que se usa para este tratamiento consiste en una cámara de presurización donde introduciremos el alimento en cuestión envasado al vacío, el medio transmisor de presión (generalmente agua) y un sistema de bombas para generar la presión que requerimos (Gallardo *et al*, 2015). Este equipo es caro debido a alto costo de fabricarlo ya que este debe tener gran resistencia a la presión, la inversión de capital por tanto debe ser elevada. A pesar de esta inversión, la rentabilidad de este proceso no será mayor que otros métodos de conservación debido a que la carga de trabajo de este equipo es pequeña y la operatividad es intermitente, por tanto, aumentará el costo de producción del producto final (Wang *et al*, 2016).

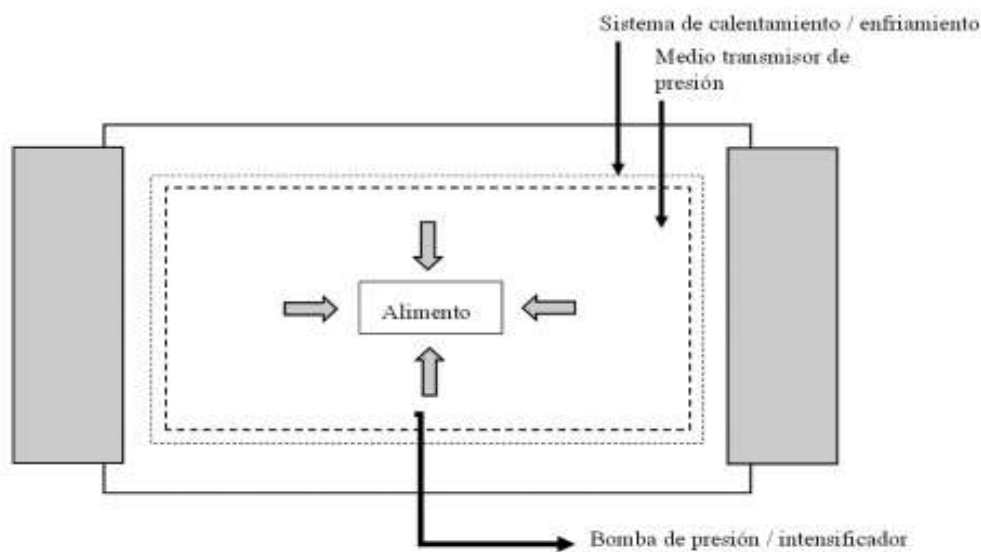


Figura nº6. Diagrama esquematizado del proceso de altas presiones (Gallardo *et al*, 2015).

1.6.1 Ventajas del tratamiento de altas presiones en productos cárnicos.

Las principales ventajas de la aplicación de altas presiones en productos cárnicos son:

1. Aumento de la vida útil del producto, pudiendo incrementar la misma de dos a tres veces comparándola con el mismo producto sin este tratamiento almacenadas en las mismas condiciones.
2. Su aplicación supone una reducción en el consumo de la energía que se emplearía en otros métodos de conservación.

3. Posibilidad de desarrollo de nuevos productos cárnicos seguros y funcionales (por ejemplo, con bajo contenido en sal o con Omega 3) naturales y libres de conservantes.
4. Versatilidad, ya que se puede emplear tanto en productos enteros, loncheados o troceados.
5. Para los productos cárnicos curados, este proceso reduce la salinidad del producto y adición de agentes microbianos.
6. Favorece la exportación de productos cárnicos a países de máxima exigencia sanitaria como Japón y Estados Unidos.

Siendo una de sus principales desventajas que, en carnes las frescas, debido a la presión y la energía que se desprende, el tiempo está limitado ya que puede producir cambios en la apariencia y textura de la misma, así como poder cocer el producto (Carballo *et al*, 2017).

1.6.2 Efecto sobre los microorganismos.

Como mencionamos anteriormente, el fin de esta técnica es inactivar o destruir los microorganismos patógenos u alterantes presentes en los alimentos. La inactivación o destrucción de estos se debe principalmente a cambios en la membrana celular, cambios bioquímicos, morfológicos o genéticos (Yousef *et al*, 2013).

La presión modifica las reacciones bioquímicas de las bacterias, modificando también su membrana y por tanto su morfología. Una membrana citoplasmática intacta es esencial para el mantenimiento de la homeostasis de la bacteria (Mañas *et al*, 2005), también provoca cambios en las proteínas y enzimas, y en su material genético lo que le imposibilita el proceso de replicación y transcripción. Además, provoca cambios morfológicos en las formas vegetativas de la bacteria debido a la compresión de gas de las vacuolas como alargamiento de la célula, separación de la membrana celular de la pared celular, formación de poros en la pared celular lo que provocaría que los constituyentes internos de la bacteria salieran al medio (Toledo-del-Árbol, 2016).

Cuando en la técnica de altas presiones se usa una presión mayor a 200 MPa se observa una alteración de las membranas de los microorganismos, una modificación de las propiedades físicas de las proteínas y además, influye sobre la cinética enzimática, cuando se usa una presión mayor a 300 MPa se observa la muerte de los microorganismos así como una inactivación enzimática irreversible, cuando se usa

una presión mayor a 400 MPa se observa la gelificación de los almidones así como la desnaturalización de las proteínas y cuando se usa una presión mayor a 500 MPa se observa la inactivación de las enzimas y de las esporas bacterianas (Santamaria, 2010).

No todos los microorganismos son igualmente sensibles a los efectos que producen la presión sobre ellos; es lo que se conoce como barorresistencia. El tratamiento de altas presiones puede conducir al crecimiento selectivo de algunas cepas que pueden crecer bajo estas condiciones, diremos que estas bacterias pueden ser resistentes a este tratamiento. Estas cepas pueden suponer un problema para la conservación del alimento o bien, debido a que muestran características nuevas, podrían de ser de gran interés en la industria, debido al aumento de su resistencia y que podrían contribuir a la aplicación de novedosas técnicas en la industria (Mota *et al*, 2013).

Las bacterias Gram-negativas como *Salmonella* son las más sensibles al empleo de las altas presiones, por tanto, son las más fáciles de destruir, seguidas por las levaduras, los mohos y las bacterias Gram-positivas como estreptococos, estafilococos y *Listeria* que requieren un tratamiento de presiones más elevadas, mientras que las más resistentes son las endosporas de las bacterias esporuladas, como son *Clostridium* y *Bacillus* (Casp *et al*, 2003).

1.6.3 Efecto sobre las biomoléculas.

Además de afectar a los microorganismos presentes en los alimentos, este tratamiento puede afectar a las características del propio alimento.

1.6.3.1 Efectos de las altas presiones en carbohidratos.

La reacción de Maillard, serie de reacciones químicas en cadena que dan lugar a la formación de pigmentos pardos con modificación del olor, color y sabor de diversos alimentos (Badui Dergal, 2016), se ve inhibida tras la aplicación de las técnicas altas presiones, en el rango de 50-200 MPa. Esta reacción puede darse en la leche, sobre la lactosa y otras proteínas provocando el descenso de su valor nutritivo, así como aumentar la alergenicidad de ciertas proteínas lácticas. Estructuras covalentes de bajo peso molecular como polisacáridos no son compresibles por las presiones comentadas anteriormente, mientras que, si estos polisacáridos sufren

presiones más altas, se modificaría la transición sol-gel, formándose geles diferentes a los obtenidos con calor (Pradas Baena *et al*, 2016).

1.6.3.2 Efectos de las altas presiones en lípidos.

Los principales efectos que ocurren después de la aplicación de las técnicas de altas presiones sobre los lípidos se encuentran en los cambios de fase. La temperatura de fusión general de los lípidos, en especial de los triglicéridos, se ve incrementada de forma reversible en torno a los 10-15°C por cada 100 MPa. Debido a este hecho los lípidos que se encuentran a en estado líquido a temperatura ambiente pueden cristalizar tras aplicarle presión, dando lugar a la formación de cristales estables y densos. Mientras que la temperatura de fusión de los lípidos, tanto en condiciones normales como bajo los efectos de la presión, depende de la longitud de la cadena hidrocarbonada, por tanto, será igual en ambos casos (Pradas Baena *et al*, 2016).

1.6.3.3 Efectos de las altas presiones en proteínas.

Las modificaciones de las proteínas se deben a cambios en las interacciones entre los grupos funcionales de los aminoácidos tanto intracelularmente como extracelularmente. La presión afecta a la estructura terciaria (provocando un desdoblamiento irreversible) y en la estructura cuaternaria (a través de las interacciones hidrofóbicas), estas proteínas pueden ser reversibles dependiendo de otros factores como la temperatura y el pH, entre otros factores, también puede tener lugar de forma irreversible. Tras la aplicación de presiones superiores a 100-200 MPa a una temperatura ambiente, ocurre la disociación de las macroestructuras en sus subunidades, así como el despliegue y la desnaturalización de las estructuras monoméricas. Cuando la presión y concentración proteica es elevada, debida a las interacciones hidrofóbicas se producen gelificaciones y agregaciones de los sistemas biológicos (Pradas Baena *et al*, 2016). Las altas presiones también afectan a las enzimas, el daño inducido por las altas presiones en las membranas facilita el contacto entre la enzima y el sustrato y la reacción resultante puede ser acelerada o retardada por dicha presión (Rastogi *et al*, 2007).

1.6.3.4 Efectos de las altas presiones en vitaminas.

Las técnicas de altas presiones a temperaturas moderadas mantienen el contenido vitamínico del producto, no ocurriendo lo mismo a temperaturas altas. Las

APH son los procesos tecnológicos que menos afectan a las vitaminas hidrosolubles, esto contribuye a la conservación de la calidad nutricional de dicho producto (Rastogi *et al*, 2007).

1.7 Contaminación de la carne.

Según el Codex Alimentarius se entiende por contaminación como la introducción o presencia de algún tipo de contaminante en los alimentos o en el medio ambiente alimentario, entendiéndose por contaminante aquellas sustancias que no han sido añadidas intencionadamente a los alimentos pero que han llegado a ellos como consecuencia de las distintas etapas que se componen toda la cadena alimentaria, que son la producción, fabricación, transformación, preparación, tratamiento, acondicionamiento, envasado, transporte y almacenamiento; o bien, como consecuencia de una contaminación medioambiental (Codex Alimentarius, 1997).

La OMS estima que cada año enferman en el mundo unos 600 millones de personas (casi 1 de cada 10 habitantes) de las que mueren 420.000 debido a la ingesta de alimentos contaminados. Siendo las infecciones diarreicas el tipo de enfermedad más recurrente debido a alimentos contaminados, estas infecciones enferman a 550 millones de personas anualmente de las que mueren 230.000 personas (OMS, 2019).

1.7.1 Agentes contaminantes

Los agentes contaminantes pueden ser de naturaleza física, de naturaleza química o de naturaleza física (Hussain, 2016).

1.7.1.1 Agentes contaminantes de naturaleza física. La contaminación se debe a la presencia de materiales o elementos anómalos que de forma natural no se encuentran en los alimentos, estos elementos pueden ser trozos de metal, plástico, cristales, huesos, uñas, pelo, bisutería, tiritas, etc; este tipo de contaminantes pueden provocar enfermedades o heridas a los consumidores (Australian Institute of Food Safety, 2019; Di Stefano *et al*, 2014).

1.7.1.2 Agentes contaminantes de naturaleza química. La contaminación se debe a la presencia de alguna sustancia química en el alimento, lo que puede resultar nocivo para el consumidor. Puede llegar de forma accidental o por mala manipulación (OPS/OMS, 2016; Australian Institute of Food Safety, 2019). Según su origen pueden clasificarse en:

1. Agroquímicos como medicamentos y pesticidas. Estos agroquímicos tienen tres posibles orígenes:
 - El primero origen proviene de los tratamientos cuya finalidad es obtener mayor rendimiento productivo en animales, como algunos antibióticos y ciertas hormonas que incrementan la ganancia de peso diaria de los animales o consiguen una mayor producción de leche.
 - El segundo origen proviene de los medicamentos veterinarios empleados con fines terapéuticos o profilácticos para el control de ciertas enfermedades como son los antibacterianos, los antiparasitarios, los corticoides y los anti-inflamatorios no esteroideos.
 - El tercer origen proviene de los contaminantes ambientales utilizados en agricultura como son los agroquímicos y los metales pesados, o bien, aquellos que provienen de la misma actividad ganadera (Lara, 2008).
2. Toxinas naturales como las micotoxinas.
3. Toxinas provenientes de procesos industriales como hidrocarburos aromáticos, ftalatos, dioxinas, acrilamida, etc.
4. Sustancias tóxicas transmitidas por el envase a los alimentos (Di Stefano *et al*, 2014).

1.7.1.3 Agentes contaminantes de naturaleza biológica. La contaminación biología de los alimentos es la causa mayor de enfermedades provocadas por la ingesta de alimentos y se produce cuando algunos microorganismos como las bacterias, parásitos como hongos; o virus se ponen en contacto con los alimentos debidos a aguas contaminadas, descuidos o mala higiene por parte del operador (Castro *et al*, 2014).

El Real Decreto 664/1997 del 12 mayo, sobre protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo; clasifica a los agentes contaminantes de naturaleza biológica en cuatro grupos atendiendo a su riesgo de infección, siendo el primer grupo aquellos microorganismos que resulta poco probable que causen algún tipo de enfermedad al hombre; el segundo grupo si puede causar enfermedad, pero es poco probable que se propague; el tercer grupo puede causar enfermedades graves y presenta riesgo de propagación y el cuarto puede causar enfermedades graves con gran posibilidad de contagio

colectivo y no existe ningún tipo de tratamiento eficaz contra el microorganismo causante de dicha enfermedad.

Algunos ejemplos de agentes contaminantes biológicos son:

- Agentes zoonóticos que pueden llegar a entrar en la cadena alimentaria como son *Brucella* o *Salmonella*.
- Patógenos transmitidos por los alimentos como *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*.
- Parásitos como: *Taenia solium*, *Taenia saginata*, *Anisakis simplex* y gusanos relacionados, entre otros (OPS/OMS, 2016).

1.7.2 Tipos de contaminación.

La contaminación puede llegar a la carne de tres formas:

- Primaria. Actualmente es prácticamente inevitable, ocurre en el proceso de producción primaria del producto. Para intentar evitar este tipo de contaminación la producción primaria debería de manejarse de tal manera que se consiga disminuir la probabilidad de introducción de factores de riesgo y contribuya adecuadamente a que la carne sea inocua e idónea para el consumo humano, para esto se recomienda seguir guías de buenas prácticas de higiene (GHP) (OPS/OMS, 2016; FAO, 2007).
- Directa. Forma más común de contaminación, los contaminantes se ponen en contacto con el alimento por medio del manipulador, que puede ser tanto un operador como cualquier persona en su hogar (OPS/OMS, 2016). Los operadores que no siguen buenas prácticas, o bien, que tienen algún descuido humano, pueden llegar a contaminar los alimentos que manipulan. Las manos, pelo, nariz y boca albergan gran cantidad de microorganismos que pueden ser transferidos al alimento durante el procesado del mismo (Marriott *et al*, 2006). Hay muchas razones por las que los hogares se consideran lugares de riesgo significativos de enfermedades transmitidas por los alimentos, debido a que la mayor parte de los alimentos que consumimos se preparan en casa, esto hace que aumente la posibilidad de que se produzcan errores en la manipulación de los alimentos, o bien, que se manipulen de forma incorrecta. Otra razón es que muchas personas poseen un mayor riesgo de estas enfermedades debido a

que son vulnerables por la edad, embarazos o enfermedades de algún tipo. Además, los alimentos preparados en el hogar pueden servirse a un grupo de personas mayor como comidas familiares o fiestas de algún tipo. Las cocinas de los hogares, a diferencia de las empresas, son lugares donde además de preparar la comida y almacenarla, se llevan a cabo otras acciones como zona de paso, habitáculo de mascotas, productos de limpieza, basura, etc; por esto no son lugares estériles (Byrd-Bredbenner *et al*, 2013). A pesar de todo esto, los brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos que se producen en hogares privados no suelen ser comunicados a las autoridades como si se hace en locales comerciales. Se cree que las infecciones en los hogares debido a alimentos contaminados son tres veces más frecuentes que en restaurantes (Redmond *et al*, 2009).

- Cruzada. Esta forma de contaminación se basa en la transferencia de contaminantes como bacterias de una superficie, objeto o lugar a un alimento (Podolak *et al*, 2010). Los alimentos crudos tienen bacterias en su superficie, estas bacterias son peligrosas, aquí radica la importancia de cocinar los alimentos, para eliminar dichas bacterias, pero si estas entran en contacto con comida ya cocinada, la bacteria pasará a estos alimentos ya cocinados provocando que la bacteria cause una intoxicación alimentaria que puede provocar la muerte del consumidor (Oxford Brookes University, 2011). La contaminación cruzada no solo se debe a las bacterias, sino también a los productos químicos, como aquellos que se pueden encontrar en la cocina o lugares de limpieza, como ya hemos comentado anteriormente (Byrd-Bredbenner *et al*, 2013). La contaminación cruzada no ocurre solo entre alimentos crudos y cocinados, sino que pueden existir vehículos intermediarios que transmiten el contaminante como pueden ser los diferentes utensilios de cocina como cuchillos, tablas de cortar; ropa o contenedores. Incluso las bolsas reutilizables presentan un potencial riesgo de contaminación cruzada (Oxford Brookes University, 2011). Para evitar la contaminación cruzada hay que seguir una serie de buenas prácticas como son la limpieza del material, superficies, manos del operador y de las cámaras frigoríficas; separar los alimentos crudos de los cocinados y no mezclarlos y cocinar a una temperatura y un tiempo

adecuado los alimentos para así eliminar las bacterias patógenas, que pueden causar enfermedades al consumidor (Byrd-Bredbenner *et al*, 2013).

1.8 Posibles microorganismos presentes en la carne.

La carne, y en especial la carne cruda, es susceptible a la proliferación de diversos microorganismos que pueden alterarla y deteriorarla o bien, pueden ser patógenos para el consumidor, esto se debe a que la carne es una matriz rica en nutrientes que proporciona un entorno adecuado para su proliferación (Heredia *et al*, 2014). Estos microorganismos, en su mayoría son bacterias, pero también pueden ser hongos, parásitos o virus (Sánchez, 2012).

Los mohos y levaduras crecen más lentamente que las bacterias, siendo los más comunes en carne especies de *Aspergillus*, *Penicillium*, *Saccharomyce*, *Mucor*, *Neurospora*, *Rhizophus*, *Thamnidium* y *Torulopsis* (Erkmen *et al*, 2016). Algunas especies de mohos pueden producir micotoxinas, metabolitos secundarios tóxicos que se consumiran con el alimento, las principales toxinas son las aflatoxinas, producidas por *Aspergillus* spp., esta micotoxina es responsable de alteraciones hepáticas y carcinogénicas, la aflatoxina B1 (AFB1) es considerada la aflatoxina más tóxica; y las ocratoxinas, que son producidas por *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp., estas son altamente nefrotóxicas, hepatotóxicas, inmunosupresoras y carcinogénicas. La ocratoxina A (OTA) es el miembro más tóxico de las ocratoxinas (Sánchez, 2012; Marin *et al*, 2013).

Los principales parásitos transmitidos por ingesta de quistes presentes en la carne son *T. gondii*, *Sarcocystis* spp., *Taenia* spp. y *Trichinella* spp. La cocción a una temperatura adecuada es una técnica efectiva para la eliminación de los parásitos, además de la congelación, procesamientos como el salado, curado y ahumado pueden reducir el riesgo de transmisión de estos, sin embargo, algunas especies de *Trichinella* muestran una notable resistencia. Algunas enfermedades transmitidas por estos parásitos son la toxoplasmosis, causada por el parásito *T. gondii*, esta enfermedad está considera como un problema grave de salud en mujeres embarazadas y en personas inmunodeprimidas, en personas inmunocompetentes la infección es subclínica; la taeniasis y cisticercosis por infección zoonotica de origen alimentario por la ingesta de huevos o larvas de tenia de las especies *Taenia saginata*, *T. saginata asiatica* y *T. solium*; y la triquinosis por la ingestión de larvas de nematodo

del genero *Trichinella* que está enquistada en el tejido muscular de la carne, la fuente más importante de infección en humanos es el cerdo (Dorny *et al*, 2009).

Los principales virus transmitidos por la ingesta de carne son los virus de la hepatitis A que causa hepatitis aguda; hepatitis E, así como virus entéricos responsables de virus entéricos causantes de trastornos gastrointestinales como Norovirus, Sapovirus, Astrovirus, Rotavirus y Adenovirus (Velebit *et al*, 2015; Rovira *et al*, 2011).

Algunas de las bacterias alterantes que puede contener la carne son: *Acinetobacter*, *Aerococcus*, *Aeromonas*, *Alcaligenes*, *Brochothrix*, *Carnobacterium*, *Enterobacter*, *Enterococcus*, *Flavobacterium*, *Hafnia*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Micrococcus*, *Moraxella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Serratia*, *Shewanella* y *Streptococcus*. Mientras que algunas de las bacterias patógenas que puede contener la carne son: *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Brucella*, *Campylobacter*, *Clostridium botulinum*, *Clostridium perfringens*, *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Staphylococcus aureus* y *Yersinia enterocolitica* (Erkmen *et al*, 2016). Procedemos a su descripción

1.8.1 Bacterias alterantes.

Como hemos mencionado anteriormente, las bacterias alterantes, son aquellas que provocan cambios en las características organolépticas y fisicoquímicas del producto.

Las principales bacterias alterantes de la carne son:

✓ *Acinetobacter*.

El género *Acinetobacter* se incluye dentro de la familia *Moraxellaceae*, orden *Pseudomonadales*, clase *Gammaproteobacteria*, filo *Proteobacteria*. Este género se caracteriza porque no son exigentes y se pueden cultivar fácilmente en medios de cultivo en el laboratorio. El género *Acinetobacter* se caracteriza por su morfología cocobacilar de 1-1,5 µm por 1,5-2,5 µm de tamaño medio, pero esto es variable según el medio y fase de crecimiento en el que se encuentre. Las especies de este género son estrictamente aeróbicas, Gram-negativas, no móviles, catalasa positiva y oxidasa positiva. La pared celular de *Acinetobacter* es típica de las bacterias Gram-negativas, pero su tinción conduce a error debido a que mantiene el cristal violeta como los cocos Gram-positivos (Almasaudi, 2018). Pueden ser patógenos oportunistas hospitalarios. Las especies de este género provocan la alteración de la carne debido a que degradan aminoácidos y ácidos orgánicos como el ácido láctico y producen compuestos como

nitritos, sulfuros y esterres lo que provoca alteraciones, en el aspecto, olor y textura del alimento (Sánchez, 2012).

✓ *Aerococcus*.

El género *Aerococcus* se incluye dentro de la familia *Aerococcaceae*, orden *Lactobacillales*, clase *Bacilli*, filo *Firmicutes*. Bacterias que pertenecen al grupo de las bacterias del ácido láctico. Son cocos Gram-positivos aerobios que se encuentran agrupadas en pares, tétradas o pequeños grupos. Algunas especies pueden ser patógenas para los seres humanos (Rasmussen, 2013).

✓ *Aeromonas*.

El género *Aeromonas* se incluye dentro de la familia *Aeromonadaceae*, orden *Aeromonadales*, clase *Gammaproteobacteria*, filo *Proteobacteria*. El género *Aeromonas* incluye bacilos Gram-negativos con extremos redondeados, estos bacilos miden 1-3,5 µm por 13 µm, anaerobios facultativos, catalasa y oxidasa positiva, móviles, algunas especies poseen un flagelo polar en uno de sus extremos. Son capaces de fermentar la glucosa, maltosa, D-galactosa y trehalosa. Pueden producir ureasa, pectinasa, ornitina descarboxilasa y triptófano, además pueden producir gas y en algunas condiciones H₂S. Además, producen una serie de factores de virulencia como la hemolixina y enterotoxinas de interés clínico (Stratev *et al*, 2012; Parker *et al*, 2011; Janda *et al*, 2010).

✓ *Alcaligenes*.

El género *Alcaligenes* se incluye dentro de la familia *Alcaligenaceae*, orden *Burkholderiales*, clase *Betaproteobacteria*, filo *Proteobacteria*. Este género incluye bacilos cortos 0,5-2,6µm, son Gram-negativos, oxidasa y catalasa positivos, móviles y presentan flagelos. Poseen actividad aminoacilasa, y no pueden fermentar azúcares ni producir ácidos. No todas las especies de este género poseen características fisiológicas y bioquímicas específicas. Pueden alcalinizar el malonato, la acetamida, la alantoína, la histidina y el itaconato. Producen lipasas que pueden alterar el pH y el aspecto pudiendo llegar a gelatinizar el medio, también pueden producir olores nauseabundos como consecuencia de los aminoácidos que quedan libres en el medio, así como los compuestos de nitrógeno (Gillespie *et al*, 2006; Iulietto *et al*, 2015).

✓ *Brochothrix*.

El género *Brochothrix* se incluye dentro de la familia *Listeriaceae*, orden *Bacillales*, clase *Bacilli*, filo *Firmicutes*. Este género comprende bacterias en forma de bastón, estas muestran cambios morfológicos durante su crecimiento. Son bacterias Gram-positivas, no móviles, no formadoras de esporas, oxidasa y catalasa positiva y anaerobias facultativas. La especie *B. thermosphacta* es considerada un organismo de descomposición no proteolítico en carnes preenvasadas en refrigeración, en condiciones anaeróbicas producen entre otros productos, ácido láctico y etanol. Esto se asocia con una descomposición que se caracteriza por olores desagradables y ácidos que dan lugar a putrefacción (Stanborough *et al*, 2017; Stackebrandt *et al*, 2006).

✓ *Carnobacterium*.

El género *Carnobacterium* se incluye dentro de la familia *Carnobacteriaceae*, orden *Lactobacillales*, clase *Bacilli*, filo *Firmicutes*. Este género de bacterias ubicuas del ácido láctico combina especies de bacterias Gram-positivas, anaerobias facultativas y no formadoras de esporas. La mayoría de las especies producen ácido láctico como producto final de su metabolismo. Aun siendo microorganismos alterantes de los alimentos, también se han estudiado como posibles cultivos protectores para inhibir microorganismos patógenos y de descomposición (Pikuta *et al*, 2014; Leisner *et al*, 2007).

✓ *Enterobacter*.

El género *Enterobacter* se incluye dentro de la familia *Enterobacteriaceae*, orden *Enterobacteriales*, clase *Gammaproteobacteria*, filo *Proteobacteria*. Este género comprende especies con forma bacilar de 2 µm de largo, son Gram-negativos, anaerobios facultativos, móviles y presentan flagelos peritricos, son fermentadores de azúcar y producen gas, catalasa positiva y oxidasa negativa. Se consideran como indicadores de contaminación fecal. Producen ácidos a partir de la fermentación del azúcar lo que causa olores y aspectos extraños en los alimentos. Algunas de las especies de este género son patógenas oportunistas (Octavia *et al*, 2014; Davin-Regli *et al*, 2019).

✓ *Enterococcus*.

El género *Enterococcus* se incluye dentro de la familia *Enterococcaceae*, orden *Lactobacillales*, clase *Bacilli*, filo *Firmicutes*. Son bacterias del ácido láctico con morfología cocoide, anaerobios aerotolerantes, Gram-positivos, catalasa negativa, no esporulados que se agrupan en parejas o en cortas cadenas. Son indicadores de contaminación fecal y pueden ser patógenos y destaca su capacidad para descarboxilar aminoácidos, generando así aminas biógenas, especialmente a partir de la tirosina y en menor grado de la histidina, que pueden provocar intoxicaciones (Ayani et al, 2008).

✓ *Flavobacterium*.

El género *Flavobacterium* se incluye dentro de la familia *Flavobacteriaceae*, orden *Flavobacteriales*, clase *Flavobacteria*, filo *Bacteroidetes*. Incluye bacilos Gram-negativos, móviles o no móviles, aerobios o anaerobios facultativos, no esporulados y productores de pigmentos amarilla, naranja, amarilla-marrón. Son fermentadores débiles de azúcares con escasa producción de ácidos (Enisoglu-Atalay et al, 2018). Pueden actuar como patógenos oportunistas y son productores de lipasas, fosfolipasas y proteasa, pudiendo así alterar y contaminar los alimentos. (Sánchez, 2012).

✓ *Hafnia*.

El género *Hafnia* se incluye dentro de la familia *Enterobacteriaceae*, orden *Enterobacteriales*, clase *Gammaproteobacteria*, filo *Proteobacteria*. Este género comprende bacilos Gram-negativos de 1 por 2-5 µm, móviles, aerobios o anaerobios facultativos. Catalasa positiva y oxidasa negativa. Pueden reducir los nitratos a nitritos. La mayoría de las especies usan como única fuente de carbono el citrato. Pueden fermentar azúcares y producen gas. Pueden ser patógenos oportunistas y alteran a los alimentos mediante la producción de gas, acidificación del producto y provocar cambios organolépticos (Sakazaki, 2015).

✓ *Lactobacillus*.

El género *Lactobacillus* se incluye dentro de la familia *Lactobacillaceae*, orden *Lactobacillales*, clase *Bacilli*, filo *Firmicutes*. Tienen una morfología diversa, pueden formar cadenas, poseen poca motilidad, no formadoras de esporas, Gram-positivas,

anaerobios facultativos y oxidasa y catalasa negativa. El rango de temperatura de crecimiento es 2-53C°, el óptimo en general es 30–40C°. Posee un pH óptimo de generalmente 5.5-6.2; y el crecimiento generalmente se produce a un pH de 5,0 o inferior (Hammes *et al*, 2009). *Lactobacillus* pertenece al grupo de bacterias del ácido láctico junto con *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Leuconostoc* y *Streptococcus*, son capaces de degradar la glucosa generando así ácido láctico y gas. Cuando la glucosa se agota tienen la capacidad de degradar los aminoácidos generando así compuestos azufrados volátiles y aminas, que dan lugar a olores y sabores ácidos, agrios o rancios, provocan exudado, formación de limo, acidificación e hinchamiento de los envases de los alimentos por producción de gas (Iulietto *et al*, 2015).

✓ *Leuconostoc*.

El género *Leuconostoc* se incluye dentro de la familia *Leuconostocaceae*, orden *Lactobacillales*, clase *Bacilli*, filo *Firmicutes*. Estas bacterias pertenecen al grupo de las bacterias del ácido láctico. Son cocos de pequeño tamaño, regulares y ovoides Gram-positivos, a menudo forman cadenas. No son móviles ni forman esporas y son catalasa negativos. Tras la fermentación de los azúcares producen ácido láctico y gas. Al igual que las otras bacterias del ácido láctico, se emplean en el proceso de conservación de los alimentos, aun así, también pueden alterar los alimentos mediante la producción de cambios en las características organolépticas de los productos, así como formación de gas y limo (Säde, 2011).

✓ *Micrococcus*.

El género *Micrococcus* se incluye dentro de la familia *Micrococcaceae*, orden *Actinomycetales*, clase *Actinobacteria*, filo *Actinobacteria*. Este género comprende cocos que normalmente disponen en tétradas, Gram-positivas, móviles o inmóviles, no formadoras de esporas y son aerobios estrictos. Catalasa y oxidasa positiva. Pueden ser patógenos alterantes. Al producir enzimas como proteasas, lipasas y descarboxilasas pueden alterar el alimento, además puede producir acidificación del producto, cambios organolépticos y producción de limo (Dib *et al*, 2013; Götz *et al*, 2006).

✓ *Moraxella*.

El género *Moraxella* se incluye dentro de la familia *Moraxellaceae*, orden *Pseudomonadales*, clase *Gammaproteobacteria*, filo *Proteobacteria*. Este género comprende bacterias Gram-negativas, inmóviles, aerobias estrictas, catalasa y oxidasa positivas. Algunas especies pueden actuar como patógenos oportunistas. Pueden crecer sobre los alimentos como la carne, causando la degradación de aminoácidos y ácidos orgánicos como el ácido láctico, produciendo así compuestos como ésteres, nitrilos y sulfuros, causando la alteración organoléptica del producto (Betts, 2006; Iulietto et al, 2015).

✓ *Proteus*.

El género *Proteus* se incluye dentro de la familia *Enterobacteriaceae*, orden *Enterobacteriales*, clase *Gammaproteobacteria*, filo *Proteobacteria*. Este género incluye bacterias Gram-negativas con forma bacilar recta de 0,4-0,8 por 1-3 µm; anaerobias facultativas, móviles por flagelos, catalasa positiva y oxidasa negativa. Algunas especies pueden actuar como patógenas oportunistas. Se considera a *Proteus* como indicador de contaminación fecal. Alteran a los alimentos mediante la acidificación del producto y provocan cambios organolépticos, así como putrefacción (Penner, 2015; Drzewiecka, 2016).

✓ *Pseudomonas*.

El género *Pseudomonas* se incluye dentro de la familia *Pseudomonaceae*, orden *Pseudomonadales*, clase *Gammaproteobacteria*, filo *Proteobacteria*. Este género incluye bacterias con bacilar recta o ligeramente curvada de 0,5-1 por 1,5-5 µm, son Gram-negativas, móviles por uno o varios flagelos polares, aerobio estricto, no fermentadores, catalasa positiva y oxidasa positiva o negativa según la especie. Algunas especies pueden ser patógenas para los humanos mientras que otras, como *P. fluorescens*, producen y secretan enzimas hidrolíticas como lipasas y proteasas, lo que provoca en los alimentos alteraciones en sus características organolépticas y producción de limo en su superficie lo que provoca aspecto viscoso, e incluso putrefacción (Palleroni, 2008; Iulietto et al, 2015).

✓ *Serratia*.

El género *Serratia* se incluye dentro de la familia *Enterobacteriaceae*, orden *Enterobacteriales*, clase *Gammaproteobacteria*, filo *Proteobacteria*. En este género se encuentran bacterias con forma bacilar de 0,5-0,8 por 0,9-2 µm de longitud. Son Gram-negativas, móviles por flagelos peritricos, no encapsulados, anaerobios facultativos, catalasa positiva. Son capaces de fermentar azúcares sin producción de gas. Pueden actuar como patógenos oportunistas. Pueden crecer a bajas temperaturas y en su metabolismo son capaces de generar múltiples enzimas como lipasas, proteasas, gelatinasas, lecitinasas, quitinasas y esterases que pueden alterar las propiedades organolépticas de los alimentos. Algunas especies pueden sintetizar un pigmento que puede alterar los alimentos (Grimont *et al*, 2015).

✓ *Shewanella*.

El género *Shewanella* se incluye dentro de la familia *Shewanellaceae*, orden *Alteromonadales*, clase *Gammaproteobacteria*, filo *Proteobacteria*. Este género comprende bacilos móviles por flagelos, Gram-Negativos, son oxidasa y catalasa positiva, anaerobios facultativos, fermentadores variables de los azúcares, y productores de gas y ácido sulfhídrico (Holt *et al*, 2005). Pueden actuar como patógenos en peces y pueden alterar tanto el pescado como la carne. *S. putrefaciens* es una de las especies más frecuentemente en la alteración de los alimentos, que actúa de forma similar al género *Pseudomonas*. Provoca cambios organolépticos como la alteración del, color y aparición de olores anómalos en los alimentos (Doulgeraki *et al*, 2012).

✓ *Streptococcus*.

El género *Streptococcus* se incluye dentro de la familia *Streptococcaceae*, orden *Lactobacillales*, clase *Bacili*, filo *Firmicutes*. Estas bacterias pertenecen al grupo de las bacterias del ácido láctico, son cocos Gram-positivos que se agrupan en parejas o en cadenas, son anaerobios facultativos que fermentan los azúcares produciendo ácido láctico, no son móviles, no forman esporas y son catalasa y oxidasa negativas. Este género además de especies alterantes, también incluye importantes especies patógenas (Kilian, 2007).

1.8.2 Bacterias patógenas.

Como hemos mencionado anteriormente, las bacterias patógenas, son aquellas que pueden causar enfermedades al consumidor.

Las principales bacterias patógenas de la carne son:

✓ *Listeria monocytogenes*.

Listeria Monocytogenes es una especie que se incluye dentro del género *Listeria*, familia *Listeriaceae*, orden *Bacillales*, clase *Bacilli* y filo *Firmicutes*. El género *Listeria* incluye más de 17 especies reconocidas, en el que se encuentra *Listeria Monocytogenes* y también *Listeria innocua*, que es la especie con la que vamos a trabajar en este experimento (Orsi et al, 2016).

L. innocua es un bacilo Gram-positivo que se clasifica como una especie no patógena y no hemolítica dentro del género *Listeria*. Una de las principales diferencias entre *L. innocua* y *L. monocytogenes* es que *L. innocua* no presenta los genes de virulencia descritos en *L. monocytogenes* patógena. Sin embargo, algunas de las cepas hemolíticas atípicas de *L. innocua* aisladas y caracterizadas dieron positivo en varios genes de virulencia del grupo de genes LIPI-1 de *L. monocytogenes*, así como el operón *inlAB* específico de *L. monocytogenes*. La presencia de estos genes de virulencia en estas cepas atípicas podría suponer que esta especie se vuelva patógena para los humanos, también debido a la similitud en las características fenotípicas y genotípicas de estas dos especies, podría conducir a una identificación errónea de los microorganismos por parte de los servicios de laboratorio. Por último, otro factor a tener en cuenta, es que estas cepas atípicas pueden constituir un reservorio de genes de virulencia que podrían ser transferidos a otras especies de este género (Moreno et al, 2012).

L. monocytogenes es un bacilo Gram-positivo patógeno capaz de crecer en refrigeración, anaerobios facultativos, móvil por flagelos, catalasa positiva, oxidasa negativa, no esporulado y no encapsulado. Pueden fermentar glucosa y otros azúcares (Orsi et al, 2016). Entre los factores de virulencia de *L. monocytogenes* se encuentran los antígenos somáticos (O) y los antígenos flagelares (H), las betahemolisinas citolíticas (listeriolisinas) que presentan capacidad lipolítica, es capaz

de crecer en el interior de las células fagocíticas mononucleares, escapando así del sistema inmune del hospedador (Camejo *et al*, 2011).

La enfermedad que provoca esta bacteria se denomina listeriosis, esta enfermedad afecta a los humanos, pero tiene mayor importancia para las personas pertenecientes a los grupos de alto riesgo como son las personas inmunodeprimidas, ancianos, recién nacidos y mujeres embarazadas y sus fetos. La sintomatología de listeriosis invasiva es diferente para estos grupos de poblaciones, en adultos sanos la listeriosis se presenta principalmente como cuadros diarreicos y fiebre; en el caso de mujeres embarazadas se trata de fiebre, diarrea y el posible aborto del feto o bien, nacimiento de mortinatos debido a que los recién nacidos contraen sepsis, meningitis o neumonía; los ancianos y personas inmunodeprimidas pueden desarrollar sepsis, meningitis e infecciones graves que afectan al sistema. Mientras que la listeriosis no invasiva, provoca gastroenteritis febril (Todd *et al*, 2011; Donovan, 2015).

L. monocytogenes es capaz de adherirse a muchas superficies de contacto en la industria alimentaria, por ejemplo, en el acero inoxidable. Se ha encontrado que pueden persistir durante varios años en las industrias alimentarias, donde podrían causar contaminaciones cruzadas en los alimentos. Hay diferentes teorías que tratan de explicar la persistencia de esta bacteria dentro de las industrias alimentarias. Una teoría se refiere a la incapacidad de eliminar el nicho donde estas bacterias pueden sobrevivir y crecer en el entorno alimentario ya que son difíciles de limpiar. Por el contrario, otros autores argumentan que la persistencia bacteriana está relacionada con la formación de biofilms (Colagiorgi *et al*, 2017).

Los biofilms se definen como las comunidades complejas de algunos microorganismos que crecen en una matriz orgánica polimérica producida por ellos mismos que puede adherirse a una superficie viva o bien a una inerte. Estos biofilms pueden estar constituidos por una única especie microbiana o por diferentes especies. La formación de biofilms es una estrategia adaptativa de los microorganismos, ya que esta forma ofrece cuatro ventajas importantes, como la protección de los microorganismos de la acción de los agentes adversos como desinfectantes u otros agentes de limpieza, incrementar la disponibilidad de nutrientes para su crecimiento, facilitar el aprovechamiento de agua, reduciendo la posibilidad de deshidratación y posibilita la transferencia de ADN. Todas estas circunstancias pueden incrementar su

capacidad de supervivencia, provocando que los métodos habituales de desinfección o el uso de antibióticos sean ineficaces contra estas bacterias (Rodríguez *et al*, 2010).

✓ *Bacillus cereus*.

Bacillus cereus es una especie que se incluye dentro del género *Bacillus*, familia *Bacillaceae*, orden *Bacillales*, clase *Bacilli* y filo *Firmicutes*. Esta especie se caracteriza por ser bacilos Gram-positivos de 3-5 µm de longitud y 1- 1,2 µm de ancho que se encuentran en muchos ambientes, son aeróbicos, móviles por flagelos, formadoras de esporas y catalasa positiva (Maughan *et al*, 2011; Griffiths *et al*, 2017). Las esporas son estructuras inactivas que la bacteria forma cuando están expuestas a un ambiente desfavorable o a poca presencia de nutrientes en el medio (Abd El Tawab *et al*, 2015). Estas esporas germinan cuando entran dentro del huésped provocando que tras la defecación o la muerte del mismo libere las bacterias y esporas al exterior hasta su absorción por otro huésped (Bottone, 2010).

Se atribuyen dos tipos de enfermedades distintas tras la ingesta de alimentos contaminados con células o esporas de *B. cereus*. Una de estas enfermedades se caracteriza por el cuadro diarreico en el que los síntomas son dolor abdominal, diarreas acuosas y ocasionalmente náuseas, está producida por tres enterotoxinas que son la hemolisina BL (HBL), la enterotoxina no hemolítica (NHE) y la citotoxina K (CytK); y la otra enfermedad es emética en la que los síntomas son náuseas, vómitos y ocasionalmente diarrea, provocada por una toxina llamada cereulide, que es un dodecadepsipéptido cíclico constituido por tres repeticiones de cuatro aminoácidos (D-O-Leu-D-Ala-L-O-Val-L-Val), esta toxina no es destruida por la cocción, ni por el ácido del estómago, ni por la digestión química. Por lo general, los síntomas de intoxicación alimentaria por *B. cereus* son transitorios y leves (Griffiths *et al*, 2017; Bottone, 2010).

✓ *Brucella*.

El género *Brucella* se incluye dentro de la familia *Brucellaceae*, orden *Rhizobiales*, clase *Alphaproteobacteria* y filo *Proteobacteria*. Este género comprende bacterias de forma cocoide o bacilar Gram-negativas de 0,5- 0,7 por 0,6-1,5 µm, son patógenos intracelulares facultativos no móviles, no formadoras de esporas ni encapsuladas (Banai *et al*, 2010). La potencial patogenicidad de las especies de *Brucella* depende de su capacidad para entrar y sobrevivir dentro de las células del huésped debido a que

Brucella no posee los factores de virulencia típicos. Las especies de *Brucella* que pueden ser patógenas para los seres humanos son *B. melitensis*, *B. suis*, *B. abortus*, *B. ovis* y *B. canis* (Xavier *et al*, 2010).

Brucella es la causante de la brucelosis. Los síntomas más comunes de brucelosis es la fiebre, una fiebre característica denominada como fiebre ondulante caracterizada por sudores con un olor peculiar, escalofríos y debilidad, los síntomas también incluyen malestar, anorexia, insomnio, nerviosismo, dolor de cabeza, estreñimiento, impotencia sexual y depresión. También la brucelosis en humanos es conocida por las complicaciones que pueden afectar a los órganos internos provocando artritis, endocarditis, encefalitis, meningitis, prostatitis u orquitis, en mujeres embarazadas puede provocar el aborto (Seleem *et al*, 2010).

✓ *Campylobacter*.

El género *Campylobacter* se incluye dentro de la familia *Campylobacteraceae*, orden *Campylobacterales*, clase *Epsilonproteobacteria* y filo *Proteobacteria*. Este género comprende bacilos pequeños de 0,2-0,8 µm de ancho por 0,5-5 µm de largo, son Gram-negativos, microaerófilos, móviles por un flagelo polar en uno o en sus dos extremos, no esporulados, y que pueden presentar cápsula. Obtienen la energía de aminoácidos o intermediarios del ciclo de Krebs, no fermentan ni oxidan los azúcares (Ngulukun, 2017). Las aves de corral son el principal reservorio y fuente de contaminación y transmisión de estas bacterias al ser humano, también puede encontrarse en agua, suelo y heces (Kaakoush *et al*, 2015).

Campylobacter y en especial *C. jejuni* y *C. coli*, son conocidos como la principal causa de enfermedad diarreica bacteriana transmitida por alimentos y son los causantes de la Campylobacteriosis (Silva *et al*, 2011). Los síntomas de Campylobacteriosis se caracteriza por la presencia de diarrea acuosa, en la que puede aparecer sangre, presencia de fiebre, de calambres abdominales y vómitos (Skarp *et al*, 2016). La complicación de esta enfermedad puede provocar complicaciones como apendicitis, abscesos cerebrales, peritonitis, colecistitis, miocarditis y artritis, e incluso puede inducir al síndrome de Guillain-Barré y al síndrome de Miller Fisher (Kaakoush *et al*, 2015).

✓ *Clostridium botulinum*.

Clostridium botulinum es una especie que se incluye dentro del género *Clostridium*, familia *Clostridiaceae*, orden *Clostridiales*, clase *Clostridia* y filo *Firmicutes* (Prescott *et al*, 2016). Esta especie incluye bacilos largos de 0,6–1,6 de ancho por 3–20 µm de largo, son Gram-positivos, anaerobios estrictos, no encapsulados, fermentan la glucosa y producen ácido sulfhídrico, son móviles por flagelos peritricos, y tienen la capacidad de formar esporas termorresistentes de forma oval (Prescott, Uzal *et al*, 2016). Estas esporas son una forma de resistencia que pueden encontrarse en muchos ambientes, suponen una grave amenaza para la industria alimentaria (Peck *et al*, 2011). *C. botulinum* sintetiza ocho exotoxinas que se pueden distinguir antigénicamente, estas son A, B, C₁, C₂, D, E, F y G. El tipo de exotoxina A es la más potente seguida por las exotoxinas B y F. Los tipos A, B y F se asocian comúnmente con el botulismo en los humanos (Nigam *et al*, 2010). El botulismo es una enfermedad grave con alta tasa de mortalidad, existen tres tipos principales de botulismo en humanos, estos son el botulismo alimentario por ingesta, botulismo infantil y botulismo de las heridas. *C. botulinum* a su vez, se divide en cuatro grupos (I, II, III y IV) según la capacidad de formar la neurotoxina botulínica, siendo los grupos I y II los responsables de la mayoría de los casos de botulismo alimentario.

El botulismo alimentario es una intoxicación causada por el consumo de la neurotoxina botulínica. Los síntomas del botulismo son principalmente neurológicos, con frecuencia empieza con la visión borrosa seguida de una parálisis flácida bilateral descendente y en casos graves una parálisis flácida de los músculos respiratorios o cardiacos. Se emplea una antitoxina producida por equinos para combatir a la toxina botulínica y sus efectos (Peck *et al*, 2011).

✓ *Clostridium perfringens*.

Clostridium perfringens es una especie que se incluye dentro del género *Clostridium*, familia *Clostridiaceae*, orden *Clostridiales*, clase *Clostridia* y filo *Firmicutes*. Esta especie incluye bacilos rectos y grandes de 0,6–2 de ancho por 1,3–6 µm de largo, son Gram-positivos, anaerobios estrictos, encapsulados, fermentan azúcares y producen ácido sulfhídrico, son inmóviles, no flagelados, y tienen la capacidad de formar esporas termorresistentes de forma oval (Prescott *et al*, 2016). Esta bacteria

está distribuida de forma ubicua en los suelos, alimentos, aguas residuales, heces y el intestino de muchos humanos y animales sanos (Uzal *et al*, 2014).

La virulencia de esta especie se basa en la capacidad de las diferentes cepas de *Clostridium perfringens* de producir al menos 16 toxinas y enzimas extracelulares diferentes, sin embargo, ninguna cepa es capaz de producirlas todas y sirve como modo de clasificación de cepas. Entre los que se encuentran los antígenos capsulares, la enterotoxina termolábil y las toxinas hemolíticas o necróticas (Li *et al*, 2013). La enfermedad producida por *Clostridium perfringens* no es ni una verdadera intoxicación ni infección, esta es el resultado de la ingesta de grandes cantidades de la forma vegetativa de esta especie, las cuales sobreviven al proceso de digestión y finalmente esporula en el intestino delgado. La enterotoxina CPE producida durante esta esporulación es la causante de la enfermedad, que consiste en diarrea y dolor abdominal, siendo la fiebre poco frecuente (Labbe *et al*, 2017).

✓ *Escherichia coli*.

Escherichia coli es una especie que se incluye dentro del género *Escherichia*, familia *Enterobacteriaceae*, orden *Enterobacteriales*, clase *Gammaproteobacteria* y filo *Proteobacteria*. Esta especie se caracteriza por ser bacilos largos Gram-negativos, anaerobios facultativos, móviles por flagelos peritricos, oxidasa negativos y no forman esporas. Pueden fermentar la glucosa y otros azúcares y producir ácidos y gas (Meier-Kolthoff *et al*, 2014).

Forma parte de la microbiota intestinal de los seres humanos y mamíferos, sin embargo, si estas bacterias salen del intestino pueden causar una enfermedad en el hospedador. *E. coli* puede también contaminar el agua, suelo y alimentos, siendo un indicador de contaminación fecal. La mayoría de las cepas de *E. coli* no causan enfermedad en personas sanas, sin embargo, hay grupos específicos que son capaces de causar enfermedad, como son las *E. coli* del serotipo O157:H7 (Nataro *et al*, 2011).

E. coli O157:H7 es miembro de la cepa patógena *E. coli* entero-hemorrágica. La virulencia de esta cepa radica en la producción de la toxina Shiga y la presencia del plásmido O157. Los efectos de la infección por esta bacteria y sus toxinas van desde sintomatología asintomática hasta la muerte del individuo. La mayoría de los casos comienzan con una diarrea no sanguinolenta, la cual se resuelve sin complicaciones,

sin embargo, en algunos pacientes la diarrea se vuelve sanguinolenta, pudiendo derivar a enfermedades más graves como el síndrome urémico hemolítico (SUH) y complicaciones extra-renales severas (Pennington, 2010).

✓ *Salmonella*.

Salmonella es un género que se incluye dentro de la familia *Enterobacteriaceae*, orden *Enterobacteriales*, clase *Gammaproteobacteria* y filo *Proteobacteria*. Este género se divide en dos especies, que son *Salmonella enterica* y *Salmonella bongori*. La especie *S. enterica* se caracteriza por ser bacilos Gram-negativos, aerobios y anaerobios facultativos, oxidasa negativa, algunas especies son móviles. Son capaces de reducir los nitratos y de fermentar azúcares, menos la lactosa, produciendo así ácidos como el sulfhídrico y gas (Agbaje *et al*, 2011; Sanderson *et al*, 2013). Esta bacteria se puede encontrar en el suelo, agua y en el tracto gastrointestinal de animales, en especial de las aves. Las cuales se consideran que son el reservorio principal de esta bacteria (Shivaprasad *et al*, 2013). Los factores de virulencia del género *Salmonella* son el antígeno somático (O) presente en la pared bacteriana, el antígeno flagelar (H), el antígeno capsular termolábil o Vi y una enterotoxina causante de enteritis y diarrea (Sterzenbach *et al*, 2013).

La infección por las diferentes cepas de *Salmonella* puede ocasionar diferentes sintomatologías. Diferenciamos entre enfermedades tifoideas como la fiebre tifoidea y enfermedades no tifoideas como la salmonelosis. Hay que tener en cuenta que una misma cepa puede mostrar diferentes sintomatologías en diferentes individuos, ya que intervienen otros factores como la dosis de infección, el serotipo de la bacteria, la microbiota intestinal del huésped y el estado inmunitario del huésped. El cuadro clínico de la salmonelosis cursa como gastroenteritis y una fiebre entérica presentando síntomas como diarrea, náuseas, vómitos y dolor cólico abdominal. Pueden aparecer complicaciones como meningitis, neumonía, cistitis, osteomielitis, septicemia y pericarditis (Dougan *et al*, 2011).

✓ *Shigella*.

Shigella es un género que se incluye dentro de la familia *Enterobacteriaceae*, orden *Enterobacteriales*, clase *Gammaproteobacteria* y filo *Proteobacteria*. Este género se clasifica en cuatro grupos serológicos: Grupo A (*S. dysenteriae*), Grupo B (*S. flexneri*), Grupo C (*S. boydii*) y Grupo D (*S. sonnei*). Las características generales de este

género son bacilos rectos Gram-negativos, anaerobios facultativos, no móviles, catalasa positiva (excepto *S. dysenteriae*) y oxidasa negativa. Pueden fermentar los azúcares sin producción de gas (algunas si lo producen). *Shigella* comparte muchas similitudes genéticas con *E. coli* y a veces supone un reto diferenciarlas. (Strockbine *et al*, 2015) Los únicos reservorios naturales de *Shigella* son los humanos y los grandes primates, siendo la Shigelosis la enfermedad producida por esta bacteria (Nataro *et al*, 2011). La virulencia de *Shigella* se basa en la presencia de un gran plásmido que codifica un sistema de secreción de tipo III (T3SS), varios autotransportadores tipo V (T5SS) y un conjunto de proteínas secretadas que son los efectores de la virulencia como el antígeno O, el antígeno K, las mucinasas, las integrinas, adhesinas y toxina Shiga (Marteyn *et al*, 2012).

La sintomatología de la infección por *Shigella* incluye malestar, fiebre, diarrea acuosa, calambres, dolor abdominal. Algunas personas pueden no presentar los síntomas, pero pueden transmitir la bacteria a otros. Después de 2 o 3 días, el volumen de diarrea puede disminuir, pero aparece sangre y mocos en las heces (disentería). La infección por *Shigella* puede complicarse produciendo artritis reactiva o el síndrome urémico hemolítico (SUH) (Nataro *et al*, 2011).

✓ *Staphylococcus aureus*.

Staphylococcus aureus es una especie que se incluye dentro del género *Staphylococcus*, familia *Staphylococcaceae*, orden *Bacillales*, clase *Bacilli* y filo *Firmicutes*. Esta bacteria se caracteriza por ser un coco Gram-positivo con un diámetro de 0,5-1,5 µm, pueden encontrarse como células únicas, en pares, en tétradas, en cadenas cortas o en racimo. Son bacterias anaerobias facultativas, no móviles, no encapsuladas, catalasa positiva. Reducen nitratos y pueden fermentar azúcares, produciendo ácidos (Cervantes-García *et al*, 2014). Los manipuladores de alimentos pueden ser portadores nasales o sobre la piel de *S. aureus* enterotoxigénica, la contaminación principalmente se debe al manejo inadecuado de los alimentos, seguidos de un almacenaje que permite el crecimiento de dicha bacteria, así como la producción de sus enterotoxinas. *S. aureus* también está presente en los animales, además el aire, polvo y sustancias de contacto pueden ser vehículos de transmisión de esta bacteria a los alimentos (Argudín *et al*, 2010). Las cepas de *S. aureus* poseen un gran repertorio de factores de virulencia, esto provoca

que sea una especie patógena versátil. Muchos de estos factores de virulencia están codificados por elementos genéticos móviles como plásmidos. Los principales factores de virulencia son las enterotoxinas que se clasifican en cinco tipos serológicos clásicos como son SEA, SEB, SEC, SED y SEE; la toxina exfoliante, la toxina del choque térmico, la termonucleasa, la hialuronidasa, la lipasa y la coagulasa (Schelin *et al*, 2011).

La sintomatología de la intoxicación alimentaria por *S. aureus* incluyen náuseas, vómitos, dolores y calambres abdominales, puede haber o no diarrea, suele remitir en un máximo de 72 horas. Puede ser lo suficientemente grave como para necesitar hospitalización en población de riesgo (Argudín *et al*, 2010).

✓ *Yersinia enterocolitica*.

Yersinia es un género que se incluye dentro de la familia *Enterobacteriaceae*, orden *Enterobacteriales*, clase *Gammaproteobacteria* y filo *Proteobacteria*. En este género se encuentran *Y. enterocolitica* y *Y. pestis*. Este género se caracteriza por ser bacilos cortos o cocobacilos Gram-negativos, aerobios o anaerobios facultativos, móviles (*Y. pestis* no) y no esporulados (Fàbrega *et al*, 2012). *Y. pestis* es una de las bacterias más virulentas identificadas, es la causante de la peste, una enfermedad sistémica que ha provocado la pérdida de millones de vidas a lo largo de la historia (Kolodziejek *et al*, 2012).

Las especies de *Y. enterocolitica* pueden encontrarse tanto en el medio ambiente como en animales domésticos y salvajes, siendo los cerdos el principal reservorio de las cepas patógenas humanas. Se cree que las infecciones se transmiten principalmente por los alimentos mal cocinados. Se han descrito seis biotipos diferentes de esta bacteria, biotipo 1A, 1B, 2, 3, 4 y 5 (Rosner *et al*, 2010).

Los factores de virulencia de *Y. enterocolitica* son las adhesinas e invasinas, las fimbrias, antígeno O y la enterotoxina Yst (Fàbrega *et al*, 2012). Los síntomas de la yersiniosis en niños e individuos inmunocomprometidos son fiebre, dolor abdominal y presencia de diarrea que puede llegar a ser hemorrágica, mientras que en adultos sanos suele ser asintomático. En algunos casos la yersiniosis puede complicarse produciendo apendicitis, artritis o septicemia (Rakin *et al*, 2015).

2. OBJETIVOS.

Los objetivos de este trabajo bibliográfico son:

1. Analizar diferentes estudios para determinar cómo afecta el tratamiento de altas presiones sobre las poblaciones microbianas susceptibles de causar deterioro o enfermedad en salchichas y diferentes embutidos con especial interés en *L. monocytogenes*.
2. Comparar diferentes estudios para determinar cómo afecta el tratamiento de altas presiones sobre las características de salchichas y diferentes embutidos.
3. Contrastar la eficacia de los tratamientos de altas presiones en contrapartida a otras técnicas.
4. Evaluar la eficacia de los tratamientos de altas presiones en combinación con otras técnicas o con unas condiciones determinadas.

3. MATERIAL Y MÉTODOS.

En el siguiente apartado, se procederá a comentar la parte de material y métodos de varios artículos científicos relacionados con la conservación mediante altas presiones hidrostáticas de salchichas y diferentes tipos de embutidos como son el chorizo, la morcilla de burgos y el fuet. Estos artículos se agruparán en dos apartados, en el primer apartado encontraremos los artículos que tratan sobre salchichas y el segundo los artículos que tratan sobre embutidos.

3.1 Artículos sobre salchichas.

En el primer artículo, con título **“High-Pressure Processing Applied to Cooked Sausages: Bacterial Populations during Chilled Storage”** elaborado por J. Yuste, R. Pla, M. Capellas, E. Ponce, y M. Mor-Mur y publicado en el año 2000, se estudió como afecta el tratamiento por altas presiones a una temperatura de 65°C sobre salchichas cocidas con objetivo de comparar los efectos bactericidas del tratamiento de presurización frente al tratamiento térmico en varias poblaciones bacterianas y evaluar la calidad microbiológica de las salchichas tras su almacenamiento durante 18 semanas a unas temperaturas de 2 u 8°C.

El proceso de elaboración de la salchicha consta de la preparación de la masa, embutido de esta masa, cocción y ahumado, retiro de la carcasa, envasado al vacío y tratamiento o no para su conserva, si se conserva puede hacerse por tratamiento térmico a una temperatura de 80-85°C durante 40 minutos, tratamiento con altas presiones a 500 MPa durante 5 minutos a 65°C o bien tratamiento con altas presiones a 500 MPa durante 15 minutos a 65°C. Por último, las salchichas deben refrigerarse y pueden hacerlo a temperaturas de 2°C o 8°C. El equipo utilizado para el tratamiento a altas presiones fue una prensa isostática discontinua, el tiempo necesario para lograr la presión fue de 120 segundos más 30 segundos de descompresión. Después del tratamiento los paquetes de salchichas se enfriaron con agua corriente durante 30 segundos. Para realizar el experimento 25 gramos de salchichas se homogeneizaron con 225 mL de agua de peptona y se prepararon diluciones seriadas para determinar el número más probable, primero se sembró en medio líquido de PCA, MRS, VRBGA, Baird-Parker y PALCAM incubándose el tiempo y a la temperatura indicada en el guion, y si se dio crecimiento, se sembró en su correspondiente medio sólido

incubándose el tiempo y a la temperatura indicada en el guion. El experimento se realizó por duplicado.

Para el análisis e identificación microbiológica en primer lugar se identificaron los aeróbios mesófilos y psicrótrofos sembrando en placa después de la elaboración industrial, en segundo lugar, el recuento de *Listeria spp*, mesófilos, psicótrofos, bacterias del ácido láctico (BAL), *Staphylococcus aureus* y enterobacterias un día después de su elaboración, a las tres semanas, a las nueve semanas, a las doce semanas, a las quince semanas y a las dieciocho semanas después de un tratamiento a altas presiones o por calor. Los datos sobre los recuentos bacterianos fueron sometidos al procedimiento del Modelo lineal general para el análisis de la varianza usando el software SAS para Windows versión 6.12 del Instituto SAS.

El segundo artículo, con título “**Combined use of modified atmosphere packaging and high pressure to extend the shelf-life of raw poultry sausage**” elaborado por M. Lerasle, M. Federighi, H. Simonin, V. Anthoine, S. Rezé, R. Chéret y S. Guillou y publicado en el año 2014, tiene como objetivo determinar si el envasado en atmosfera modificada junto con el tratamiento de altas presiones podría mejorar la vida media útil y la estabilidad de las salchichas crudas a nivel microbiológico y a nivel de oxidación lipídica.

Las salchichas crudas se compraron de un productor local tres días después de su elaboración, estas salchichas estaban elaboradas con carne de ave (78%), grasa de cerdo, agua, glucosa, agentes acidificantes y antioxidantes, sal de nitrito, y una mezcla de especias y de aromas naturales, estas tenían una vida útil de 15 días. Para este estudio se trabajaron con 144 bandejas de salchichas del mismo lote, estas se desempaquetaron en dos grupos de 72 bandejas que se volvieron a empaquetar en bandejas de PET, un grupo de 72 bandejas se trató bajo una atmosfera modificada con un 50% de CO₂ y 50% de N₂. Las otras 72 bandejas se empaquetaron directamente al aire ambiente y sufrieron un sellado térmico con una película de poliéster. Las muestras fueron tratadas por altas presiones a los tres días después en una unidad piloto horizontal de alta presión ACB Pressure System a 500 MPa durante 5 minutos. Como el objetivo de este estudio es evaluar el potencial del tratamiento de altas presiones y el envasado de atmosferas modificado para extender la vida útil un tercio (en este caso hasta 22 días), después del tratamiento de altas presiones las

muestras con y sin tratamiento se almacenaron 22 días en oscuridad según el protocolo de almacenamiento inspirado de la norma francesa NF V01-003, 14 días a 4°C y 8 días a 8°C.

El análisis microbiológico se realizó por triplicado en tres bandejas diferentes el día 0, el día 14 y el día 21 retirando asépticamente 10 gramos de carne y añadiéndolo a 90 mL de agua de peptona, posteriormente se homogeneiza en el Stomacher y se hacen diluciones seriada para determinar el UFC/g, para ello se sembró en placa PCA para determinación de mesófilos aerobicos y en MRS para BAL. El pH se midió justo después del tratamiento de altas presiones (día 0) y luego los días 14 y 21 durante el almacenamiento usando un pHmetro InLab Solids Pro, se midieron seis muestras para cada condición (tratadas y sin tratar; y envasadas con atmosfera modificada y envasadas al aire). La oxidación lipídica se evaluó el día 1, el día 15 y el día 22 mediante la prueba de la sustancia que reacciona con el ácido TBAR. Para el análisis estadístico se usó XL Stat versión 2012.6.02 en Excel 2010 donde se determinó (medias y desviaciones estándar, análisis de la varianza y la diferencia menos significativa de Fisher)

En el tercer artículo, con título **“High pressure processing applied to cooked sausage manufacture: physical properties and sensory analysis”**, elaborado por M. Mor-Mur y J. Yuste y publicado en 2003, las salchichas cocidas envasadas al vacío se trataron a 500 MPa en un tiempo comprendido entre los 5 y 15 minutos a una temperatura suave con el objetivo de evaluar su color, textura y rendimiento de esta técnica y compararlo con las salchichas que se tratan con una pasteurización convencional a una temperatura de 80-85°C durante 40 minutos.

La preparación y el procesado de la muestra se realizó según lo descrito en el primer artículo. Después de la cocción industrial y el envasado al vacío, un grupo de salchichas no fue tratado, uno sufrió un tratamiento térmico a una temperatura de 80-85°C durante 40 minutos, otro sufrió un tratamiento con altas presiones a 500 MPa durante 5 minutos a 65°C y otro un tratamiento con altas presiones a 500 MPa durante 15 minutos a 65°C. Este experimento se realizó por duplicado con dos lotes distintos de salchichas. El equipo utilizado para el tratamiento a altas presiones al igual que en el artículo anterior fue una prensa isostática discontinua, el tiempo necesario para lograr la presión fue de 120 segundos más 30 segundos de descompresión. Después

del tratamiento se enfriaron los paquetes de salchichas con agua corriente durante 30 segundos.

Para el análisis instrumental del color se usó un espectrocolorímetro portátil marca HunterLab modelo 45/0 que se estandarizó antes de empezar para evaluar tres índices de escala de color, clasificándose los colores en L (claro), a (rojizo) y b (amarillento). Para el análisis sensorial se llevaron a cabo dos pruebas de triángulo para discriminar entre las salchichas tratadas con calor y salchichas tratadas a presión durante 5 minutos, y salchichas tratadas con calor y a presión durante 15 minutos. Para el análisis de la textura se utilizó un analizador de textura Stable Micro Systems, para llevar a cabo dos pruebas: el análisis de perfil de textura (TPA) y la fuerza en el corte. Para cada tratamiento se realizaron ocho réplicas. Para determinar el rendimiento hay que calcular el porcentaje de pérdida de peso durante el tratamiento con calor o presión, para cada tratamiento se realizaron seis medidas siendo cada medida la pérdida de peso de las seis salchichas de un paquete. Para el análisis estadístico los datos fueron sometidos al procedimiento del Modelo lineal general para el análisis de la varianza usando el software SAS para Windows versión 6.12 del Instituto SAS. Con un nivel de significación $P < 0,05$.

El cuarto artículo, con título **“Effect of high pressure on cooking losses and functional properties of reduced-fat and reduced-salt pork sausage emulsions”** elaborado por Huijuan Yang, Minyi Han, Xia Wang, Yanqing Han, Juqing Wu, Xinglian Xu y Guanghong Zhou y publicado en 2015, tiene como objetivo evaluar el uso de altas presiones para mejorar las propiedades de las salchichas con bajo nivel de grasa (20%) y reducidas en sal (1%) sin necesidad de aditivos.

Para este trabajo se prepararon salchichas con un contenido en 20% de grasa y 1% de sal utilizando carne magra de cerdo (3,5 kg), manteca de cerdo (1,12 kg) agua fría (0,95 kg), sal (0,056 kg) y pimienta (0,036 kg), la mezcla de todo esto se embutió y se obtuvieron salchichas de un peso aproximado de 60 gramos. Estas salchichas sufrieron una cocción durante 15 minutos a 80°C llegando a ser la temperatura interna 72°C, luego se secaron a temperatura ambiente. Estas salchichas se envasaron al vacío y se almacenaron a 4°C. Este proceso se repitió en tres ocasiones y se dividieron las salchichas en cinco grupos, un grupo sería el punto control, el cual no recibiría el tratamiento a altas presiones, otro grupo sufriría un tratamiento de 100 MPa durante

2 minutos a 10°C, otro un tratamiento de 200 MPa durante 2 minutos a 10°C, otro un tratamiento de 300 MPa durante 2 minutos a 10°C y el último un tratamiento de 500 MPa durante 2 minutos a 10°C. Este tratamiento se llevó a cabo en un Mini Foodlab 850.

Las mediciones de color se realizaron utilizando un espectrocolorímetro modelo Miniscan HunterLab para evaluar tres índices de escala de color, clasificándose los colores en L (claro), a (rojizo) y b (amarillento). Se calculó la blancura con la siguiente fórmula. $\text{Blancura} = 100 - [(100 - L^*)^2 + a^{*2} + b^{*2}]^{1/2}$. Para la evaluación sensorial se analizaron cinco puntos como la apariencia, el aroma, la textura, el sabor y la aceptación general por 30 analistas. Cada una de las muestras fueron identificadas con un código aleatorio de tres números. Se usó una escala del 1 al 9 siendo 1, no me gusta mucho y 9, gustar extremadamente. Las muestras se evaluaron después de cada fabricación de las salchichas, en total tres veces. Todas las catas se hicieron a la misma hora de cada día y sin interacción entre analistas. Para el análisis de la textura se utilizó un analizador de textura T.A-XT plus de Stable Micro System Corporation, en el que se estimó ciertos atributos como la dureza (N), la masticabilidad (N), la elasticidad (mm), la cohesión y la resistencia. El análisis de la composición de las salchichas se hizo con un analizador rápido de composición de carne y alimentos Foss LAB. Se analizaron 200 gramos de muestra para evaluar y registrar la cantidad de proteína, grasa y humedad. La pérdida de estos parámetros debido a la cocción por cada tratamiento se determinó calculando la diferencia de peso usando la siguiente ecuación: $\text{Pérdidas por cocción (\%)} = (m_1 - m_2) / m_1 \times 100$. Se determinó también la solubilidad de proteínas en gel de electroforesis SDS-PAGE. Para el análisis estadístico, una salchicha fue considerada como unidad experimental para el análisis de datos, se realizaron tres mediciones por tanda de elaboración y por duplicado. Las observaciones experimentales se sometieron a un análisis estadístico con SPSS 20.0, un análisis de varianza (ANOVA) para determinar el efecto de los tratamientos con significancia $P < 0,05$.

3.2 Artículos sobre embutidos.

El quinto artículo, con título “**Model for *Listeria Monocytogenes* Inactivation by High Hydrostatic Pressure Processing in Spanish Chorizo Sausage**” elaborado por Begoña Rubio, Arícia Possas, Francisco Rincón, Rosa María García-Gímeno y

Beatriz Martínez y publicado en 2017, se realizó con el objetivo de obtener un modelo para la inactivación de *L. monocytogenes* usando como parámetros tecnológicos más importantes el tiempo y la intensidad de las altas presiones y el A_w como el principal factor intrínseco.

Para el diseño experimental se aplicó un diseño compuesto central con el fin de estudiar el efecto de la actividad del agua (A_w), la presión del tratamiento HHP (P) y el tiempo del tratamiento (t) sobre la inactivación de *L. monocytogenes*. Se realizaron 16 ensayos de forma aleatoria. Se utilizaron cuatro cepas de *L. monocytogenes*, para preparar los inóculos los cultivos de *L. monocytogenes* se cultivaron individualmente en 100 mL de medio cultivo que posteriormente fueron transferido a tubos de 10 mL de BHI, posteriormente 1 mL de cada cultivo de la cepa fue transferido a un segundo tubo que contenía 9 mL de BHI y ya por último se mezcló con agua de peptona 0,1% en un recipiente estéril que contenía el chorizo. Este fue elaborado usando 70% carne de cerdo y 30% lomo de cerdo, además de añadirle los correspondientes aditivos y especias, estas se embutieron en tripas y se secaron y fermentaron en una cámara de secado, unas se hicieron a 15°C con a una humedad relativa 90-100% durante 18 horas; otras a 22-23°C a una humedad relativa del 90% durante 48 horas y otras a 14-15°C a una humedad relativa de entre 80-90% durante 10 días. Entonces la humedad relativa se redujo un 5% por semana hasta llegar al 75% manteniéndose estas condiciones hasta el final del proceso de maduración. El tratamiento de altas presiones se llevó a cabo en las muestras empaquetadas según la CCD en el rango de 349-600 MPa durante 0-12,53 minutos y se realizó en una unidad de presión hidrostática industrial Wave 6000/135.

Para el análisis microbiológico los recuentos de *L. monocytogenes* se realizaron antes y después del tratamiento de altas presiones del chorizo. Esta inactivación se evaluó en términos de reducciones logarítmicas como la diferencia entre los recuentos después del tratamiento (N , log y UFC/g) y la inicial (N_0 , log, UFC/g). Cada día se realizó para un tipo de chorizo. En cada prueba el valor de la inactivación se calculó como el valor medio del valor de inactivación 1 (calculado como $\log N_1/N_{01}$) y el valor de inactivación 2 (calculado como $\log N_2/N_{02}$). Para la determinación microbiológica se obtuvieron muestras de los chorizos abriéndose asépticamente y obteniendo 10 gramos de diferentes partes de estos, las muestras se colocaron en bolsas de plástico estéril con agua de peptona tamponada (1:10) y se homogenizó, posteriormente se

realizaron diluciones seriadas y se sembraron en medios selectivos como el ALOA que se incubó a 37°C durante 48 horas. Para ajustar la A_w de acuerdo al CCD las pérdidas de peso y la A_w fueron evaluadas a lo largo del proceso de maduración, esta última se midió con el higrómetro Decagon CX-2 AQUALAB a 20°C. Además, se midió el pH mediante el pinchando con un pHmetro modelo 507. Para el estudio matemático se realizó el análisis de la varianza (ANOVA) y LSD (diferencia menos significativa) con $P < 0,05$. Para ello se usó el software STATISTICA®.

El sexto artículo, con título “**Evaluation of High Pressure Processing as an Additional Hurdle to Control *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* in Low-Acid Fermented Sausages**” elaborado por Begonya Marcos, Teresa Aymerich y Margarita Garriga y publicado en 2005, tiene como objetivo evaluar el efecto del tratamiento a altas presiones y el proceso de maduración en el desarrollo de patógenos de origen alimentario, para ello los embutidos crudos fueron inoculadas con una mezcla de tres cepas de *Salmonella* y otra mezcla de tres cepas de *L. monocytogenes*.

Para este estudio se trabajó con dos tipos de embutidos fermentados de baja acidez, el fuet y el chorizo. Ambos productos se hicieron con un 50% de carne de cerdo magra y 50% de grasa de cerdo. Los ingredientes del fuet fueron descritos según esta fórmula (g/kg) cloruro de sodio 20, pimienta negra 2,5, potasio nitrato 0,1, nitrito de sodio 0,1, dextrosa 1, y ascorbato de sodio 0,5; mientras que los del chorizo cloruro de sodio 20, pimienta de cayena 15, pimentón 15, dextrosa 1 y ajo 3. A la picadora se le inoculó 6×10^2 UFC/g de la mezcla de tres cepas de *Salmonella* (*S. enterica* sp. *enterica* ser. Derby CTC1022, *S. enterica* sp. *enterica* ser. Londres CTC1003, *S. enterica* sp. *enterica* ser. Schwarzengrund CTC1015) y de la mezcla de tres cepas de *L. monocytogenes* (*L. monocytogenes* ser. 1/2 c CTC1010, *L. monocytogenes* ser. 1/2 c CTC1011, *L. monocytogenes* ser. 4b CTC1034). Los embutidos crudos se envasaron al vacío y la mitad se sometieron al tratamiento de altas presiones el día después de su fabricación en una unidad de presurización hidrostática Alstom a 300 MPa durante 10 minutos a 17°C. Después del tratamiento, las bolsas de plástico fueron retiradas y tanto los embutidos no tratadas (NT) como las tratadas por altas presiones, maduraron en las mismas condiciones en una cámara Sanyo MLR-350 H, se secó durante 27 días a 12°C con una humedad relativa del 80%. Tres embutidos diferentes se

analizaron para cada tratamiento justo después del embutido (día 0), después del tratamiento o no de altas presiones (día 1) y durante la maduración (días 6, 13 y 27).

Para el análisis microbiológico se seleccionaron 20 gramos de muestra, se homogeneizó con agua de peptona y se realizaron las diluciones seriadas correspondientes, luego se sembró en placas de MRS para la determinación de BAL, PALCAM para determinación de *Listeria* y BGA para determinación de *Salmonella*. Posteriormente cinco posibles colonias de *L. monocytogenes* y *Salmonella* se conservaron para su confirmación por PCR, para realizar dicha identificación se siguió un protocolo validado por la Comisión Europea y la amplificación se realizó en un sistema PCR 2700 de GeneAmp. Para la determinación de color se realizó con un cromámetro CR200 de Minolta siendo los valores de color elegidos: L* (brillo), a* (rojizo) y b* (amarillento). Cada medición se repitió como mínimo 6 veces. Para determinar la actividad del agua se midió a 25°C usando un termoconstante Novasina TH-500 y para determinar el pH se usó pHmetro Crison Basic 20, equipado con un electrodo de penetración Crison 52-32. Para el análisis estadístico los datos se sometieron a un análisis de la varianza del Modelo Lineal General del software SAS para Windows 8.1 donde el producto, el tratamiento, tiempo y la interacción entre estos parámetros se incluyeron como efectos fijos. Con un nivel de significación $P < 0,05$.

El séptimo artículo, con título “**Starter Cultures and High-Pressure Processing To Improve the Hygiene and Safety of Slightly Fermented Sausages**” elaborado por Margarita Garriga, Begonya Marcos, Belén Martín, M.Teresa Veciana-Nogués, Sara Bover-Cid, Marta Hugas y Teresa Aymerich y publicado en 2005, tiene como objetivo evaluar dos estrategias diferentes con el fin de mejorar la seguridad y la calidad de embutidos fermentados mediante la inactivación de bacterias patógenas, bacterias alterantes que provocan el deterioro del alimento y evitando la acumulación de bacterias del ácido láctico. La primera es mediante la eficacia de las cepas seleccionadas como cultivo iniciador, se investigaron cultivos iniciadores de fuet y chorizo. En segundo lugar, se estudió el efecto de altas presiones en la estabilidad de productos durante el almacenamiento al vacío. Los cultivos iniciadores fueron *L. sakei* CTC6469, *L. sakei* CTC6626, *S. xylosum* CTC6013 y *S. xylosum* CTC6169. Estas cepas fueron seleccionadas por sus características tecnológicas entre la que destaca la actividad proteolítica y lipolítica; y su seguridad ya que no posee genes que sintetizen enterotoxinas. Y las bacterias patógenas que se usaron como inóculo fueron

tres cepas tres cepas de *L. monocytogenes*, tres cepas de *S. aureus* y tres cepas de *Salmonella enterica*.

Se elaboraron dos tipos de embutidos fermentados de baja acidez, el fuet y el chorizo. Ambos productos se hacen con 50% de carne magra de cerdo y 50% de grasa de cerdo. La receta de fuet que se siguió fue: 20 g/kg de cloruro de sodio, 2,5 g/kg de pimienta negra, 0,1 g/kg de nitrato de potasio, 0,1 g/kg de nitrito de sodio, 1 g/kg de dextrosa y 0,5 g/kg de ascorbato sódico; mientras que la receta de chorizo que se siguió fue: 20 g/kg de cloruro de sodio, 15 g/kg de pimienta de cayena, 15 g/kg de pimentón, 1 g/kg de dextrosa y 3 g/kg de ajo. La carne se picó en una picadora y se inoculó con una mezcla de *L. monocytogenes*, *S. enterica* y *S. aureus* hasta alcanzar valores de 6×10^2 UFC/g por embutido de cada especie. Se produjeron dos lotes diferentes de cada producto: un lote control de fuet (FA), un lote de fuet con cultivo iniciador (FB), un lote control de chorizo (CA) y un lote de chorizo con cultivo iniciador (CB). Siendo el cultivo iniciador en este caso una mezcla de dos cepas de *L. sakei* (CTC6469 y CTC6626) y dos cepas de *S. xylosus* (CTC6013 y CTC6169) hasta alcanzar valores de 4×10^5 UFC/g por embutido para cada especie. La masa se embutió y se colgó en una cámara MLR350 a 12°C con una humedad relativa de más del 95% que durante el proceso de secado va descendiendo hasta un 80%. Después de la maduración de los embutidos se envasaron al vacío y se almacenaron durante 28 días a 20°C. La mitad de los envases de embutidos fueron sometidos a un tratamiento de altas presiones de 400 MPa a una temperatura de 17°C durante 10 minutos. Este tratamiento se realizó usando una unidad de presurización hidrostática industrial Alstom.

La toma de muestras de los embutidos se llevó a cabo mediante el muestreo de tres embutidos al azar de cada lote de FA, FB, CA y CB durante su etapa de maduración y en diferentes tiempos siendo estos el tiempo 0, el momento justo después del relleno, el día 7, el día 13 y el día 21. Mientras que después de la maduración los embutidos tratados con altas presiones y no tratados se muestrearon por triplicado al final del almacenamiento a 20°C. En cada muestreo, 20 gramos de embutido fue diluida 10 veces en agua de peptona tamponada para posteriormente ser homogeneizada en un masticador modelo 400 y se realizaron diluciones seriadas, estas se sembraron y se procedió al recuento de las mismas. Para la tipificación de las cepas, veinte colonias de bacterias del ácido láctico y GCC⁺ por lote fueron

seleccionadas al azar y se realizó la extracción del plásmido y del ADN total mediante la amplificación aleatoria de la PCR del ADN polimórfico. El pH se determinó mediante un medidor de pH Crison Basic 20 equipado con un electrodo de penetración 52-32 y la A_w se midió con un termoconstante Novasina TH-500 a 25°C. Para el análisis estadístico los datos se sometieron al análisis de la variación del procedimiento de Modelos Lineales Generales del software SAS para Windows versión 8.1 del Instituto SAS para determinar las diferencias significativas entre los lotes y tratamientos siendo las variables analizadas el recuento de BAL, GCC, *enterococcus*, *Enterobacteriaceae*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* y *S. aureus*, BAS, pH y A_w ; fijándose el nivel de significación en $P < 0,05$.

El octavo artículo, con título **“High-Hydrostatic-Pressure (HHP) Processing Technology as a Novel Control Method for *Listeria monocytogenes* Occurrence in Mediterranean-Style Dry-Fermented Sausages”** elaborado por Domenico Meloni y publicado en 2019, es una revisión que tiene como objetivo analizar un conjunto de estudios que describen la inhibición de *L. monocytogenes* por altas presiones en salchichas (embutidos) fermentadas en el área del Mediterráneo.

El noveno artículo, con título **“Microbiological, physicochemical and sensory parameters of dry fermented sausages manufactured with high hydrostatic pressure processed raw meat”** elaborado por M.K. Omer, B. Prieto, E. Rendueles, A. Alvarez-Ordoñez, K. Lunde, O. Alvseike y M. Prieto y publicado en 2015, tiene como objetivo la evaluación de las características organolépticas, fisicoquímicas y microbiológicas de las salchichas (embutidos) curadas secas después de un tratamiento de altas presiones.

Para este estudio se elaboraron dos tipos de embutidos fermentados y secos, el salami y el morr. El salami se hizo con carne de vacuno, carne de cerdo, manteca de cerdo, ácido ascórbico, NaCl, nitrato potásico, especias (pimienta blanca y negra, cilantro, jengibre, moscatel, ajo en polvo y pimienta verde), cultivo iniciador de la fermentación (*Lactobacillus sakei* subsp. *sakei* LS-25) y dextrosa, mientras que el Morr se hizo con carne de cordero, carne de cerdo, corazón de cerdo, corazón de vaca, manteca, ascorbato, NaCl, nitrato potásico, especias (pimienta negra, clavo, pimienta de jamaica y jengibre), cultivo iniciador de la fermentación (*Lactobacillus sakei* subsp. *sakei* LS-25) y dextrosa. Se prepararon cuatro lotes de 10 kg para cada tipo de

embutido, cada lote se envasó al vacío y luego, un lote se refrigeró a 5°C durante 18 horas y se sometió a un proceso de altas presiones, otro lote se refrigeró a 5°C durante 18 horas, pero no sufrió el procesado de altas presiones, otro lote se congeló a -25°C durante 18 horas y posteriormente se sometió a altas presiones y el ultimo lote se congeló a -25°C durante 18 horas, pero no fue sometido al tratamiento de altas presiones. El tratamiento de altas presiones se realizó a 600 MPa durante 6 minutos con un equipo modelo Onda 6000/135 con el que se tardó en alcanzar dicha presión 110 segundos con un tiempo de descompresión de cinco segundos.

Para el análisis microbiológico y fisicoquímico se tuvo en cuenta la microbiota (se midió mediante el recuento en placas de agar cuenta para psicrótrofos y mesófilos, de placas VRBGA para enterobacterias y de placas de EC para *E. coli*), la actividad del agua se midió a 25°C con un medidor de actividad del agua higrómetro Decagon CX2, el pH se midió con un pHmetro Crison pH 25 y el peso con la diferencia entre el peso inicial y el peso en ese momento después del procesamiento y maduración el día 0, el día 8, el día 15 y a las seis semanas. Mientras que el análisis sensorial fue realizado por un grupo de 10 analistas y técnicos de la Universidad de León. Las muestras fueron evaluadas en un laboratorio sensorial diseñado de acuerdo con las directrices ISO de 2005 y directrices UNE 87-004-97. Las muestras se cortaron en rodajas de 2,5 mm de grosor, se les asignó un número de tres dígitos a cada una y se sirvieron al azar a los analistas para que luego se compararan las muestras con diferentes procesamientos tanto en salami como en morr. Los atributos evaluados en una escala de 9 puntos siendo el 1 no me gusta mucho y el 9 me gusta mucho, para cada par de muestras fueron color (homogeneidad e intensidad), olor (intensidad), parámetros de textura (dureza, jugosidad, masticabilidad y pastosidad), características del sabor (intensidad del sabor) y el aspecto general (apreciación global). Estas muestras fueron evaluadas después de 2 y 6 semanas. Para el análisis estadístico se utilizó un análisis unidireccional de la varianza ANOVA para determinar si la refrigeración o congelación y la presencia o no de tratamiento a altas presiones tuvo influencia en las características del embutido. El análisis de los datos se realizó utilizando el programa Statistica para Windows 7.0.

El décimo artículo, con título “**Spoilage of Blood Sausages Morcilla De Burgos Treated With High Hydrostatic Pressure**” elaborado por Ana M. Diez, Rosalinda Urso, Kalliopi Rantsiou, Isabel Jaime, Jordi Rovira y Luca Cocolin y publicado en 2008,

se estudió las poblaciones microbianas de la morcilla de Burgos sometidas a un tratamiento de altas presiones con el objetivo de evaluar si con el tratamiento existe una extensión de su vida útil.

La morcilla se elaboró con cebolla cruda (54%), manteca de cerdo (17%), arroz (17%), sangre (8%), sal (1,8%) y una mezcla especias como pimentón, pimienta negra y orégano (2.2%). Esta mezcla se embutió en tripas naturales de vacuno y se hirvieron en agua a 95-96°C durante una hora, se enfrió a 8-10°C y se envasaron al vacío. Para el experimento se usaron muestras control (sin tratamiento de altas presiones) y morcillas fueron sometidas al tratamiento por altas presiones a 600 MPa durante 10 minutos. El equipo utilizado fue una unidad discontinua de presurización hidrostática Onda 6000/135. Las morcillas se almacenaron en un lugar oscuro a 4 °C. Las muestras fueron analizadas por triplicado a los 0, 9, 14, 21, 28 y 35 días de almacenamiento.

Para el análisis microbiológico, las muestras se vigilaron para observar los cambios dinámicos en las poblaciones microbianas que pueden causar el deterioro durante el almacenamiento de los embutidos tratados o no por altas presiones, esto se hizo pesando una rebanada de 20 gramos y diluyéndola en 80 mL de agua de peptona salina (8 gramos de NaCl/ litro) para proceder a su homogeneización en un Stomacher y preparar las diluciones seriadas que se sembraran por duplicado en placas de agar gelificado, en placas de MRS y agar *Pseudomonas*. Después se calcularon los recuentos, las medias y las desviaciones estándar. Se realizó la extracción de ADN de las células por picado en las colonias de placas con recuento de entre 30 y 300 colonias. La extracción directa de ácidos nucleicos de las morcillas se llevó a cabo mediante la homogeneización de las muestras obtenidas de cada punto de muestreo de 20 gramos en 80 mL de agua de peptona. 40 mL de esta solución fue transferida a un tubo estéril de 50 mL. Se obtuvieron dos alícuotas una para ADN y otra para ARN. El paso de la transcripción inversa (RT)-PCR se realizó con la transcriptasa inversa RevertAid™. Para la amplificación por PCR se usaron dos microlitros del ADNc sintetizados por la transcripción inversa y los primers P1, 5'-GCG GCG TGC CTA ATA CAT GC-3', y P2, 5'-TTC CCC ACG CGT TAC TCA CC-3'. Las medidas de pH se realizaron con un alfiler electrodo de un medidor de pH M82 que se insertó directamente en la muestra. Se obtuvieron tres mediciones independientes por cada muestra.

El undécimo artículo, con título **“Effect of high hydrostatic pressure processing on biogenic amine content of sausage during storage”** elaborado por Livia Simon-Sarkadi, Klára Pásztor-Huszár, István Dalmadi y Gabriella Kiskó y publicado en 2012, tiene como objetivo investigar el efecto de las altas presiones sobre los microorganismos y a través de esta, en la producción de aminas biógenas en salchichas (embutidos) secas fermentadas durante el almacenamiento.

En este estudio se trabajó con tres tipos de embutidos secos fermentados con diferentes diámetros, estas son: embutido semiseco (S) con un diámetro de 3,1 cm; embutido seco (dS) con un diámetro de 3,6 cm y embutido extra grueso con (tS) con un diámetro de 6,5 cm. Todas las muestras se produjeron tres días antes del tratamiento por altas presiones. Estos embutidos contenían los siguientes ingredientes: carne de cerdo, manteca de cerdo, sal, especias varias, azúcar, glucosa, glutamato sódico, antioxidantes, conservantes y cultivo iniciador de la fermentación, además estos embutidos luego se ahumaron. A los embutidos semisecos se le añadió proteína de soja. Las muestras se cortaron en trozos de unos 5 cm de largo y luego se envasaron al vacío en bolsas de papel de aluminio y fueron sometidas a una presión de 500 MPa durante 10 minutos a 20°C en un equipo de altas presiones modelo S-FL-850-9-W, mientras que las muestras control no sufrieron este tratamiento. Posteriormente se sacaron de estas bolsas y tanto las muestras presurizadas como las muestras control se colocaron en bandejas y en una cámara de refrigeración donde se mantuvo cuatro semanas a 8°C, la temperatura de un frigorífico normal.

Para el recuento microbiológico 10 gramos de muestra se colocaron en una bolsa de Stomacher con 90 mL de agua de peptona y tras pasar por el Stomacher, la muestra se diluyó de forma seriada para posteriormente ser sembradas en placas de Petri de PCA que fueron incubadas durante 2-3 días a 30°C. Estas mediciones se llevaron a cabo a finales de la primera, segunda, tercera y cuarta semana de almacenamiento. Para el análisis de aminas biógenas se extrajeron 3 gramos de las muestras que se añadieron a 20 mL de ácido tricloroacético al 10% a temperatura ambiente durante una hora a 100 rpm. El análisis de aminas biógenas se realizó por duplicado con un analizador de aminoácidos AAA 400 equipado con una columna de intercambio iónico de resina Ostion LG ANG. La separación se llevó a cabo por elución de gradientes escalonados usando ninhidrina como reactivo de derivación. Para el análisis

organoléptico se midió el color, el olor, la textura, el sabor y la impresión por general por parte de los catadores. Dicho análisis tuvo lugar al principio de almacenamiento (0 semana) con la muestra control y la muestra tratada con altas presiones, en la semana cuatro las muestras solo eran visuales ya que la mayoría de las muestras estaban estropeadas. Para el análisis estadístico los datos fueron calculados como $\text{media} \pm \text{desviación estándar}$ usando Excel 2007.

4. RESULTADOS.

En el siguiente apartado, se procederá a comentar la parte de resultados de los artículos mencionados anteriormente.

4.1 Artículos sobre salchichas.

Los resultados del primer artículo, con título “**High-Pressure Processing Applied to Cooked Sausages: Bacterial Populations during Chilled Storage**” elaborado por J. Yuste, R. Pla, M. Capellas, E. Ponce, y M. Mor-Mur y publicado en el año 2000, son los siguientes:

Las muestras analizadas inmediatamente después del cocido industrial presentan niveles bajos de mesófilos (0,35 unidades logarítmicas) y de psicotrofos (0,30 unidades logarítmicas).

En el recuento de mesófilos aeróbicos: No existen diferencias significativas entre las temperaturas de almacenamiento a 2°C y a 8°C. Las salchichas sin tratamiento mostraron valores de 8 unidades logarítmicas a las tres semanas de almacenamiento, mientras que, en las muestras tratadas, no alcanzaron valores de 3 unidades logarítmicas. La presurización durante 15 minutos generó valores inferiores a 2 unidades logarítmicas durante el almacenamiento a 2°C, excepto a las 15 semanas que se alcanzó un valor de 2,2 unidades logarítmicas.

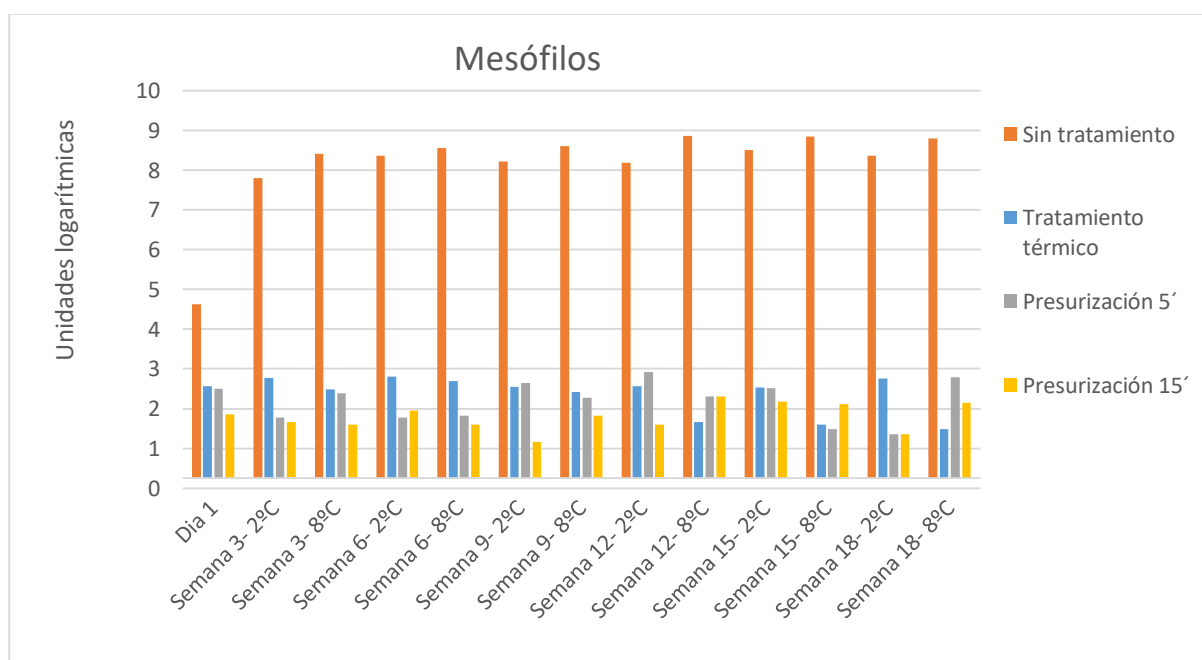


Tabla nº 1. Recuento de mesófilos.

En el recuento de psicotrofos aeróbicos: No existen diferencias significativas entre las temperaturas de almacenamiento a 2°C y a 8°C. Los recuentos en las muestras no tratadas fueron similares a los datos obtenidos en mesófilos, mientras que las muestras tratadas muestran valores muy bajos de crecimiento. Los recuentos en las salchichas tratadas con calor y por presurización durante 15 minutos mostraron valores menores de 1 unidad logarítmica.

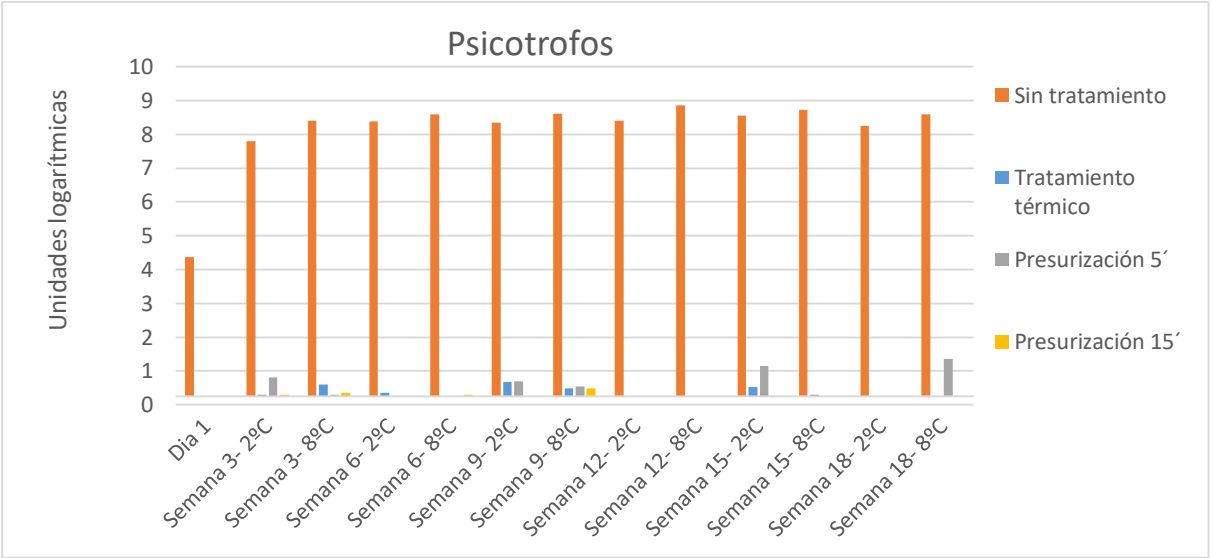


Tabla 2. Recuento de psicotrofos.

En el recuento de bacterias del ácido láctico (BAL): En las temperaturas de almacenamiento a 2°C en salchichas sin tratar se encontraron casi 8 unidades logarítmicas a las 6 semanas; y a una temperatura de almacenaje de 8°C en salchichas sin tratar se encontraron casi 8 unidades logarítmicas a las 3 semanas, esto indica que el crecimiento es más lento cuando la temperatura de almacenaje es de 2°C. La presurización causó una gran inactivación, se observó una disminución de más de 3,5 unidades logarítmicas. En las salchichas presurizadas y almacenadas a 2°C y presurizadas durante 15 minutos y almacenadas a 8°C no se alcanzaron conteos de más de 1 unidad logarítmica en todo el estudio.

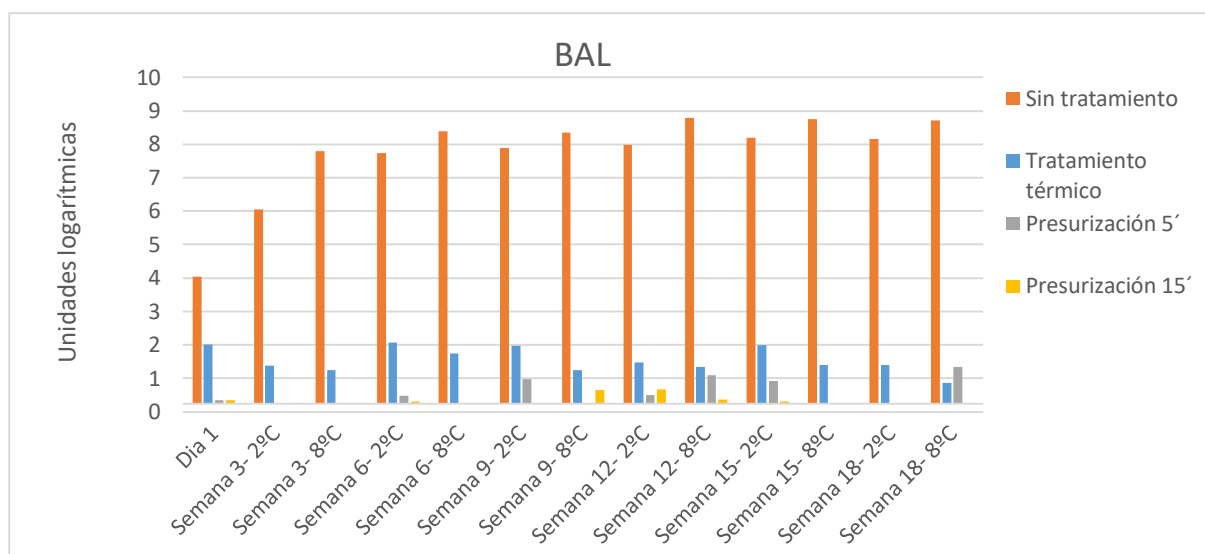


Tabla 3. Recuento de BAL.

En el recuento de enterobacterias: A una temperatura de almacenaje de 2°C no se encontraron 6 unidades logarítmicas hasta semana 9, sin embargo, a una temperatura de 8°C este valor se alcanzó a las 3 semanas. El tratamiento térmico y el tratamiento a altas presiones resultó muy eficaz.

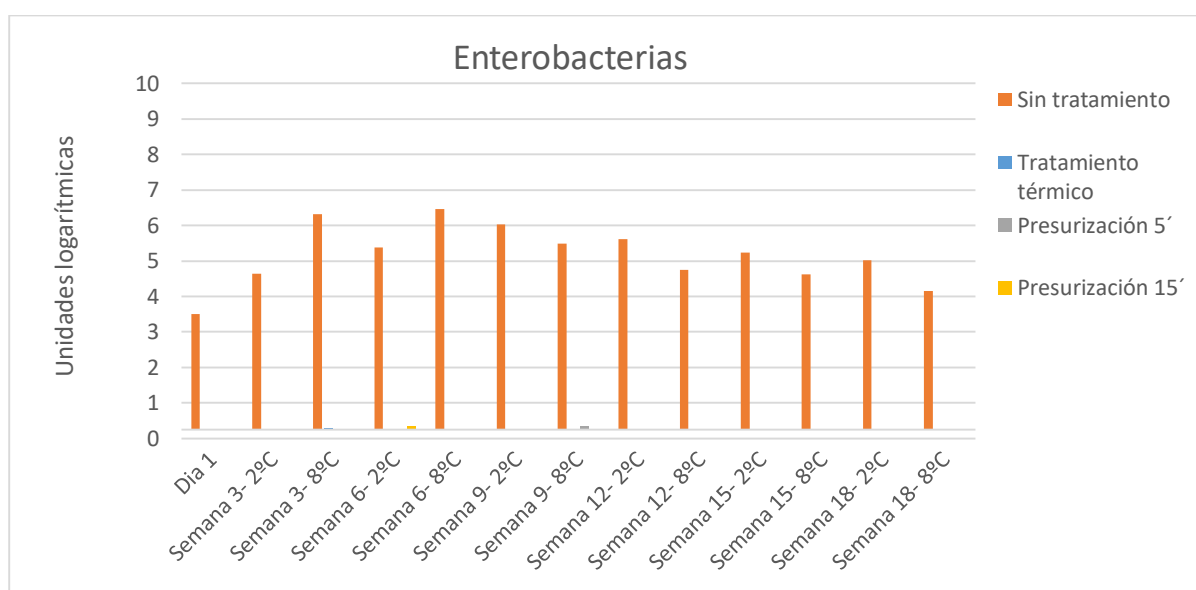


Tabla 4. Recuento de enterobacterias.

En el recuento de *Listeria spp*: A una temperatura de 2°C no se encontraron 4,6 unidades logarítmicas de *Listeria* hasta semana 18; y a una temperatura de 8°C en salchichas sin tratar se encontraron 4,6 unidades logarítmicas a las 3 semanas de almacenamiento y 5 unidades logarítmicas a las 6 semanas de almacenamiento. El

tratamiento térmico y el tratamiento a altas presiones provocó un efecto letal sobre *Listeria* ya que no se detectó crecimiento.

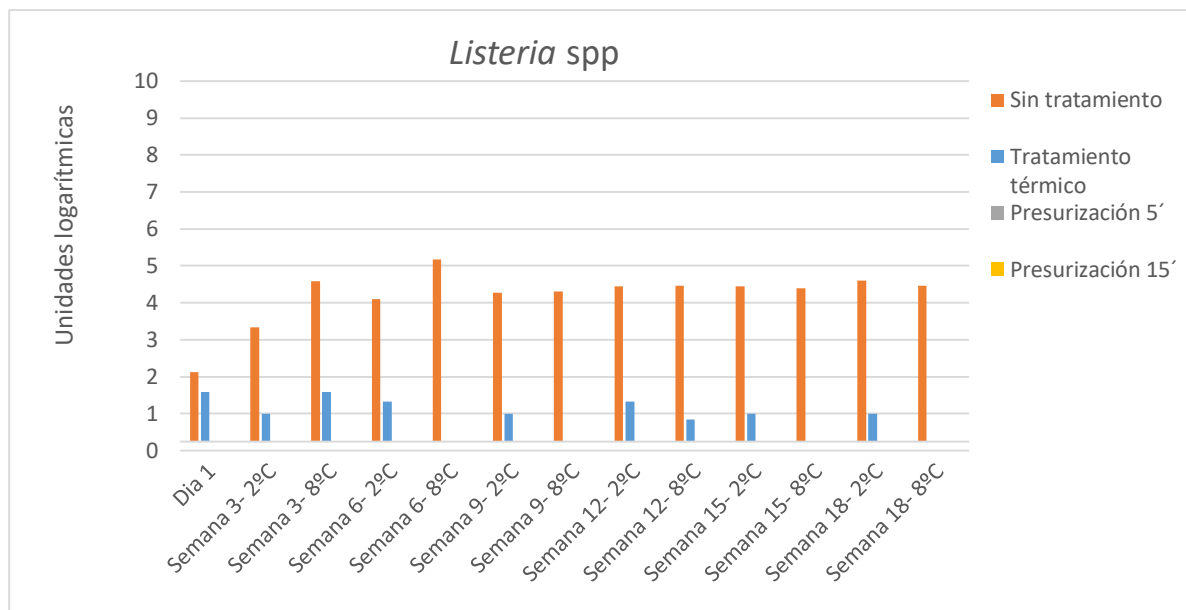


Tabla 5. Recuento de *Listeria* spp.

Los resultados del segundo artículo, con título “**Combined use of modified atmosphere packaging and high pressure to extend the shelf-life of raw poultry sausage**” elaborado por M. Lerasle, M. Federighi, H. Simonin, V. Anthoine, S. Rezé, R. Chéret y S. Guillou y publicado en el año 2014, son los siguientes:

La concentración de O₂ medida tres días después en muestras envasadas con la técnica de atmosfera modificada fue muy bajo, debido a que la mezcla de gases utilizada para esta técnica era de 50% de CO₂ y 50% de N₂. Estos resultados fueron similares en las muestras tratadas y no tratadas. El tratamiento a altas presiones no produjo ningún cambio en el CO₂ en comparación con las muestras no tratadas. Posteriormente, durante el almacenamiento, se observó que el contenido de CO₂ cambió significativamente en las muestras control, ya que aumentaron desde el día 0 hasta el final del almacenamiento donde alcanzó una concentración del 42,03 ± 3,82 %; mientras que permanecía más o menos constantes en las muestras presurizadas. Esto puede deberse al metabolismo de los microorganismos presentes en las muestras sin tratar. Para las muestras acondicionadas al aire ambiente, la concentración de O₂ en el día 0 en las muestras control y tratadas fue de un 15%. El nivel de O₂ disminuyó durante su almacenamiento desde el día 0 en muestras tratadas y el día 14 para las muestras control hasta alcanzar ambos niveles cercanos al 0% en

el día 21. Esto puede deberse a la utilización de O₂ por las bacterias o por la oxidación de los lípidos. La concentración de CO₂ en las salchichas envasadas al aire ambiente era de un 3,82-3,93% el día 0. Esta concentración se mantuvo constante durante todo el tiempo de almacenamiento en muestras tratadas, mientras que en las muestras control aumentó hasta un máximo de 46,10% el día 21. A partir del día 14 se obtuvo una tendencia inversa entre el CO₂ y el O₂, aumentando la primera y disminuyendo significativamente la segunda.

La duración del almacenamiento y el tratamiento de altas presiones afectó significativamente la evolución de mesófilos y BAL en las muestras control mientras que se demostró que la composición de gas no tiene efecto significativo en ellas. La carga inicial de mesófilos en el día 0 para las muestras control envasadas al aire y las muestras control envasadas por atmosferas modificadas eran de 6.05 ± 0.18 unidades logarítmicas y $5,71 \pm 0,1$ unidades logarítmicas respectivamente. Entre el día 0 y 14 aumentaron a $8,86 \pm 0,27$ unidades logarítmicas y $8,36 \pm 0,20$ unidades logarítmicas. Los mesófilos se mantuvieron estables hasta el final del almacenamiento en $8,39 \pm 0,09$ unidades logarítmicas y $8,16 \pm 0,15$ unidades logarítmicas respectivamente. Mientras que la carga inicial de BAL en el día 0 para las muestras control envasadas al aire y las muestras control envasadas por atmosferas modificadas eran de $4,01 \pm 0,17$ unidades logarítmicas y $4,01 \pm 0,02$ unidades logarítmicas respectivamente. Entre el día 0 y 14 aumentaron a 8,83 unidades logarítmicas y 8,88 unidades logarítmicas respectivamente. Las BAL se mantuvieron también estables hasta el final del almacenamiento. El tratamiento de altas presiones a 500 MPa afectó significativamente a las poblaciones de mesófilos y BAL, observándose una disminución de 2,35 unidades logarítmicas para las muestras envasadas a atmosferas modificadas y 2,60 unidades logarítmicas para muestras envasadas al aire. Durante el almacenamiento de los productos presurizados el recuento de mesófilos se mantuvo estable en comparación con las muestras control. Para las BAL, el tratamiento de altas presiones fue suficiente para no permitir una mayor detección durante los 22 días de almacenamiento. Los valores de pH de las muestras control en el día 0 eran de 5,85 y en las muestras tratadas por altas presiones estaba entre 5,95 y 6,11. Independientemente de que se empaquetara a atmosfera modificada o al aire, el tratamiento de altas presiones demostró un aumento significativo del pH. Observándose una disminución significativa del pH en aquellas muestras no tratadas

por altas presiones independientemente de que se empaquetara a atmosfera modificada o al aire, esto puede deberse a la proliferación de BAL.

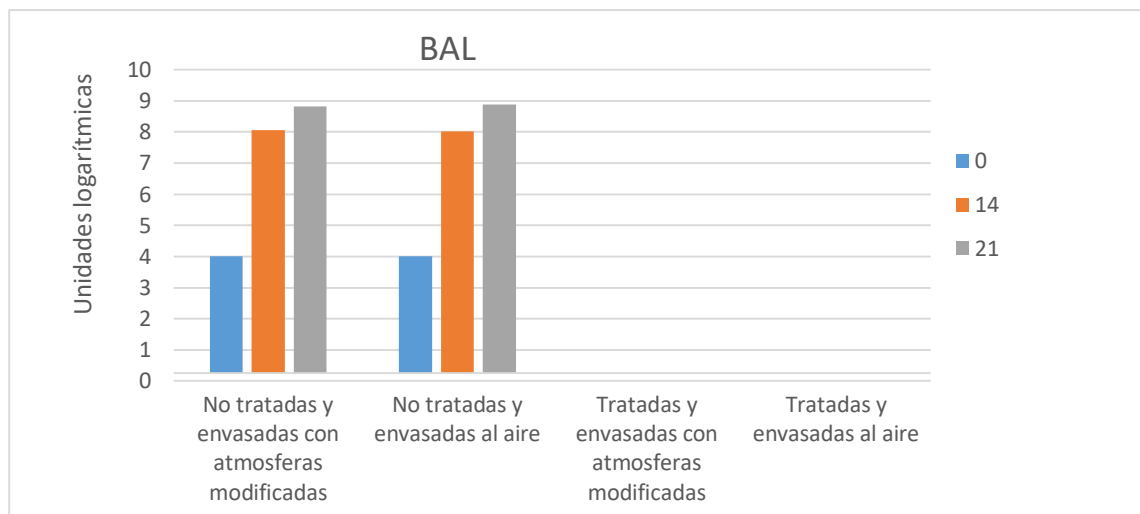


Tabla 6. Recuento de BAL.

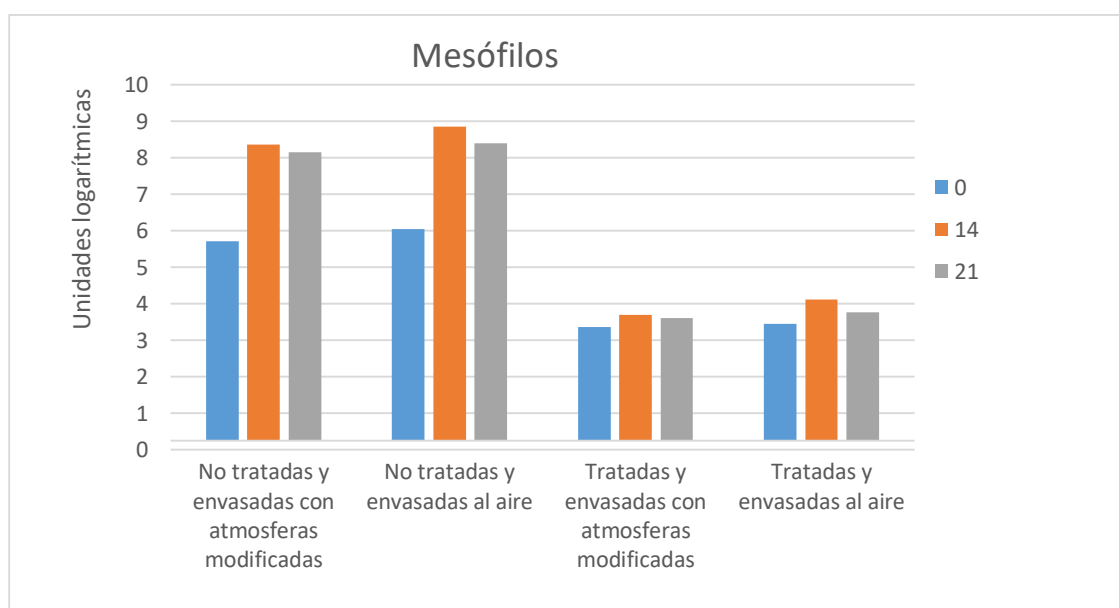


Tabla 7. Recuento de mesófilos.

En lo que refiere a la estabilidad oxidativa de los lípidos, el día 1 los valores fueron de 0,98 y 0,58 para las muestras control envasadas al aire y muestras control envasadas en atmosferas modificadas respectivamente. La presencia de aire en el paquete indujo a un aumento de los valores de ácido tiobarbitúrico (TBAR) durante el almacenamiento. Aunque los valores finales de TBAR fueron mayores en las muestras presurizadas que en las no tratadas, se mostró que la forma de empaquetado y el almacenamiento fueron los únicos factores que influyeron significativamente.

Los resultados del tercer artículo, con título **“High pressure processing applied to cooked sausage manufacture: physical properties and sensory analysis”**, elaborado por M. Mor-Mur y J. Yuste y publicado en 2003, son los siguientes:

En lo que respecta al color no existen diferencias significativas entre los cuatro tipos de salchichas. En el análisis sensorial únicamente las salchichas presurizadas durante 15 minutos difieren significativamente de las tratadas con calor prefiriéndose las primeras por un 50% de los analistas frente a un 27,3% de las segundas. Esto se debe a que las salchichas presurizadas tenían mejor aspecto, sabor y textura. Las salchichas presurizadas eran más cohesivas y las tratadas por calor eran las más firmes. Las salchichas presurizadas durante 15 minutos eran menos firmes que las no tratadas. En la textura no existen diferencias significativas en la elasticidad, adherencia y la fuerza de corte, mientras que la cohesión y la dureza cambiaron significativamente. El rendimiento en términos de pérdida de peso, fue significativamente mayor en las salchichas tratadas con calor que en las presurizadas debido a que en las salchichas tratadas por calor a una temperatura de 80-85°C pierden más agua que las presurizadas, además algunas proteínas del tejido conectivo se vuelven solubles en agua haciéndolas más firmes. Por lo tanto, las salchichas tratadas con altas presiones eran menos firmes y más jugosas que las tratadas por calor.

Los resultados del cuarto artículo, con título **“Effect of high pressure on cooking losses and functional properties of reduced-fat and reduced-salt pork sausage emulsions”** elaborado por Huijuan Yang, Minyi Han, Xia Wang, Yanqing Han, Juqing Wu, Xinglian Xu y Guanghong Zhou y publicado en 2015, son los siguientes:

El color de las masas sin tratar mostró los niveles más bajos de claro, amarillento y la blancura, pero tenía los valores más altos de rojizo. Con el aumento de la presión hasta 400 MPa aumentaron los valores de claro (L), amarillento (b) y la blancura, pero disminuían los valores de rojizo (a). Las salchichas mostraron una tendencia similar en estos cambios de colores. En cuanto la evaluación sensorial y apariencia objetiva, las puntuaciones de apariencia, aceptación general y textura no encontró ninguna diferencia significativa entre salchichas tratadas y sin tratar. La puntuación de la evaluación sensorial se vio significativamente afectada por la aplicación de altas presiones, observándose aumentos significativos en todas las evaluaciones en

muestras tratadas a 200 MPa, mientras que comparado con el control se detectó una disminución significativa cuando la muestra se somete a 400 MPa. La solubilización inducida por presión en las proteínas se observó con la visualización de las bandas de la cadena pesada de la miosina y la actina, siendo a 200 MPa más bajas que en las muestras sin tratar y 100 MPa observándose otras bandas de proteínas. Presiones crecientes en un intervalo de 100 y 200 MPa aumentó las propiedades de textura tales como la dureza, la elasticidad, la resistencia, la cohesión y la masticabilidad, pero disminuyó la propiedad de adhesividad. Los aumentos posteriores de presión en intervalos de 300 y 400 MPa no afectaba significativamente a las propiedades como la dureza, la elasticidad, la resistencia y la masticabilidad, mientras que disminuyó la cohesión y la adhesividad aumentó significativamente. La aplicación de altas presiones en torno a 200 MPa produjo un aumento significativo en el aumento de proteínas. El contenido de grasa y agua aumentó con 200 MPa y disminuyó con 400 MPa. Comparado con el control, el aumento de las presiones a intervalos de 100-200 MPa, disminuyeron significativamente las pérdidas ocasionadas por la cocción, pero presiones más altas de 300 y 400 MPa resultaron aumentar significativamente comparadas con las del intervalo entre 100 y 200 MPa. Sin embargo, el tratamiento a 300 y 400 MPa dieron reducciones significativas en las pérdidas por cocción en comparación con el control. Se demostró que la aplicación de 200 MPa era óptima para mejorar el rendimiento de salchichas emulsionadas con reducción de grasas y sal.

4.2 Artículos sobre embutidos.

Los resultados del quinto artículo, con título “**Model for *Listeria Monocytogenes* Inactivation by High Hydrostatic Pressure Processing in Spanish Chorizo Sausage**” elaborado por Begoña Rubio, Arícia Possas, Francisco Rincón, Rosa María García-Gímeno y Beatriz Martínez y publicado en 2017, son los siguientes:

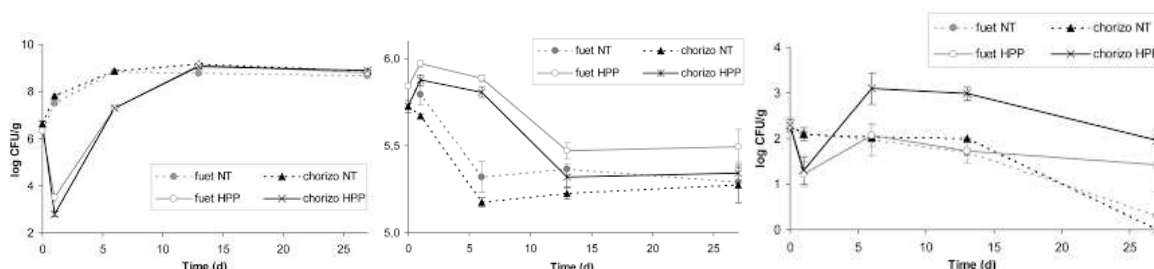
La máxima reducción de la viabilidad de *L. monocytogenes* combinada con otras técnicas se logró con la combinación de A_w a 0,90 y el tratamiento a 550 MPa durante 10 minutos, esta combinación fue estadísticamente más significativa que las otras combinaciones observándose una reducción de 4,31 unidades logarítmicas. En general, la letalidad de esta técnica aumentó a medida que aumentaron la presión, el tiempo que se ejerce esta presión y con valores altos de A_w . El aumento de la presión

implicó un aumento de la letalidad de este tratamiento, independientemente del producto de A_w . Las presiones iguales o inferiores a 400 MPa no dieron lugar a niveles de inactivación significativos. La interacción entre el tiempo y la presión es significativa y fueron los factores más importantes que influyeron en la inactivación de *L. monocytogenes*.

Los resultados del sexto artículo, con título “**Evaluation of High Pressure Processing as an Additional Hurdle to Control *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* in Low-Acid Fermented Sausages**” elaborado por Begonya Marcos, Teresa Aymerich y Margarita Garriga y publicado en 2005, son los siguientes:

En lo que respecta al análisis microbiológico, la población de bacterias del ácido láctico alcanzó su valor máximo de crecimiento el día 6 alrededor de 9 unidades logarítmicas que se mantuvieron hasta el final del proceso, coincidiendo con los valores mínimos de pH. Las poblaciones de BAL después de un tratamiento a 300 MPa experimentaron una reducción inmediata de 3 y 4 unidades logarítmicas en el fuet y el chorizo respectivamente. Después de la presurización se observó una rápida recuperación en la viabilidad y recuento de BAL, siendo el recuento en el día 6 alrededor de 7 unidades logarítmicas y para el día 13 se alcanzó el mismo nivel que tenían los embutidos no tratados. El crecimiento de *L. monocytogenes* disminuyó en fuet tratado desde las 2,26 unidades logarítmicas iniciales a 1,42 unidades logarítmicas. En cambio, no se observaron efectos sobre el recuento de *L. monocytogenes* en las muestras de chorizo presurizadas después de 27 días de maduración. Se observó también una rápida de recuperación de *L. monocytogenes* después de la presurización, desde el día 1 al 6, los recuentos de *L. monocytogenes* aumentaron 0,9 y 1,8 unidades logarítmicas en fuet y chorizo respectivamente. En los embutidos maduros, los recuentos de *L. monocytogenes* fueron menores en los no tratados que en los tratados, esto puede atribuirse al retraso en la caída de pH debido a la inactivación de BAL. Añadiendo un cultivo iniciador productor de bacteriocina impediría la inactivación de las BAL por altas presiones y así se mejoraría la reducción de *L. monocytogenes*. La población de *Salmonella* disminuyó significativamente durante la elaboración de embutidos tratados y no tratados. Durante la maduración de los embutidos no tratados, la población de *Salmonella* disminuyó de 2,45 unidades logarítmicas a 1,35 unidades logarítmicas en fuet y 2,67 unidades logarítmicas a 1,62 unidades logarítmicas en chorizo. Después de la presurización no existe una reducción inmediata de *Salmonella*, el efecto de la

presión se observó más tarde cuando la deshidratación fue más pronunciada. Desde el día 6 hasta el final de la maduración, los recuentos de *Salmonella* en las muestras tratadas fueron más bajos que en las no tratadas. Las muestras presurizadas mostraron una reducción de 2 unidades logarítmicas de los niveles de *Salmonella* durante el proceso.



Figuras nº 7. Recuento de BAL, *Salmonella* y *L. monocytogenes*, respectivamente (Marcos *et al*, 2005).

En el análisis de color las muestras no tratadas tenían el típico color rojo del chorizo y las muestras presurizadas mostraron una decoloración hacia un color rosa, este efecto se asoció a la desnaturalización de la mioglobina. Esta decoloración fue confirmada con el aumento del valor de brillo (L). Los valores de rojizo (a) no se alteraron como consecuencia del tratamiento. Los valores de amarillento (b) del fuet se redujeron significativamente por la presión mientras que no se observaron cambios en el chorizo. La actividad del agua de los embutidos disminuyó durante todo el proceso de secado, desde un valor inicial de 0,98 hasta valores de 0,83 a 0,86. No se encontraron diferencias significativas entre los valores de A_w durante el secado de embutidos tratados y no tratados, por lo tanto, el tratamiento de altas presiones no afectó en la evolución normal de A_w durante la maduración. Desde el principio del proceso se obtuvieron valores de pH más bajos de chorizo que en el fuet. El pH de las muestras no tratadas disminuyó desde un pH inicial de 5,7-5,8 hasta un pH final de 5,3. Los valores de pH en el día 6 de maduración de chorizo y fuet fueron de 5,17 y 5,32 respectivamente. El procesamiento a altas presiones tuvo un efecto significativo en el pH de los embutidos aumentando en 0,15 en chorizo y 0,13 en fuet debido a la presurización a 300 MPa. Las interacciones entre el tratamiento y el tiempo fueron significativas.

Los resultados del séptimo artículo, con título “**Starter Cultures and High-Pressure Processing To Improve the Hygiene and Safety of Slightly Fermented Sausages**” elaborado por Margarita Garriga, Begonya Marcos, Belén Martín, M.Teresa Veciana-

Nogués, Sara Bover-Cid, Marta Hugas y Teresa Aymerich y publicado en 2005, son los siguientes:

Los recuentos iniciales de BAL en la masa de relleno era de $3,56 \pm 0,29$ unidades logarítmicas, este recuento aumentó a 4,71 y 5,01 unidades logarítmicas de FA y CA respectivamente durante el proceso obteniéndose el mayor crecimiento el día 13 de maduración, mientras que en el recuento en las muestras con cultivo iniciador el recuento aumentó 3,08 y 3,66 unidades logarítmicas de FB y CB respectivamente durante el proceso obteniéndose el mayor crecimiento el día 7 de maduración. Todos los lotes mostraron conteos de BAL superiores a 8 unidades logarítmicas. Al fin de la maduración, el cultivo iniciador de BAL que predominó con un 85% en el chorizo fue *L. sakei* CTC6626, mientras que de GCC⁺ el 90% fue de *S. xylosus* CTC6013. Mientras que en el fuet el cultivo iniciador de BAL que predominó fue también *L. sakei* CTC6626, pero con un 70%, mientras que de GCC⁺ el 60% fue de *S. xylosus* CTC6013 y el 40% *S. xylosus* CTC6169. Los niveles iniciales de enterobacterias y enterococos no fueron diferentes significativamente en los diferentes lotes ($2,64 \pm 0,24$ unidades logarítmicas). Los niveles de enterobacterias aumentaron significativamente durante los primeros 7 días de maduración en embutidos sin cultivos iniciadores mientras que no se observó ningún crecimiento en lotes con cultivos iniciadores. Al final de la maduración CB mostró niveles más bajos significativamente de enterobacterias que CA. No se observó ningún crecimiento de *L. monocytogenes* en las muestras con cultivos iniciadores mientras que si se observó un aumento durante los primeros 7 días de maduración en las muestras sin cultivo iniciador. Por tanto, FB y CB mostraron conteos más bajos de *L. monocytogenes* que FA y CA durante el proceso de maduración. Los recuentos de *Salmonella* disminuyeron en todos los lotes durante la maduración, no se observó diferencias significativas entre sus recuentos entre los distintos lotes. Igualmente pasó con el recuento de *S. aureus*, el recuento en FA fue menor que en CA al final del proceso. Después de la maduración, los embutidos tratados por altas presiones y no tratados envasados al vacío fueron almacenados durante 28 días a 20°C. Al final del almacenamiento, los recuentos de enterobacterias estaban por debajo de 1 unidad logarítmica independientemente del tratamiento elegido. Durante el almacenamiento los enterococos disminuyeron en los lotes CB y FB tratados por altas presiones. Después de la maduración los embutidos se almacenaron 28 días a 20°C, los recuentos de *L. monocytogenes* tras estos 28 días

no fueron significativamente diferentes a los niveles iniciales excepto en los lotes de chorizo sin cultivo iniciador tratadas por altas presiones, en la que hubo una reducción de 0,9 unidades logarítmicas. Los recuentos de *S. aureus* disminuyeron de manera significativa en los lotes de CA estando todos los lotes por debajo de 2 unidades logarítmicas al final del almacenamiento. En el día 28 de almacenamiento, el recuento de *Salmonella* estaba por debajo de 10 unidades logarítmicas en todos los lotes, aunque la ausencia de esta únicamente se logró en lotes presurizados.

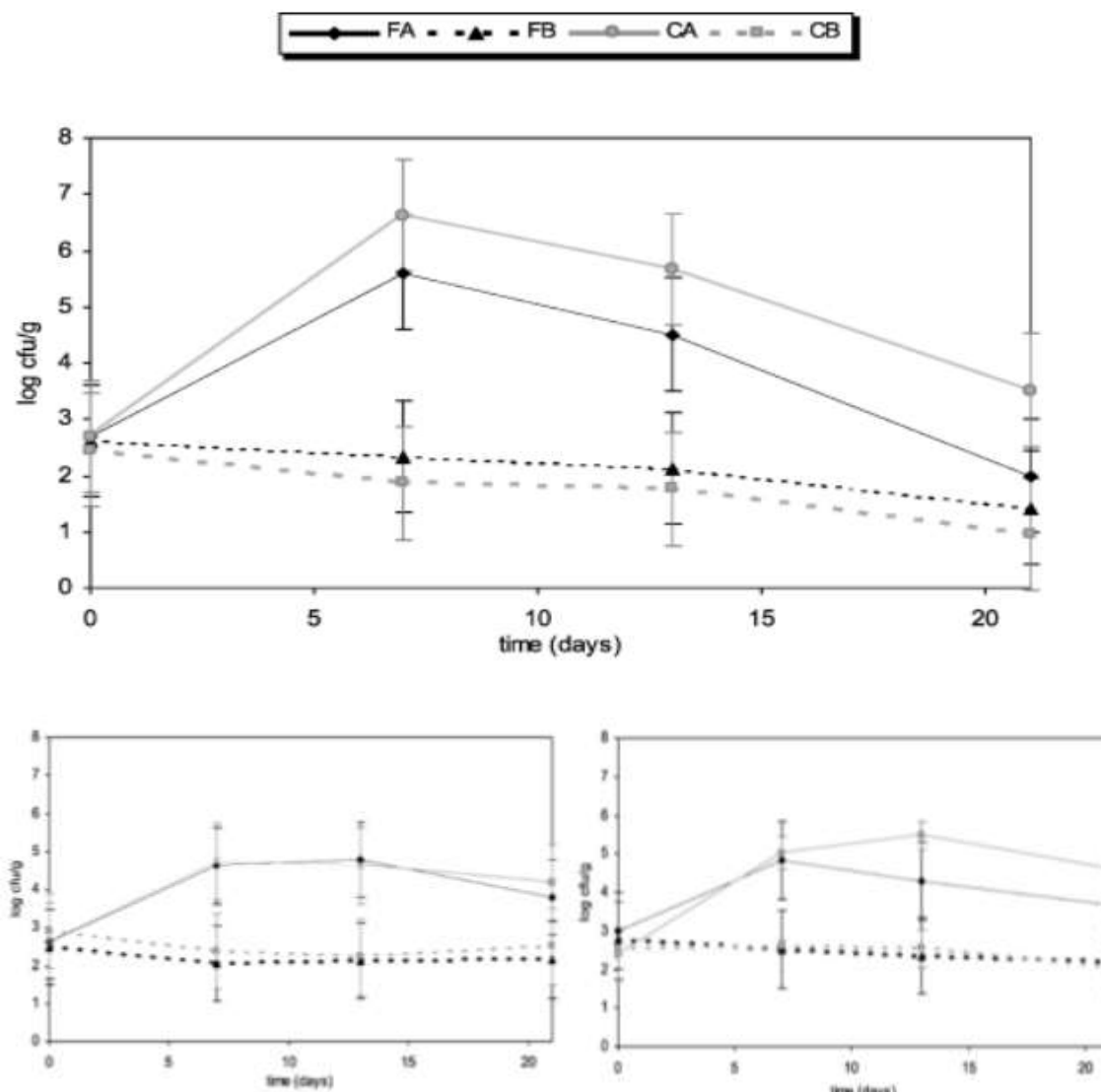


Figura nº 8. Evolución de enterobacterias, enterococos y *L. monocytogenes* durante la fermentación y maduración del fuet (F) y chorizo (C) sin cultivo iniciador (A) y con cultivo iniciador (B) (Garriga et al, 2005).

Los niveles de A_w y pH cambiaron. El A_w de los embutidos disminuyó durante el proceso de maduración siendo el valor inicial de 0,98 hasta valores de 0,83 y 0,86. No se encontraron diferencias significativas entre los valores de A_w en ninguno de los

lotes. El pH disminuyó en todos los embutidos durante la primera semana y luego solo aumentó en FB y CB hasta el final. Durante el proceso los valores de pH fueron significativamente más bajos en chorizo que en fuet. Tanto los productos como chorizo y fuet como los lotes con y sin cultivos iniciadores mostraron diferencias significativas respecto a los valores mínimos de pH en el séptimo día. Comparando los lotes de fermentación espontánea con los lotes de inoculados con cultivos iniciadores, los segundos obtuvieron un pH menor durante la primera semana de madurado. Durante el almacenamiento de los productos madurados, el pH mostró un aumento significativo en todos los lotes de chorizo, mientras que los del fuet no cambiaron. El efecto inhibidor del cultivo iniciador frente a BA quedó demostrado debido a que se observó formación de tiramina, putrescina y cadaverina en la maduración de CA, mientras se detectó producción de putrescina y cadaverina y una menor concentración de tiramina en CB. No se detectó histamina en el chorizo. No se produjo putrescina ni cadaverina y se produjo poca formación tiramina en FA. No se observaron diferencias entre FA y FB.

Los resultados del octavo artículo, con título **“High-Hydrostatic-Pressure (HHP) Processing Technology as a Novel Control Method for *Listeria monocytogenes* Occurrence in Mediterranean-Style Dry-Fermented Sausages”** elaborado por Domenico Meloni y publicado en 2019, al ser un conjunto de estudios voy a destacar aquellos que considere más importantes:

En el estudio “Improvement of the food safety of low acid fermented sausages by enterocins A and B and high pressure” del 2009 de Jofrè *et al.*, para Fuet, se empleó una presión de 400 MPa combinada con enterocina A y B con el fin de inactivar *L. monocytogenes*, al final de la maduración se produjo un recuento de menos de 1 unidad logarítmica. En el estudio “Evaluation of fermentation, drying, and/or high pressure processing on viability of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., and *Trichinella spiralis* in raw pork and Genoa salami” del 2010 de Porto Fett *et al.*, para Salami de Génova, se emplearon presiones desde 483 a 600 MPa en tiempos que van desde un minuto hasta 12 minutos a una temperatura de 19°C, combinada con una etapa de fermentación y otra de secado, con una etapa de maduración que comprende entre 25-35 días a 17°C. Se obtuvo un recuento de 1,1 a 1,3 unidades logarítmicas después de la fermentación; de 1,6 a más de 5 unidades logarítmicas después del secado y 3 unidades logarítmicas después de un

almacenamiento durante 28 días a 4°C. En el estudio “The impact of fast drying (QDS process®) and high pressure on food safety of NaCl-free processed dry fermented sausages” del 2012 de Stollewerk *et al.*, para chorizo de baja acidez y sin ácido NaCl, se empleó un proceso QDS de altas presiones con una presión de 600 MPa durante 5 minutos y a una temperatura de 13°C, al final de la maduración se produjo un recuento de menos de 1 unidad logarítmica. En el estudio “High hydrostatic pressure processing of sliced fermented sausages: A quantitative exposure assessment for *Listeria monocytogenes*” del 2019 de Possas *et al.*, para chorizo, se emplearon presiones comprendidas desde 400 hasta 600 MPa en tiempos que van desde 0 minutos hasta 12 minutos a una temperatura de 18°C, combinada nitritos, con una etapa de maduración que comprende entre 21-42 días a 17°C. Se obtuvo un recuento de menos de 1 unidad logarítmica en el 100% de los chorizos en el momento de su consumo empleando 600 MPa durante 10-12 minutos.

En definitiva, la eliminación de *L. monocytogenes* en embutidos depende en gran medida de los parámetros físico-químicos de las salchichas. Para definir la presión necesaria en cada tratamiento se deben de cumplir los criterios esenciales de rendimiento, evaluación y validación de este tratamiento.

Los resultados del noveno artículo, con título “**Microbiological, physicochemical and sensory parameters of dry fermented sausages manufactured with high hydrostatic pressure processed raw meat**” elaborado por M.K. Omer, B. Prieto, E. Rendueles, A. Alvarez-Ordoñez, K. Lunde, O. Alvseike y M. Prieto y publicado en 2015, son los siguientes:

En lo que respecta al análisis microbiológico, los mesófilos crecieron rápidamente alcanzando desde las 5-6 unidades logarítmicas hasta las 8,8 unidades logarítmicas para salami y morr independientemente de las condiciones utilizadas. Los psicótrofos mostraron un crecimiento irregular con valores de 6,4-8,5 unidades logarítmicas para el salami y 5,9-8,2 unidades logarítmicas para el morr. Las bacterias del ácido láctico alcanzaron un recuento de 8-8,6 unidades logarítmicas para salami y para morr independientemente del tratamiento. No se detectó crecimiento de enterobacterias en las muestras tratados por altas presiones, por el contrario, en las muestras sin tratar antes de los primeros 6 días se obtuvo un recuento de 3 unidades logarítmicas y

después del día 6 hasta el final se obtuvo un recuento por debajo de las 2 unidades logarítmicas. No se detectó *E. coli* en ninguna de las muestras analizadas.

La actividad del agua final varió entre los productos tratados por altas presiones siendo el promedio final de A_w en salami es 0,87 y en morr es 0,89 mientras que en las no tratadas el producto final de A_w en salami es 0,92 y en morr es 0,91. El pH final no se vio afectado por el tratamiento de altas presiones independientemente de la condición de la materia prima. La pérdida de peso también varió entre los productos tratados por altas presiones siendo la pérdida final de peso en salami de un 13% y en morr de un 11% mientras que en las no tratadas la pérdida final de peso en salami es de un 8% y en morr de un 9%. En el análisis sensorial, las características sensoriales de las muestras se estimaron después de 2 y 6 semanas. El color, el aroma, el sabor, la textura y el aspecto general del salami tratado por altas presiones después de dos semanas fue más pobre en comparación con los salamis no tratados, de igual modo pasó con el morr. Las diferencias en las características sensoriales entre las muestras tratadas por altas presiones y no tratadas por altas presiones eran menos evidentes después de la semana 6 de maduración. La congelación de la materia prima produjo una mejora en la calidad final de las características sensoriales, esta mejora fue más evidente después de 6 semanas tanto en salami como en morr. Los resultados de los analistas también mostraron una diferencia entre las muestras tratadas y no tratadas y entre las muestras refrigeradas y congeladas. A las dos semanas los analistas prefirieron el salami y morr refrigerado frente al salami y morr refrigerado tratado con altas presiones. Los analistas también prefirieron el salami y morr congelado tratado por altas presiones frente al salami y morr refrigerado tratado por altas presiones. Después de 6 semanas de maduración estas diferencias no fueron tan evidentes y únicamente la diferencia entre el salami refrigerado y tratado a altas presiones y el salami congelado tratado con altas presiones era significativamente.

Los resultados del décimo artículo, con título “**Spoilage of Blood Sausages Morcilla De Burgos Treated With High Hydrostatic Pressure**” elaborado por Ana M. Diez, Rosalinda Urso, Kalliopi Rantsiou, Isabel Jaime, Jordi Rovira y Luca Cocolin y publicado en 2008, son los siguientes:

Los resultados de los recuentos de placas antes del embutido y de la cocción fueron de 7 unidades logarítmicas en bacterias mesófilas, 9 unidades logarítmicas de

bacterias del ácido láctico y 6 unidades logarítmicas de *Pseudomonas*. En la muestra control, después de la cocción las poblaciones bacterianas disminuyeron obteniéndose un recuento de placa de 3 unidades logarítmicas para mesófilos y recuentos por debajo del límite de detección de bacterias del ácido láctico y *Pseudomonas* (menos de 2 unidades logarítmicas). Después de 9 días de almacenamiento ocurrió un aumento considerable de la población microbiana: los mesófilos alcanzaron un valor de 6 unidades logarítmicas desde el día 9 al 21 disminuyendo al final del estudio; un aumento progresivo de bacterias del ácido láctico desde el día 9, alcanzando un valor de 8 unidades logarítmicas al final del estudio; y las *Pseudomonas* alcanzaron un valor de 4 unidades logarítmicas desde el día 9 al 28 disminuyendo ligeramente al final del estudio. En las muestras tratadas por altas presiones se obtuvo un recuento de placa de 3 unidades logarítmicas para mesófilos y recuentos por debajo del límite de detección de bacterias del ácido láctico y *Pseudomonas* (menos de 2 unidades logarítmicas). Aunque los recuentos para los mesófilos aumentaron a 4 unidades logarítmicas durante la primera semana de almacenamiento no se detectaron diferencias hasta el día 28, disminuyendo los recuentos al final de este experimento. El recuento de bacterias de ácido láctico mostró un aumento progresivo durante el almacenamiento refrigerado alcanzando un valor de más de 8 unidades logarítmicas al final del experimento. El recuento de *Pseudomonas* estuvo siempre por debajo del límite de detección durante el almacenamiento refrigerado. En cuanto a la ecología microbiana detectada por los perfiles de ADN-DGGE en las muestras de morcilla, se detectaron especies de *Weissella confusa*, *Weissella viridescens*, *Gamma proteobacterium* y *Leuconostoc lactis* en la masa de las morcillas, en las morcillas tratadas por presión y las muestras control. *Leuconostoc lactis* se detectó como bandas débiles durante los días 0 y 9 de almacenamiento en muestras control y de 0 a 28 días en muestras tratadas por altas presiones. *Brochotrix thermosphacta* y *Leuconostoc mesenteroides* solo se identificaron en las muestras control. En los perfiles de ARN-DGGE se detectaron las mismas especies, sin embargo, su presencia y apariencia eran diferentes a las obtenidas por ADN-DGGE. En las muestras control se detectaron bandas de *L. lactis* y *W. confusa* y en el día 0 y 9 apareció una tercera banda identificada como *B. thermosphacta*. *L. mesenteroides* mostró una banda intensa desde el día 14 hasta el día 35 y la banda de *W. viridescens* apareció el día 21. En las muestras tratadas por altas presiones no apareció *L. mesenteroides*, el pH bajó desde el día 28 al 35 como

consecuencia de la aparición de *W. viridescens*. Por otro lado, *L. lactis* parecía más resistente al tratamiento por altas presiones ya que estuvo presente desde el día 0 hasta el día 28, solo desapareciendo el día 35.

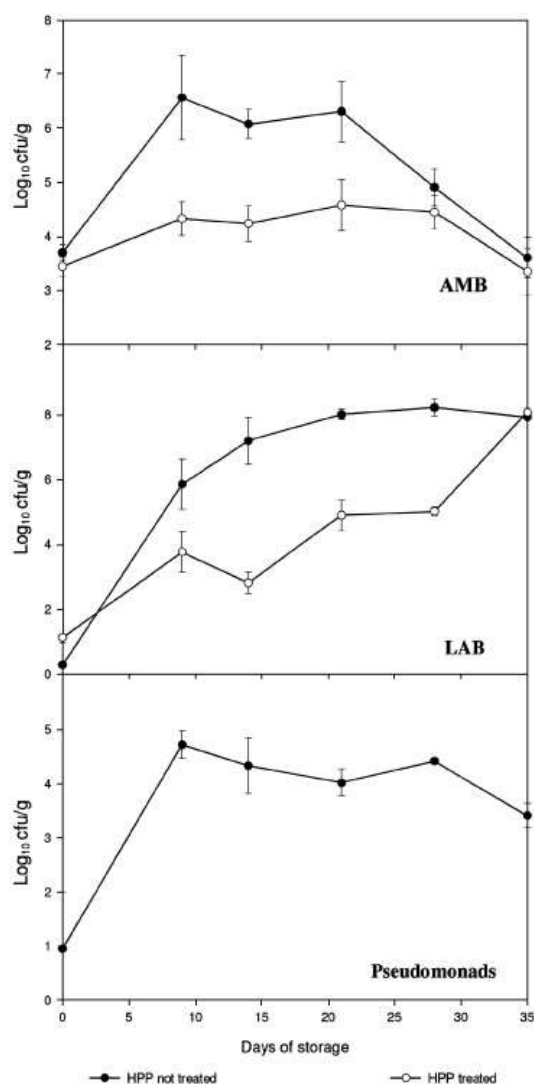


Figura nº 9. Crecimiento de mesófilos, BAL y *Pseudomonas* en muestras no tratadas (punto negro) y tratadas (punto blanco) (Diez *et al*, 2008).

Los resultados de las mediciones iniciales de pH fueron superiores a 6,35 para todas las muestras, las muestras control se caracterizaron por una bajada de pH desde 6,20 el día 9 hasta un pH cercano a 5 el día 21, mientras que en las muestras tratadas por altas presiones no se observó ninguna modificación durante los primeros 28 días presentando un pH superior a 6,0. Solo el día 35, día del final del estudio, el pH disminuyó hasta un valor de 5,4.

Los resultados del undécimo artículo, con título “**Effect of high hydrostatic pressure processing on biogenic amine content of sausage during storage**” elaborado por

Livia Simon-Sarkadi, Klára Pásztor-Huszár, István Dalmadi y Gabriella Kiskó y publicado en 2012, son los siguientes:

En el análisis microbiológico el tratamiento a una presión de 500 MPa redujo el número total de microorganismos. En el embutido semiseco se redujo en 3 unidades logarítmicas comparándolo con el control y en embutidos extra gruesos se redujo en 5 unidades logarítmicas comparándolo con el control. En las muestras controles a lo largo de la conservación se observó un recuento microbiológico mayor, mientras que en las muestras tratadas los valores de recuento fueron similares al inicial. El tratamiento de presurización no cambió el estado microbiológico de los embutidos, siendo su recuento final similar a los controles no tratados.

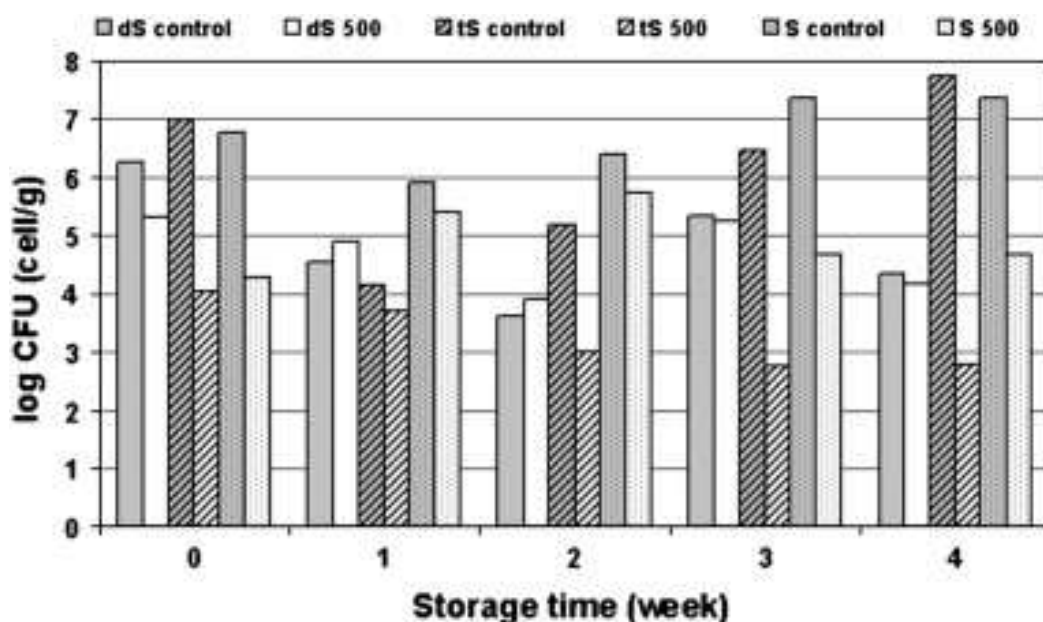


Tabla nº 8. Crecimiento bacteriano de cada muestra durante 4 semanas (Simon-Sarkadi *et al*, 2012).

El contenido en aminas biógenas disminuyó de forma continua durante las 4 semanas de almacenamiento en todas las muestras, especialmente en aquellas tratadas con altas presiones. El contenido total de BA osciló entre 73-32 µg/g en embutido semiseco control y 84-13 µg/g embutido semiseco tratado; 103-46 µg/g en embutido seco control y 112-36 µg/g en embutido seco tratado; y 118-35 µg/g en embutidos extra gruesos control y 116-45 µg/g en embutidos extra gruesos tratados. Se detectaron cinco tipos de BAs en los embutidos, siendo las dominantes tiramina y espermina, seguidos por la espermidina, cadaverina y putrescina. La tiramina representaba el 48-68%, 47-70 % y 63-76% de la concentración total de BAs en embutido semiseco, seco y extra gruesos control respectivamente y 48-74%, 51-68%

y 62-75% de la concentración total de BAs en embutido semiseco, seco y extra grueso tratadas respectivamente. La espermina representaba el 11-31%, 21-38 % y 16-24% de la concentración total de BAs en embutido semiseco, seco y extra grueso control respectivamente y 15-36%, 25-40% y 19-25% de la concentración total de BAs en embutido semiseco, seco y extra grueso tratadas respectivamente. Se observó una mayor concentración de tiramina en las muestras tratadas, en especial en las muestras de embutidos extra gruesos. Aunque esta se redujo a las cuatro semanas. El tratamiento con altas presiones redujo ligeramente el contenido de espermidina si lo comparamos con el control; en putrescina, el tratamiento tuvo un efecto más pronunciado; y en cadaverina, tras el tratamiento los niveles de esta bajaron ligeramente, pero durante el almacenamiento del embutido extra grueso se observó un aumento de 4 y 5 veces en el control y muestras tratadas respectivamente durante las cuatro semanas de almacenamiento. El tratamiento con altas presiones en la mayoría de los casos mostró un efecto inhibitor sobre cadaverina y putrescina, mientras que mostró una activación en la formación de tiramina y espermina comparado con los controles.

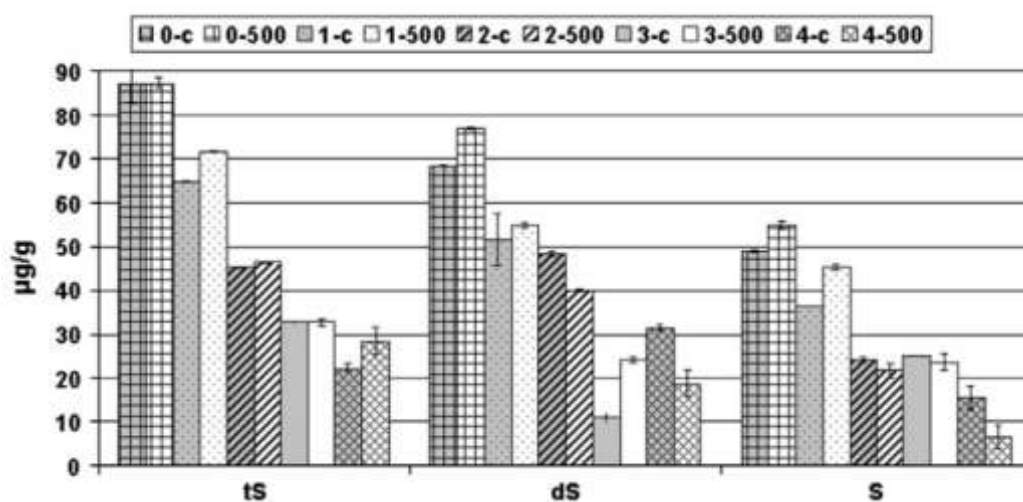


Tabla nº 9. Cambios del contenido de tiramina en las diferentes muestras durante 4 semanas (1-4) de almacenamiento a 8 °C (Simon-Sarkadi *et al*, 2012).

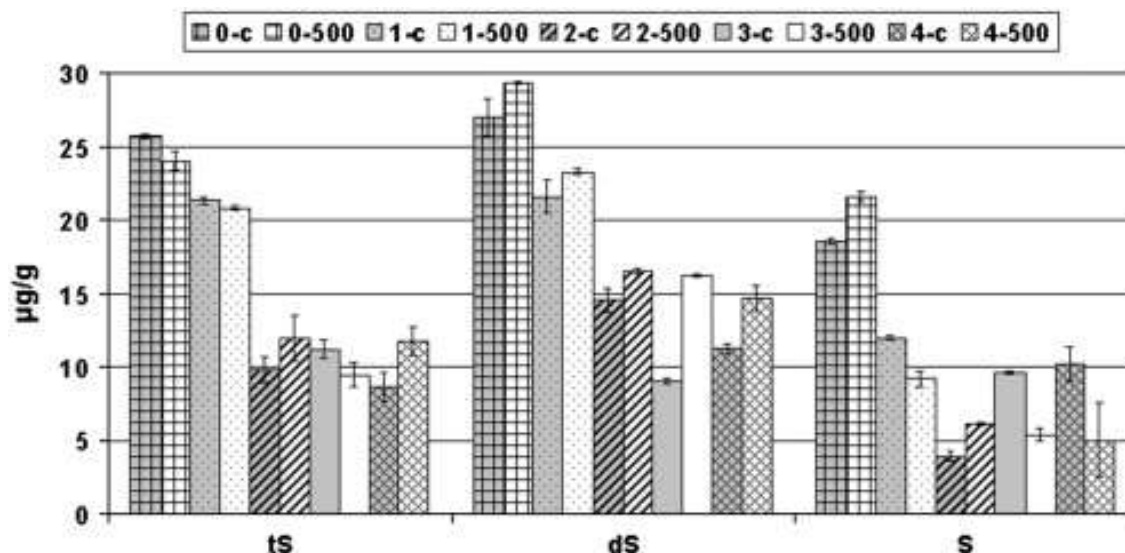


Tabla nº 10. Cambios del contenido de espermina en las diferentes muestras durante 4 semanas (1-4) de almacenamiento a 8 °C (Simon-Sarkadi *et al*, 2012).

El tratamiento de altas presiones no ocasionó diferencias significativas en el olor, sabor, exudación de la grasa e impresión general en ninguno de los tipos de embutidos. La textura parecía ser la más sensibles a las altas presiones. El tratamiento de presurización causó cambios significativos en la firmeza de los embutidos secos y semisecos suavizándolos, el color del embutido semiseco se volvió más pálido.

5. COMPARATIVA Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS.

5.1 Comparativa y discusión de los artículos sobre salchichas.

En este apartado compararemos y discutiremos los resultados de los cuatro primeros artículos, los cuales tratan sobre salchichas.

Comparando el primer y segundo artículo, ambos muestran que el tratamiento de altas presiones reduce considerablemente el número de microorganismos presentes en las muestras. En el primer artículo se seleccionó una presurización a 65°C ya que se demostró eficaz para reducir el recuento bacteriano asegurando que durante su almacenamiento a bajas temperaturas se mantenga bajo. En otros estudios similares se observó como la presurización a una temperatura ambiente provocó un recuento en placa mayor durante su almacenaje. Al comparar las muestras tratadas por altas presiones y las muestras control, las primeras poseen un recuento menor de placa que las segundas. Las bacterias predominantes en las salchichas no tratadas por altas presiones fueron bacterias del ácido láctico, que compiten con otras bacterias como las enterobacterias, provocando su inhibición, aun siendo bacterias alterantes también funcionan como bacterias protectoras, como mencionamos anteriormente. En las salchichas tratadas el recuento de mesófilos, psicotrofos y bacterias del ácido láctico fue bajo, lo que indica que el tratamiento a altas presiones inhibe su crecimiento y por tanto retrasa el deterioro provocado por estas. *S. aureus* no se encontró en ninguna de las muestras tratadas, al igual que se demostró que las altas presiones son una buena técnica para inactivar enterobacterias y *Listeria*. En lo que respecta a la diferencia de temperatura en su almacenaje (2 u 8°C), en mesófilos y psicotrofos no se demuestra que este factor influya en su proliferación, sin embargo, en BAL y en *Listeria* se observa como a una temperatura de 2°C los microorganismos necesitan para proliferar el doble de tiempo que a una temperatura de 8°C, y para enterobacterias se observa como a una temperatura de 2°C los microorganismos necesitan para proliferar hasta su máximo nivel el triple de tiempo que a una temperatura de 8°C. En el segundo artículo también se mostró como el tratamiento a altas presiones a 500 MPa provocó una disminución en el recuento de mesófilos y bacterias del ácido láctico comparado con las muestras control y como durante su almacenamiento los niveles de proliferación de mesófilos se mantuvo estable y para BAL no se detectó proliferación hasta el día 22. Esto implica también que el pH

aumentara debido a la inactivación de las BAL en las muestras tratadas, mientras que descendería en las muestras no tratadas. Se demostró que la composición de gas a la hora del envasado no tiene un efecto significativo en las poblaciones microbianas, aunque se sabe que la composición de gas elegida en los envasados a atmosferas modificadas, provocan una presión selectiva a ciertas bacterias presentes naturalmente en la carne.

Comparando el tercer y cuarto artículo en lo que respecta al color tenemos que, en el tercer artículo no existen diferencias significativas entre los cuatro tipos de salchichas. Las modificaciones de color producidas por las altas presiones dependen de las condiciones de presión, tiempo y temperatura, y se deben a cambios en la hemoglobina, como su desnaturalización, liberación del grupo hemo y oxidación del átomo de Fe. Sin embargo, cuando el producto es cocido o curado, la hemoglobina cambia y no se ve afectada por la presión, y es por esto por lo que, en este estudio, los parámetros no cambiaron. Los tonos más claros podrían ser resultado de la coagulación de las proteínas por la aplicación de altas presiones. Otros estudios proporcionaron resultados similares. Mientras que en el cuarto artículo se observó cómo las salchichas tratadas a altas presiones presentaron valores más altos de claro (L), amarillento (b) y blancura, pero disminuyeron los valores de rojizo (a), mientras que las no tratadas presentaban niveles bajos de claro (L), amarillento (b) y la blancura y valores más altos de rojizo (a). El resultado obtenido se debe a tres mecanismos como la desnaturalización de las proteínas que contribuyó a aumentar la ligereza y la blancura de las salchichas; modificación de la mioglobina y la modificación del anillo porfirínico, siendo los dos primeros mecanismos mencionados también en el tercer artículo. En lo que respecta al análisis sensorial en el tercer artículo se prefirieron por un 50% las salchichas presurizadas durante 15 minutos y en el cuarto artículo no se observaron diferencias significativas entre salchichas tratadas y sin tratar pero se observó un aumento significativo en todas las evaluaciones en las muestras tratadas a 200 MPa, mientras que se prefirieron las control a las muestras tratadas a 400 MPa como se observó en otros estudios en que la evaluación es más favorable debido a que las muestras presentan un sabor más fuerte y agradable y la textura más jugosa cuando la muestra se trata con 200 MPa; en lo que respecta a la textura, en el tercer artículo no existen diferencias significativas en la elasticidad, adherencia y la fuerza de corte, mientras que la cohesión y la dureza cambiaron significativamente

siendo las tratadas más cohesivas y menos duras o firmes que las no tratadas. Mientras que en el cuarto artículo se observó que una presión de 100-200 MPa aumentó la dureza, elasticidad, resistencia, cohesión y masticabilidad pero disminuyó también la adhesividad, el aumento de la cohesión observado en las salchichas tratadas por altas presiones, se debió al aumento de proteínas solubles, estos cambios de conformación de las proteínas afectadas por altas presiones pueden causar modificaciones en las propiedades texturales de los productos cárnicos. Sin embargo, a una presión de 300-400 MPa la dureza, elasticidad, resistencia y masticabilidad no se vieron afectadas significativamente, pero disminuyó la cohesión mientras que adhesividad aumentó significativamente. Este puede deberse a los cambios de las proteínas solubles comentadas anteriormente, debido a que se desnaturalizan perdiendo su función. En lo que respecta al rendimiento, la pérdida de peso en el tercer artículo fue significativamente mayor en las salchichas tratadas con calor que en las presurizadas, y esto se debe a que al tratarse a temperaturas de 80-85°C la pérdida de agua es mayor que en las muestras presurizadas, además la mayoría de las proteínas del tejido conectivo se vuelven solubles en agua, por lo tanto, las salchichas tratadas por altas presiones eran menos firmes, pero más jugosas, mientras que en el cuarto artículo también se demuestra que la pérdida de peso fue mayor en las salchichas control que en las salchichas tratadas por presión siendo el mejor rango entre 100-200 MPa y en especial, la aplicación de 200 MPa es la óptima para mejorar el rendimiento de estas salchichas, coincidiendo con el estudio de Ma *et al* de 2012. Esto se explica por lo comentado anteriormente de las proteínas solubles, las cuales formaron una matriz más estable que ayudaron a la retención de agua como se explicó en otros estudios.

5.2 Comparativa y discusión de los artículos sobre embutidos.

En este apartado, compararemos los artículos sobre embutidos, los cuales se extienden desde el quinto hasta el undécimo.

Con lo que respecta al análisis microbiológico:

Las poblaciones de bacterias del ácido láctico (BAL) en el sexto artículo se redujeron tras un tratamiento de 300 MPa en 3 unidades logarítmicas para el fuet y en 4 unidades logarítmicas en el chorizo, en otros estudios similares como el de Carlez *et al* de 1994 se detectaron niveles aun menores de inactivación, en torno a 1 unidad logarítmica de

BAL a 300 MPa mientras que una presurización a 400 MPa mostró una reducción de 4 a 5 unidades logarítmicas. Después de 13 días de almacenaje el recuento volvió a ser el mismo que antes del tratamiento, unas 9 unidades logarítmicas, mientras que, en el décimo artículo, el recuento en placa de la masa de morcilla antes del proceso de embutido y de la cocción fue de 9 unidades logarítmicas, tanto en las muestras control como en las tratadas por altas presiones, después del proceso de cocción se obtuvo un recuento en placa por debajo del límite de detección, este recuento aumentó a lo largo de la etapa de conservación, hasta alcanzar un valor de 8 unidades logarítmicas al final del experimento debido a que las BAL no se inactivaron completamente con el tratamiento, aun así se comprobó que el tratamiento de altas presiones prolonga la vida útil de las morcillas. La resistencia de las BAL en la morcilla puede deberse al efecto protector debido a la rugosidad de la superficie de la morcilla del que se favorecen junto con el contenido en grasa de la carcasa al que se adhieren estas bacterias durante el enfriamiento. Otros estudios han obtenido una completa inactivación de BAL en carne picada empleando una presión de 450 MPa durante 20 minutos a 20°C. Las BAL no son únicamente alterantes, como podemos observar en el séptimo artículo, cuya función es la de mejorar la higiene y seguridad de los alimentos inactivando a otras bacterias como veremos a continuación, por esto la masa de algunos embutidos se inoculan con ellas.

Las poblaciones de bacterias mesófilas en el noveno artículo proliferaron desde las 5 o 6 unidades logarítmicas iniciales hasta un máximo de 8,8 unidades logarítmicas independientemente del tratamiento usado para salami y morr, en el décimo artículo, el recuento en placa de la masa de morcilla antes del proceso de embutido y de la cocción fue de 7 unidades logarítmicas, en la muestra control después del cocido se obtuvo un recuento de 3 unidades logarítmicas, duplicándose este recuento el día 9 de almacenamiento, en las muestras tratadas por altas presiones también se obtuvo un recuento de 3 unidades logarítmicas, aumentando a 4 unidades logarítmicas durante la primera semana de almacenamiento, no detectándose diferencias en el recuento hasta el día 28. De igual modo ocurrió con *Pseudomonas* en este mismo artículo, tras el tratamiento el recuento de *Pseudomonas* estuvo durante todo su almacenaje por debajo del límite de detección.

Las poblaciones de enterobacterias en el séptimo artículo obtuvieron el mismo recuento independientemente de si se inoculó o no con un cultivo iniciador de la

fermentación, unas $2,64 \pm 0,24$ unidades logarítmicas, sin embargo, estos valores aumentaron significativamente durante los primeros 7 días de almacenamiento en los embutidos sin cultivo iniciador, mientras que no se dio mayor crecimiento en aquellos embutidos inoculados con cultivos iniciadores esto se debe a la bajada rápida de pH en aquellas muestras inoculadas. En este mismo artículo se dieron recuentos de enterobacterias por debajo de 1 unidad logarítmica independientemente del tratamiento, mientras que en enterococos no se dio crecimiento en aquellas muestras inoculadas con cultivo iniciador y tratadas por altas presiones, esto se debe a su competencia frente a las BAL del cultivo iniciador, más que a la bajada de pH, debido a que los enterococos son altamente resistentes a valores extremos de pH. Por otra parte, en el noveno artículo no se detectó crecimiento en aquellas muestras tratadas por altas presiones.

Las poblaciones de *Salmonella* en el sexto artículo disminuyeron significativamente tanto en embutidos tratados por altas presiones como en no tratados, aunque después de la presurización el efecto no es visible hasta que la deshidratación alcanza un mayor grado, esto se debe a que las células dañadas subletalmente se vuelven más sensibles cuando la actividad del agua es menor. Desde el día 6 hasta el final de la maduración, los recuentos de *Salmonella* en las muestras tratadas fueron más bajos que en las no tratadas, produciéndose en las primeras una reducción de 2 unidades logarítmicas. En el séptimo artículo disminuyeron los recuentos de *Salmonella* durante la maduración no observándose diferencias significativas entre lotes, en otros estudios se demostró que una disminución rápida de pH a un valor de 5,3 era importante para la inhibición de *Salmonella* cuando los productos se dejan fermentar a una temperatura de 18°C, en este estudio la fermentación ocurrió a 18°C, pero el pH mínimo de 5,3 no se alcanzó en todos los lotes, sin embargo, debido al ambiente ácido y valores de A_w menores a 0,93 fueron capaces de reducir los recuentos de *Salmonella*. En el día 28 de su almacenamiento el recuento en placa era de menos de 10 unidades logarítmicas en todos los lotes, siendo las muestras presurizadas las únicas en las que no se detectó crecimiento.

Para las poblaciones de *L. monocytogenes* en el quinto artículo se obtuvo la máxima reducción de su viabilidad con la combinación de 550 MPa durante 10 minutos y una A_w igual a 0,90. Esta combinación redujo 4,31 unidades logarítmicas de *L. monocytogenes* en el chorizo. Este artículo también propuso que las presiones iguales

o inferiores a 400 MPa no dieron lugar a niveles de inactivación significativos como también demostraron Valdramidis *et al* en 2015 y Bover-Cid *et al* en 2011. En general, la letalidad del tratamiento aumentaba si aumentaba el tiempo, la presión y el valor de A_w , cuando este último es bajo, aumenta la barorresistencia de *L. monocytogenes* como ya demostraron varios autores. Se encontraron valores similares de este estudio por otros autores como Bover-Cid *et al* en 2011 y Morales *et al* en 2006. En el sexto artículo el crecimiento de *L. monocytogenes* disminuyó en fuet tratado por altas presiones desde las 2,26 unidades logarítmicas iniciales a 1,42 unidades logarítmicas en el fin de la maduración debido al descenso del pH, este hecho refleja que la adición de nitrato y nitrito en fuet influyó en la supervivencia durante la fermentación de *L. monocytogenes*, mientras que no se detectó efectos sobre el chorizo, esto se debe a que in vitro los enterococos aislados también en chorizo mostraron efectos antilisteriales contra *L. monocytogenes*, mientras que los enterococos de fuet no presentaban estas características, este hecho ha sido verificado por varios autores. También se observó una rápida recuperación en los recuentos de *L. monocytogenes* después de la presurización, desde el día 1 al 6, dichos recuentos aumentaron en 0,9 y 1,8 unidades logarítmicas en fuet y chorizo respectivamente, este hecho fue documentado en otros estudios por diferentes autores. Este hecho indica que deberían de emplearse valores mayores de presión para eliminar estas bacterias, o bien, se puede seguir una conclusión interesante de este artículo como es añadir un cultivo iniciador productor de bacteriocina se impediría la inactivación de las BAL por altas presiones y así se mejoraría la reducción de *L. monocytogenes*. En el séptimo artículo no se observó crecimiento de *L. monocytogenes* en las muestras con cultivos iniciadores y si en las muestras sin cultivo iniciador durante el proceso de maduración. El efecto de disminución inicial de pH fue fundamental para que se evitara el crecimiento de *L. monocytogenes*. Después de la maduración los embutidos se almacenaron 28 días a 20°C, los recuentos de *L. monocytogenes* tras estos 28 días no fueron significativamente diferentes a los niveles iniciales excepto en los lotes de chorizo sin cultivo iniciador tratadas por altas presiones, en la que hubo una reducción de 0,9 unidades logarítmicas. En el octavo artículo, en los diferentes estudios que lo componen usaron unas determinadas condiciones de presión, tiempo que se emplea esta presión y a la temperatura que se emplea, además de si la técnica se combinó con otras y el grado de inactivación que produjeron, entre ellos destaco el propuesto por Jofrè *et al* en 2010 para fuet, en el que se empleó una presión de 400 MPa

combinada con enterocina A y B, obteniéndose al final de la maduración un recuento de menos de 1 unidad logarítmica de *L. monocytogenes*; y el propuesto por Possas *et al* en 2019 para chorizo, en el que se empleó una presión de 600 MPa durante 10-12 minutos a una temperatura de 18°C en el que se obtuvo un recuento de menos de 1 unidad logarítmica en el 100% de los chorizos en el momento de su consumo.

En lo que respecta al color, en el sexto artículo, las muestras de chorizo tratadas por altas presiones mostraron una decoloración del color rojo que presentaban las muestras sin tratar hacia una tonalidad rosa, esta decoloración también fue reportada por Carlez *et al* en 1995, esto se debe a la desnaturalización de la globina y/o a la liberación o desplazamiento del grupo hemo, esta decoloración fue confirmada con el aumento del valor L (brillo) que ocurre debido a la pérdida de un pigmento activo o bien por la coagulación de proteínas, lo que ha provocado un cambio en la proteína y en su superficie, esto también fue confirmado por Carlez *et al* en 1995 en carne de res picada; mientras que el valor a (rojizo) no se vio alterado, los valores de b (amarillento) tampoco cambiaron en chorizo, pero si cambiaron en las muestras de fuet, ya que estos disminuyeron significativamente, esto se asocia con cambios químicos de la mioglobina, habiendo artículos que corroboran y contradicen estos resultados. En el undécimo artículo, el color de los embutidos semisecos tratados mediante altas presiones se volvieron significativamente más claro que los controles.

En lo que respecta al análisis sensorial, en el noveno artículo las muestras tratadas por altas presiones tuvieron peores valoraciones de color, aroma, sabor, textura y aspecto general que las muestras sin tratar tanto en salami como en morr. Estas diferencias fueron menos evidentes después de 6 semanas de maduración, también la congelación de la materia prima produjo una evidente mejora en la calidad final de las características sensoriales como se ha demostrado para carpaccio o en el estudio de Fernández *et al* de 2007 en el que se determinó que el tratamiento de altas presiones a bajas temperaturas en carne de vacuno congelada evita la degradación de color. Mientras que, en el undécimo artículo, el tratamiento de altas presiones no ocasionó diferencias significativas en el olor, sabor ni impresión general en ninguno de los embutidos. La textura si parecía ser la más sensible a las altas presiones, además el tratamiento de presurización causó cambios significativos sobre la firmeza en las muestras de embutidos secos y semisecos suavizándolos.

En lo que respecta a la actividad del agua, A_w , en el sexto artículo disminuyó durante todo el proceso de secado, desde un 0,98 inicial hasta valores de 0,83 a 0,86; siendo esta disminución la esperada para este tipo de producto como se observa en el estudio de Lizaso *et al* de 1999, no encontrándose diferencias significativas entre embutidos tratados y embutidos sin tratar, por lo tanto, el tratamiento de altas presiones no afectó a la evolución normal de A_w durante la maduración del embutido. En el artículo séptimo los resultados fueron idénticos al artículo sexto, no encontrándose diferencias entre ninguno de los lotes. Mientras que en el noveno artículo la A_w si varió entre los productos tratados siendo la A_w final en salami igual a 0,87 y en morr igual a 0,89 y en las no tratadas la A_w final en salami igual a 0,92 y en morr igual a 0,91.

En lo que respecta al pH, en el artículo sexto el pH de las muestras no tratadas disminuyó desde un pH inicial de 5,7-5,8 hasta un pH final de 5,3. El tratamiento por altas presiones tuvo un efecto significativo en el pH de los embutidos. Mientras que las muestras tratadas con 300 MPa aumentaron su pH en 0,15 en chorizo y 0,13 en fuet, según varios autores, este aumento de pH se debe a la desnaturalización de las proteínas. En el séptimo artículo el pH disminuyó durante la primera semana, pero luego aumentó en las muestras inoculadas con cultivo iniciador. Todas las muestras, tanto de chorizo como de fuet como todos los lotes con y sin cultivos iniciadores mostraron diferencias significativas respecto a los valores mínimos de pH. En el noveno artículo el pH final no se vio afectado por el tratamiento de altas presiones independientemente de cuales fueran las condiciones de la materia prima. En un estudio de Omer *et al* de 2010, se encontró también que no había diferencias entre las medidas de pH final de morr y la de salami y en otro estudio se encontró que el pH final de morr fue más alto. En el décimo artículo, las muestras control sufrieron una disminución de su pH desde 6,20 en el día 9 hasta un pH cercano a 5 en el día 21, mientras que en las muestras tratadas por altas presiones no se observó ninguna modificación en su pH durante los primeros 28 días, esto se debe a la proliferación de BAL, las cuales quedaron inactivadas en las muestras tratadas y no en las control.

En lo que respecta al rendimiento medido por la pérdida de peso, en el noveno artículo se muestra como tuvo relación directa con el A_w variando entre los productos tratados por altas presiones en la que la pérdida de peso fue mayor mientras que en los no tratados la pérdida de peso final fue menor. Debido a que una presión superior a 200-

400 MPa provoca la desnaturalización de las proteínas miofibrilares lo que conlleva a que la capacidad de retención de agua fuese menor.

En lo que respecta al efecto inhibitor frente a aminas biógenas, en el séptimo artículo se demostró el efecto inhibitor del cultivo iniciador frente a aminas biógenas ya que se observó cómo en chorizo sin cultivo iniciador los valores de tiramina, putrescina y cadaverina eran altos (40,20;19,23 y 62,42 mg/kg respectivamente) y en chorizo con cultivo iniciador eran más bajos (10, <5 y <5 mg/kg respectivamente). En fuet al ser el peso seco de aminas biógenas bajo en ambas muestras, no existe diferencia significativa entre el fuet sin y con cultivo iniciador. La formación de cadaverina y putrescina se han asociado con elevados recuentos de enterobacterias, mientras que la tiramina se asocia a altos recuentos de BAL, principalmente de enterococos. Al final de la maduración se observaron mayores recuentos de enterococos en chorizo sin cultivo iniciador que en fuet sin cultivo iniciador, esto explicaría la mayor cantidad de cadaverina y putrescina encontrada en el chorizo, por otro lado, no se observaron diferencias en los recuentos de BAL en fuet y en chorizo. La adición del cultivo iniciador sin la actividad descarboxilasa de aminoácidos, era incapaz de producir aminas biógenas lo que provocó que estas no se acumularan en la maduración del chorizo, esto fue también provado por otros autores como Maijala *et al* en 1995 y Bover-Cid *et al* en 2001. Mientras que, en el undécimo artículo, también se observó como el contenido en aminas biógenas disminuyó de forma continua durante las 4 semanas de almacenamiento y en especial en aquellas muestras tratadas por altas presiones. Aunque se observó una mayor concentración de tiramina en las muestras tratadas, en especial en las muestras de embutidos extra gruesos, aunque esta se redujo a las 4 semanas. El tratamiento con altas presiones redujo ligeramente el contenido de espermidina en la muestra si lo comparamos con el control; en putrescina, el tratamiento tuvo un efecto de disminución pronunciado; y en cadaverina, tras el tratamiento los niveles de esta bajaron ligeramente, pero durante el almacenamiento del embutido extra grueso se observó un aumento de 4 y 5 veces en el control y muestras tratadas respectivamente durante las cuatro semanas de almacenamiento. El tratamiento con altas presiones en la mayoría de los casos mostró un efecto inhibitor sobre cadaverina y putrescina, mientras que mostró una activación en la formación de tiramina y espermina comparado con los controles. Este resultado sugiere que el tratamiento de presurización no reduce las BAL, y por eso se activa la

producción de tiramina y espermina, mientras que si activan a las bacterias productoras de cadaverina y putrescina. El estudio de Latorre-Moratalla *et al* de 2007 se obtuvieron resultados similares a este.

6. CONCLUSIONES.

Las conclusiones a las que podemos llegar después de este trabajo son:

1. Los tratamientos de altas presiones reducen considerablemente la carga microbiológica de las muestras tanto en salchichas como en embutidos, sin embargo, esto puede ser contraproducente ya que al eliminar ciertas bacterias como las bacterias ácido lácticas que tienen funciones protectoras en lo que se refiere a higiene y seguridad alimentaria, puede provocar que ciertas bacterias que hayan sobrevivido al tratamiento de presurización proliferen y deterioren el alimento en cuestión como se comenta en el sexto artículo.
2. Los tratamientos de altas presiones incrementan el tiempo que necesitan las bacterias para proliferar y alcanzar el recuento que tenían antes de dicho tratamiento.
3. Los tratamientos de altas presiones influyen:
 - En la coloración de la muestra de salchichas según el cuarto artículo, aunque en el tercero se dice que no hay cambio de coloración en ninguna de sus muestras; y de embutidos según el sexto y undécimo artículo.
 - En el análisis sensorial de salchichas y embutidos se prefirieron las salchichas presurizadas, sin embargo, en el noveno artículo, las muestras presurizadas de salami y morr obtuvieron peor aceptación que las muestras control.
 - En la textura de salchichas ambos estudios se contradicen en lo que respecta a los valores y en especial al de la cohesión.
 - En el pH de embutidos se observó como el pH es mayor en muestras presurizadas, esto se debe a la eliminación de bacterias como las ácido lácticas.
 - En el rendimiento medido con la pérdida de peso en salchichas se observó cómo las muestras presurizadas eran más eficientes ya que perdían menor peso mientras que en embutidos fue, al contrario, se perdió mayor peso en las muestras presurizadas que en las control.
 - En el efecto inhibidor frente a aminos biógenos, ya que en ambos estudios se observa por lo general una cantidad menor en peso seco de estas aminos biógenos en las muestras presurizadas.

4. La temperatura de almacenaje en salchichas influye en la velocidad de proliferación de los microorganismos, mientras que la forma de envasar o empaquetar no tuvo efectos sobre el recuento microbiológico.
5. A diferencia del cocido, el tratamiento de presurización retrasa más tiempo la proliferación de los microorganismos que sobreviven al tratamiento.
6. El proceso de secado de los embutidos fue importante por sí mismo para la disminución de los microorganismos en los embutidos al provocar un descenso de A_w .
7. El tratamiento de altas presiones combinado con el inóculo de cultivos iniciadores de la fermentación provocó un descenso en el recuento de los microorganismos y aminas biógenas presentes en las muestras.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Abd El Tawab, A. A., El-Hofy, F. I., Khater, D. F., & AL-Baaly, Y. M. (2015). Molecular studies on toxigenic strains of bacillus cereus isolated from some meat products. *Benha Veterinary Medical Journal*, 29(1), 129-133
- Agbaje, M., Begum, R. H., Oyekunle, M. A., Ojo, O. E., & Adenubi, O. T. (2011). Evolution of *Salmonella* nomenclature: a critical note. *Folia microbiologica*, 56(6), 497-503.
- Almasaudi, S. B. (2018). Acinetobacter spp. as nosocomial pathogens: Epidemiology and resistance features. *Saudi journal of biological sciences*, 25(3), 586-596.
- Amit, S. K., Uddin, M. M., Rahman, R., Islam, S. R., & Khan, M. S. (2017). A review on mechanisms and commercial aspects of food preservation and processing. *Agriculture & Food Security*, 6(1), 51.
- Ananou, S., Garriga, M., Jofré, A., Aymerich, T., Gálvez, A., Maqueda, M., ... & Valdivia, E. (2010). Combined effect of enterocin AS-48 and high hydrostatic pressure to control food-borne pathogens inoculated in low acid fermented sausages. *Meat Science*, 84(4), 594-600.
- Andrés Martín, V. (2016). *Efecto del tratamiento de altas presiones hidrostáticas y del almacenamiento sobre la seguridad y la calidad nutricional, sensorial y funcional de smoothies como alternativa a las bebidas mixtas comerciales* (Doctoral dissertation, Universidad Complutense de Madrid).
- Argudín, M. Á., Mendoza, M. C., & Rodicio, M. R. (2010). Food poisoning and *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Toxins*, 2(7), 1751-1773.
- Australian Institute of Food Safety. (30 de octubre de 2019). *Food Safety and the Different Types of Food Contamination*. Disponible en línea: <https://www.foodsafety.com.au/blog/food-safety-and-the-different-types-of-food-contamination> (consultado el 8 de febrero de 2020).
- Ávila, J. M., Beltrán, B., Cuadrado, C., Del Pozo, S., Rodríguez, M. V., & Ruiz, E. (2009). *La alimentación española: Características nutricionales de los principales alimentos de nuestra dieta*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Fundación española de la nutrición: España, 33-34;413-416

- Ayani, H. A., Omar, N. B., López, R. L., & Gálvez, A. (2008). La doble faceta del género "*enterococcus*", y su importancia en alimentos. *Anales de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental*, (21), 65-84.
- Badui Dergal, S. (2016). *Química de los alimentos*, 481-489. México, Pearson Educación.
- Banai, M., & Corbel, M. (2010). Taxonomy of *Brucella*. *The open veterinary science journal*, 4(1).
- Betts, G. (2006). Other spoilage bacteria. In *Food spoilage microorganisms*, 668-693. Woodhead Publishing.
- Bottone, E. J. (2010). *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen. *Clinical microbiology reviews*, 23(2), 382-398.
- Bover-Cid, S., Belletti, N., Garriga, M., & Aymerich, T. (2011). Model for *Listeria monocytogenes* inactivation on dry-cured ham by high hydrostatic pressure processing. *Food Microbiology*, 28(4), 804-809.
- Bover-Cid, S., Izquierdo-Pulido, M., & Vidal-Carou, M. C. (2001). Effect of the interaction between a low tyramine-producing *Lactobacillus* and proteolytic *staphylococci* on biogenic amine production during ripening and storage of dry sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 65(1-2), 113-123.
- Burt, S. (2004). *Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – A review*. *International Journal of Food Microbiology* 94, 223–253
- Byrd-Bredbenner, C., Berning, J., Martin-Biggers, J., & Quick, V. (2013). Food safety in home kitchens: a synthesis of the literature. *International journal of environmental research and public health*, 10(9), 4060-4085.
- Camejo, A., Carvalho, F., Reis, O., Leitão, E., Sousa, S., & Cabanes, D. (2011). The arsenal of virulence factors deployed by *Listeria monocytogenes* to promote its cell infection cycle. *Virulence*, 2(5), 379-394.
- Carballo, J., & Cofrades, S. (2017). Aplicación industrial de la alta presión en la industria cárnica.
- Carlez, A., Rosec, J. P., Richard, N., & Cheftel, J. C. (1994). Bacterial growth during chilled storage of pressure-treated minced meat. *LWT-Food Science and Technology*, 27(1), 48-54.

- Carlez, A., Veciana-Nogues, T., & Cheftel, J. C. (1995). Changes in colour and myoglobin of minced beef meat due to high pressure processing. *LWT-Food Science and Technology*, 28(5), 528-538.
- Casp Vanaclocha, A., & Abril Requena, J. (2003). Procesos de conservación de alimentos. *Tecnología de alimentos*.
- Castro, L. F., & Hollyer, J. R. (2014). *A Farmer's Guide to Biological, Chemical, and Physical Food Adulteration*.
- Cervantes-García, E., García-González, R., & Salazar-Schettino, P. M. (2014). Características generales del *Staphylococcus aureus*. *Revista latinoamericana de patología clínica y medicina de laboratorio*, 61(1), 28-40.
- Codex Alimentarius Commission. (1997). Hazard analysis and critical control point (HACCP) system and guidelines for its application. Annex to CAC/RCP 1-1969, Rev. 3. *Food and Agriculture Organization*, Rome.
- Colagiorgi, A., Bruini, I., Di Ciccio, P. A., Zanardi, E., Ghidini, S., & Ianieri, A. (2017). *Listeria monocytogenes* biofilms in the wonderland of food industry. *Pathogens*, 6(3), 41.
- Dave, D., & Ghaly, A. E. (2011). Meat spoilage mechanisms and preservation techniques: a critical review. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 6(4), 486-510
- Davidson, P. M., Taylor, T. M., & Schmidt, S. E. (2013). Chemical preservatives and natural antimicrobial compounds. In *Food microbiology* (pp. 765-801). American Society of Microbiology.
- Davin-Regli, A., Lavigne, J. P., & Pagès, J. M. (2019). Enterobacter spp.: Update on taxonomy, clinical aspects, and emerging antimicrobial resistance. *Clinical microbiology reviews*, 32(4).
- Decreto 2484/1967, de 21 de septiembre, por el que se aprueba el texto del Código Alimentario Español. BOE, 248, de 17 de octubre de 1967.
- De Vuyst, L., & Leroy, F. (2007). Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. *Journal of molecular microbiology and biotechnology*, 13(4), 194-199.
- Di Stefano, V., & Avellone, G. (2014). Food contaminants. *J Food Studies*, 3, 88-102.

- Dib, J. R., Liebl, W., Wagenknecht, M., Farías, M. E., & Meinhardt, F. (2013). Extrachromosomal genetic elements in *Micrococcus*. *Applied microbiology and biotechnology*, 97(1), 63-75.
- Dicks, L. M., Dreyer, L., Smith, C., & Van Staden, A. D. (2018). A review: the fate of bacteriocins in the human gastro-intestinal tract: do they cross the gut–blood barrier? *Frontiers in microbiology*, 9, 2297
- Diez, A. M., Urso, R., Rantsiou, K., Jaime, I., Rovira, J., & Cocolin, L. (2008). Spoilage of blood sausages morcilla de Burgos treated with high hydrostatic pressure. *International Journal of Food Microbiology*, 123(3), 246-253.
- Donovan, S. (2015). Listeriosis: a rare but deadly disease. *Clinical Microbiology Newsletter*, 37(17), 135-140.
- Dorny, P., Praet, N., Deckers, N., & Gabriël, S. (2009). Emerging food-borne parasites. *Veterinary parasitology*, 163(3), 196-206.
- Dougan, G., John, V., Palmer, S., & Mastroeni, P. (2011). Immunity to salmonellosis. *Immunological reviews*, 240(1), 196-210.
- Doulgeraki, A. I., Ercolini, D., Villani, F., & Nychas, G. J. E. (2012). Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *International journal of food microbiology*, 157(2), 130-141.
- Drzewiecka, D. (2016). Significance and roles of *Proteus* spp. bacteria in natural environments. *Microbial ecology*, 72(4), 741-758.
- Enisoglu-Atalay, V., Atasever-Arslan, B., Yaman, B., Cebecioglu, R., Kul, A., Ozilhan, S., ... & Catal, T. (2018). Chemical and molecular characterization of metabolites from *Flavobacterium* sp. *PloS one*, 13(10).
- Erkmen, O., & Bozoglu, T. F. (2016). Types of microorganisms in foods. *Food Microbiology: Principles Into Practice*, 2, 35-80.
- Fàbrega, A., & Vila, J. (2012). *Yersinia enterocolitica*: pathogenesis, virulence and antimicrobial resistance. *Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica*, 30(1), 24-32.
- Farkas, J. (2007). Physical methods of food preservation. In *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, Third Edition*. 685-712. American Society of Microbiology.
- Fernandez, P. P., Sanz, P. D., Molina-Garcia, A. D., Otero, L., Guignon, B., & Vaudagna, S. R. (2007). Conventional freezing plus high pressure-low

temperature treatment: Physical properties, microbial quality and storage stability of beef meat. *Meat Science*, 77, 616-625.

- Gallardo, C., García-García, R., & Welti-Chanes, J. (2015). Innovation in the development and improvement of meat products: high hydrostatic pressures. *Nacameh*, 9(1), 19-53.
- Ganguly, S., Mukhopadhyay, S. K., & Biswas, S. (2012). Preservation of food items by irradiation process. *International Journal of Chemical and Biochemical Sciences*, 1(2012), 11-13.
- Garcia, P., Martinez, B., Obeso, J. M., & Rodriguez, A. (2008). Bacteriophages and their application in food safety. *Letters in applied microbiology*, 47(6), 479-485.
- Garriga, M., Marcos, B., Martin, B., Veciana-Nogues, M. T., Bover-Cid, S., Hugas, M., & Aymerich, T. (2005). Starter cultures and high-pressure processing to improve the hygiene and safety of slightly fermented sausages. *Journal of food protection*, 68(11), 2341-2348.
- Gillespie, S., & Hawkey, P. M. (Eds.). (2006). *Principles and practice of clinical bacteriology*. John Wiley & Sons.
- Götz, F., Bannerman, T., & Schleifer, K. H. (2006). The genera *staphylococcus* and *macrococcus*. *Prokaryotes*, 4, 5-75.
- Griffiths, M. W., & Schraft, H. (2017). *Bacillus cereus* food poisoning. In *Foodborne diseases*, 395-405. Academic Press
- Grimont, F. y Grimont, PA (2015). *Serratia*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-22
- Hamad, S. H. (2012). 20 Factors Affecting the Growth of Microorganisms in Food. *Progress in food preservation*, 247-276. Wiley-Blackwell.
- Hammes, W. P., & Hertel, C. (2009). Genus I. *Lactobacillus* Beijerinck 1901, 212AL. *Bergeys Manual of Systematic Bacteriology*, 3, 465-511.
- Heldman, D. R. (2013). Food preservation process design. In *Advances in Food Process Engineering Research and Applications*, 489-497. Springer, Boston, MA.
- Heredia, N., Aviña, J. E. D. J. D., Soto, L. S., & García, S. (2014). Productos cárnicos: principales patógenos y estrategias no térmicas de control. *Nacameh*, 8(1), 20-42.

- Holt, H. M., Gahrn-Hansen, B., & Bruun, B. (2005). *Shewanella algae* and *Shewanella putrefaciens*: clinical and microbiological characteristics. *Clinical microbiology and infection*, 11(5), 347-352.
- Horcada Ibáñez, A. L., & Polvillo Polo, O. (2010). Conceptos básicos sobre la carne. *La Producción de carne en Andalucía*.
- Hussain, M. A. (2016). Food contamination: major challenges of the future.
- Iulietto, M. F., Sechi, P., Borgogni, E., & Cenci-Goga, B. T. (2015). Meat spoilage: a critical review of a neglected alteration due to ropy slime producing bacteria. *Italian Journal of Animal Science*, 14(3), 640-665.
- Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2010). The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity, and infection. *Clinical microbiology reviews*, 23(1), 35-73.
- Jeevaratnam, K., Jamuna, M., & Bawa, A. S. (2005). *Biological preservation of foods—Bacteriocins of lactic acid bacteria*.
- Kaakoush, N. O., Castaño-Rodríguez, N., Mitchell, H. M., & Man, S. M. (2015). Global epidemiology of *Campylobacter* infection. *Clinical microbiology reviews*, 28(3), 687-720.
- Kilian, M. (2007). *Streptococcus* and *enterococcus*. *Medical Microbiology*, 17, 178-93.
- Kjos, M., Nes, I. F., & Diep, D. B. (2011). Mechanisms of resistance to bacteriocins targeting the mannose phosphotransferase system. *Appl. Environ. Microbiol.*, 77(10), 3335-3342.
- Kolodziejek, A. M., Hovde, C. J., & Minnich, S. A. (2012). *Yersinia pestis* Ail: multiple roles of a single protein. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 2, 103.
- Kumar, Y., Patel, K. K., & Kumar, V. (2015). Pulsed electric field processing in food technology. *International Journal of Engineering Studies and Technical Approach*, 1(2), 6-17.
- Labbe, R. G., & Juneja, V. K. (2017). *Clostridium perfringens*. In *Foodborne diseases*, 235-242.
- Langreo Navarro, A. (2008). El sistema de producción de carne en España. *Estudios sociales (Hermosillo, Son.)*, 16(31), 39-80.

- Lara, D. M. (2008). Residuos químicos en alimentos de origen animal: problemas y desafíos para la inocuidad alimentaria en Colombia. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 9(1), 124-135.
- Latorre-Moratalla, M. L., Bover-Cid, S., Aymerich, T., Marcos, B., Vidal-Carou, M. C., & Garriga, M. (2007). Aminogenesis control in fermented sausages manufactured with pressurized meat batter and starter culture. *Meat Science*, 75(3), 460-469.
- Leisner, J. J., Laursen, B. G., Prévost, H., Drider, D., & Dalgaard, P. (2007). *Carnobacterium*: positive and negative effects in the environment and in foods. *FEMS microbiology reviews*, 31(5), 592-613.
- Lerasle, M., Federighi, M., Simonin, H., Anthoine, V., Rezé, S., Chéret, R., & Guillou, S. (2014). Combined use of modified atmosphere packaging and high pressure to extend the shelf-life of raw poultry sausage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 23, 54-60.
- Li, J., Adams, V., Bannam, T. L., Miyamoto, K., Garcia, J. P., Uzal, F. A., ... & McClane, B. A. (2013). Toxin plasmids of *Clostridium perfringens*. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 77(2), 208-233.
- Lizaso, G., Chasco, J., & Beriain, M. J. (1999). Microbiological and biochemical changes during ripening of salchichón, a Spanish dry cured sausage. *Food Microbiology*, 16(3), 219-228.
- Ma, F., Chen, C. G., Sun, G. J., Wang, W., Fang, H. M., & Han, Z. (2012). Effects of high pressure and CaCl₂ on properties of salt-soluble meat protein gels containing locust vean gum. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 14, 31–37
- Maijala, R., Eerola, S., Lievonen, S., Hill, P., & Hirvi, T. (1995). Formation of biogenic amines during ripening of dry sausages as affected by starter culture and thawing time of raw materials. *Journal of Food Science*, 60(6), 1187-1190.
- Marcos, B., Aymerich, T., & Garriga, M. (2005). Evaluation of High Pressure Processing as an Additional Hurdle to Control *Listeria monocytogenes* and *Salmonella enterica* in Low-Acid Fermented Sausages. *Journal of food science*, 70(7), m339-m344.
- Mañas, P., & Pagán, R., 2005. Microbial inactivation by new technologies of food preservation: a review. *Journal of Applied Microbiology* 98, 1387–1399.

- Marin, S., Ramos, A. J., Cano-Sancho, G., & Sanchis, V. (2013). Mycotoxins: Occurrence, toxicology, and exposure assessment. *Food and chemical toxicology*, 60, 218-237.
- Marriott, N. G., & Gravani, R. B. (2006). The Relationship of Microorganisms to Sanitation. *Principles of Food Sanitation*, 25-69.
- Marteyn, B., Gazi, A., & Sansonetti, P. (2012). *Shigella*: a model of virulence regulation in vivo. *Gut microbes*, 3(2), 104-120.
- Maughan, H., & Van der Auwera, G. (2011). *Bacillus* taxonomy in the genomic era finds phenotypes to be essential though often misleading. *Infection, Genetics and Evolution*, 11(5), 789-797.
- Meier-Kolthoff, J. P., Hahnke, R. L., Petersen, J., Scheuner, C., Michael, V., Fiebig, A., ... & Chertkov, O. (2014). Complete genome sequence of DSM 30083 T, the type strain (U5/41 T) of *Escherichia coli*, and a proposal for delineating subspecies in microbial taxonomy. *Standards in genomic sciences*, 9(1), 2.
- Meloni, D. (2019). High-Hydrostatic-Pressure (HHP) Processing Technology as a Novel Control Method for *Listeria monocytogenes* Occurrence in Mediterranean-Style Dry-Fermented Sausages. *Foods*, 8(12), 672.
- Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. (2019). *Informe del consumo alimentario en España 2018*. Madrid: Secretaría General Técnica (pp. 150-180)
- Mohan, A. (2014). Basics of sausage making, Formulation, Processing and safety. UGA Extension Bulletin, 1437, 5-8.
- Montville, T. J., & Chikindas, M. L. (2013). Biological control of foodborne bacteria. In *Food Microbiology*, 803-822. American Society of Microbiology.
- Mor-Mur, M., & Yuste, J. (2003). High pressure processing applied to cooked sausage manufacture: physical properties and sensory analysis. *Meat science*, 65(3), 1187-1191.
- Moreno, L. Z., Paixao, R., Gobbi, D. D., Raimundo, D. C., Ferreira, T. P., Hofer, E., ... & Moreno, A. M. (2012). Characterization of atypical *Listeria innocua* isolated from swine slaughterhouses and meat markets. *Research in microbiology*, 163(4), 268-271.

- Mota, M. J., Lopes, R. P., Delgadillo, I., & Saraiva, J. A. (2013). Microorganisms under high pressure—Adaptation, growth and biotechnological potential. *Biotechnology advances*, 31(8), 1426-1434.
- Mújica-Paz, H., Valdez-Fragoso, A., Samson, C. T., Welti-Chanes, J., & Torres, J. A. (2011). High-pressure processing technologies for the pasteurization and sterilization of foods. *Food and Bioprocess Technology*, 4(6), 969-985.
- Nataro, J. P., Bopp, C. A., Fields, P. I., Kaper, J. B., & Strockbine, N. A. (2011). *Escherichia*, *Shigella*, and *Salmonella*. In *Manual of Clinical Microbiology*, 10th Edition, 603-626. American Society of Microbiology.
- Ngulukun, S. S. (2017). Taxonomy and physiological characteristics of *Campylobacter* spp. In *Campylobacter*, 41-60. Academic Press.
- Nigam, P.K., & Nigam, A. (2010). Toxina botulínica. *Indian journal of dermatology*, 55 (1), 8–14.
- Octavia, S., & Lan, R. (2014). The family *enterobacteriaceae*. *The Prokaryotes*, 9, 223-286.
- Omer, M. K., Alvseike, O., Holck, A., Axelsson, L., Prieto, M., Skjerve, E., & Heir, E. (2010). Application of high pressure processing to reduce verotoxigenic *E. coli* in two types of dry-fermented sausage. *Meat science*, 86(4), 1005-1009.
- Omer, M. K., Prieto, B., Rendueles, E., Alvarez-Ordoñez, A., Lunde, K., Alvseike, O., & Prieto, M. (2015). Microbiological, physicochemical and sensory parameters of dry fermented sausages manufactured with high hydrostatic pressure processed raw meat. *Meat science*, 108, 115-119.
- Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. FAO. Fundación Internacional Carrefour. (2007). *Buenas prácticas para la industria de la carne. FAO Producción y sanidad animal*.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y Organización Panamericana de la Salud / Organización Mundial de la Salud. (2016). *Manual para manipuladores de alimentos. Instructor*. Washington, D.C
- Organización Mundial de la Salud. (4 de junio de 2019) *Inocuidad de los alimentos*. Disponible en línea: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/food-safety> (consultado el 5 de febrero de 2020).

- Orsi, R. H., & Wiedmann, M. (2016). Characteristics and distribution of *Listeria* spp., including *Listeria* species newly described since 2009. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 100(12), 5273-5287.
- Oxford Brookes University (2011). Cross contamination. Disponible en línea: <https://radar.brookes.ac.uk/radar/file/61298edb-896b-ec62-fcac-56b2727f6880/1/Cross-Contamination%20AFedit%20200811.pdf> (consultado el 11 de marzo de 2020).
- Palleroni, N. J. (2008). The genus *Pseudomonas*. In *Practical Handbook of Microbiology*, 251-262. CRC Press.
- Parker, J. L., & Shaw, J. G. (2011). *Aeromonas* spp. clinical microbiology and disease. *Journal of Infection*, 62(2), 109-118.
- Peck, M. W., Stringer, S. C., & Carter, A. T. (2011). *Clostridium botulinum* in the post-genomic era. *Food microbiology*, 28(2), 183-191.
- Penner, J. L. (2015). *Proteus*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-17.
- Pennington, H. (2010). *Escherichia coli* O157. *The Lancet*, 376(9750), 1428-1435.
- Pikuta, E. V., & Hoover, R. B. (2014). The genus *Carnobacterium*. *Lactic Acid Bacteria: Biodiversity and Taxonomy*, eds EV Pikuta and RB Hoover (Chichester: John Wiley & Sons, Ltd.), 109-123.
- Podolak, R., Enache, E., Stone, W., Black, D. G., & Elliott, P. H. (2010). Sources and risk factors for contamination, survival, persistence, and heat resistance of *Salmonella* in low-moisture foods. *Journal of food protection*, 73(10), 1919-1936.
- Possas, A., Valdramidis, V., García-Gimeno, R. M., & Pérez-Rodríguez, F. (2019). High hydrostatic pressure processing of sliced fermented sausages: A quantitative exposure assessment for *Listeria monocytogenes*. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 52, 406-419.
- Pradas Baena, I., & Moreno Rojas, J.M. (2016) *Aplicación de Altas Presiones Hidrostáticas en la Industria Alimentaria*, 1-18. Consejería de Agricultura, Pesca y Desarrollo Rural, Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera. Córdoba.

- Prescott, J. F., MacInnes, J. I., & Wu, A. K. (2016). Taxonomic relationships among the clostridia. *Clostridial Diseases of Animals*. Ames, IA: Wiley-Blackwell, 2016, 3-5.
- Prescott, J. F., Uzal, F. A., Songer, J. G., & Popoff, M. R. (2016). Brief description of animal pathogenic Clostridia. *Clostridial Diseases of Animals*, Ames, IA: Wiley-Blackwell, 2016, 13-19.
- Rahman, M. S. (2007). *Food preservation: overview*. In *Handbook of food preservation, Second Edition*, 21-36. CRC Press.
- Rakin, A., Garzetti, D., Bouabe, H., & Sprague, L. D. (2015). *Yersinia enterocolitica*. In *Molecular Medical Microbiology*, 1319-1344. Academic Press.
- Rasmussen, M. (2013). Aerococci and aerococcal infections. *Journal of Infection*, 66(6), 467-474.
- Rastogi, N. K., Raghavaro, K. S. M. S., Balasubramaniam, V. M. M., Niranjan, K., & Knorr, D. (2007). Opportunities and challenges in high pressure processing of foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47, 69-112.
- Real Decreto 664/1997 de 12 de mayo, sobre protección de los trabajadores contra los riesgos relacionados con la exposición a agentes biológicos durante el trabajo. BOE,124, 24 de mayo de 1997.
- Real Decreto 474/2014, de 13 de junio, por el que se aprueba la norma de calidad de derivados cárnicos. BOE, 147, de 18 de junio de 2014.
- Redmond, E. C., & Griffith, C. J. (2009). The importance of hygiene in the domestic kitchen: Implications for preparation and storage of food and infant formula. *Perspectives in Public Health*, 129(2), 69–76.
- Rodríguez, L. D., Díez, J. J. B., Sáez, A. C., Barón, A. M., & Ferri, E. F. R. (2010). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) en relación a los biofilms y su repercusión en la seguridad alimentaria. *Revista del Comité Científico de la AESAN*, (12), 37-61.
- Rosner, B. M., Stark, K., & Werber, D. (2010). Epidemiology of reported *Yersinia enterocolitica* infections in Germany, 2001-2008. *BMC public health*, 10(1), 337
- Rossi, L.P.R., & Almeida, R.C.D.C. (2010). Bacteriófagos para controlar las bacterias patógenas en los alimentos. *Revista do Instituto Adolfo Lutz*, 69 (2), 151-156.

- Rovira, R. F., Bermudo, F. M., Cameán, A. M., Fernández, A. C. S., Álvarez, M. D., ... & Larrañaga, M. R. M. (2011). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (AESAN) sobre contaminación vírica de los alimentos, con especial énfasis en moluscos bivalvos, y métodos de control.
- Rubio, B., Possas, A., Rincón, F., García-Gímeno, R. M., & Martínez, B. (2018). Model for *Listeria monocytogenes* inactivation by high hydrostatic pressure processing in Spanish chorizo sausage. *Food microbiology*, 69, 18-24.
- Såde, E. (2011). Leuconostoc spoilage of refrigerated, packaged foods. *Academic dissertation, University of Helsinki*.
- Sakazaki, R. (2015). Hafnia. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-8.
- Sánchez, A. D. O. (2012). *Evaluación del efecto antimicrobiano de la lactoferrina bovina y sus derivados, y su combinación con altas presiones, sobre patógenos y alterantes de la carne y productos cárnicos* (Doctoral dissertation, Universidad Complutense de Madrid).
- Sanderson, K. E., & Nair, S. (2013). Taxonomy and species concepts in the genus *Salmonella*. *Salmonella in domestic animals*, 1-19.
- Santamaria, M. R. (2010). *Industria alimentaria. Tecnologías emergentes*. Univ. Politèc. de Catalunya.
- Schelin, J., Wallin-Carlquist, N., Thorup Cohn, M., Lindqvist, R., & Barker, G. C. (2011). The formation of *Staphylococcus aureus* enterotoxin in food environments and advances in risk assessment. *Virulence*, 2(6), 580-592.
- Seleem, M. N., Boyle, S. M., & Sriranganathan, N. (2010). Brucellosis: a re-emerging zoonosis. *Veterinary microbiology*, 140(3-4), 392-398.
- Shivaprasad, H. L., Methner, U., & Barrow, P. A. (2013). *Salmonella* infections in the domestic fowl. *Salmonella in domestic animals*, 2, 162-192.
- Silva, J., Leite, D., Fernandes, M., Mena, C., Gibbs, P. A., & Teixeira, P. (2011). *Campylobacter* spp. as a foodborne pathogen: a review. *Frontiers in microbiology*, 2, 200.
- Simon-Sarkadi, L., Pásztor-Huszár, K., Dalmadi, I., & Kiskó, G. (2012). Effect of high hydrostatic pressure processing on biogenic amine content of sausage during storage. *Food Research International*, 47(2), 380-384.

- Skarp, C. P. A., Hänninen, M. L., & Rautelin, H. I. K. (2016). Campylobacteriosis: the role of poultry meat. *Clinical Microbiology and Infection*, 22(2), 103-109.
- Stackebrandt, E., & Jones, D. (2006). The genus *Brochothrix*. *Prokaryotes*, 4, 477-491.
- Stanborough, T., Fegan, N., Powell, S. M., Tamplin, M., & Chandry, P. S. (2017). Insight into the genome of *Brochothrix thermosphacta*, a problematic meat spoilage bacterium. *Appl. Environ. Microbiol.*, 83(5), e02786-16.
- Sterzenbach, T., Crawford, R. W., Winter, S. E., & Bäumler, A. J. (2013). *Salmonella* virulence mechanisms and their genetic basis. *Salmonella in Domestic Animals*, 80-103.
- Stratev, D., Vashin, I., & Rusev, V. (2012). Prevalence and survival of *Aeromonas* spp. in foods-a review. *Revue Med Vet*, 163, 486-494.
- Strockbine, N. A., & Maurelli, A. T. (2015). *Shigella*. *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria*, 1-26.
- Todd, E. C. D., & Notermans, S. (2011). Surveillance of listeriosis and its causative pathogen, *Listeria monocytogenes*. *Food control*, 22(9), 1484-1490.
- Toledo-del-Árbol, M. J. (2016). *Conservación de alimentos mediante tratamientos por alta presión hidrostática*. (Doctoral dissertation, Universidad de Jaén).
- Uzal, F. A., Freedman, J. C., Shrestha, A., Theoret, J. R., Garcia, J., Awad, M. M, Adams, V., Moore, RJ, Rood, J.I., & McClane, B. A. (2014). Towards an understanding of the role of *Clostridium perfringens* toxins in human and animal disease. *Future microbiology*, 9(3), 361-377.
- Valdramidis, V. P., Patterson, M. F., & Linton, M. (2015). Modelling the recovery of *Listeria monocytogenes* in high pressure processed simulated cured meat. *Food Control*, 47, 353-358.
- Velebit, B., Radin, D., & Teodorovic, V. (2015). Transmission of common foodborne viruses by meat products. *Procedia Food Science*, 5, 304-307.
- Viñuela, E. L. (2017). Características generales de los aditivos alimentarios evaluación de su ingesta. *FAO*.

- Wang, C. Y., Huang, H. W., Hsu, C. P., & Yang, B. B. (2016). Recent advances in food processing using high hydrostatic pressure technology. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(4), 527-540.
- Xavier, M.N., Paixo, T.A., Hartigh, A.B., Tsolis, R.M., & Santos, R.L. (2010). Pathogenesis of *Brucella* spp. *The open veterinary science journal*, 4(1).
- Yang, H., Han, M., Wang, X., Han, Y., Wu, J., Xu, X., & Zhou, G. (2015). Effect of high pressure on cooking losses and functional properties of reduced-fat and reduced-salt pork sausage emulsions. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 29, 125-133.
- Yousef, A. E., & Balasubramaniam, V. M. (2013). Physical methods of food preservation. In *Food Microbiology*, 737-763. American Society of Microbiology.
- Yuste, J., Pla, R., Capellas, M., Ponce, E., & Mor-Mur, M. (2000). High-pressure processing applied to cooked sausages: bacterial populations during chilled storage. *Journal of food protection*, 63(8), 1093-1099.
- Zambrano Macías, H. O. (2011). *Estudio de Factibilidad para la implementación de una fábrica de embutidos en la Ciudad de Esmeraldas* (Bachelor's thesis, Quito: Universidad de las Américas, 2014).