

ELABORACIÓN DE SALCHICHA MIXTA DE POLLO Y CARNE PORCINA EMPLEANDO PAPAÍNA COMO TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO

PREPARATION OF MIXED CHICKEN AND PORK SAUSAGE USING PAPAIN AS AN ANTIMICROBIAL TREATMENT

Julio Andrés Palmay Paredes¹, Kevin Steven Araujo Cedeño², Carolina Alicia Paz Yépez³, Ana María Campuzano Vera⁴

{jpalmay@uagraria.edu.ec¹, kevin20araujo@hotmail.com², cpaz@uagraria.edu.ec³, acampuzano@uagraria.edu.ec⁴}

Fecha de recepción: 10/12/2024

/ Fecha de aceptación: 03/01/2025

/ Fecha de publicación: 06/01/2025

RESUMEN: La salchicha es un producto cárnico de los cuales ocupan un lugar importante en la dieta de las personas debido a su alto contenido en proteínas. El objetivo del presente proyecto fue la elaboración de una salchicha mixta con diferentes concentraciones de papaína. Para identificar la formulación con mayor efecto antimicrobiano, se realizó un recuento total de Aerobios mesófilos, se estimó el crecimiento microbiológico de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, utilizando Combase, a partir de vectores fundamentales como pH, temperatura y (aw) en las diferentes formulaciones. Así como la determinación de microorganismos patógenos como la *Salmonella*, *E. coli* y *S. aureus* con pruebas rápidas de detección. El resultado de proteína en los 4 tratamientos fue de 17.00 ± 0.86 % para el T0, 19.55 ± 0.98 para el T1, 19.43 ± 0.97 para el T2, 20.18 ± 1.01 ubicándose en la clasificación tipo I, según la norma de referencia ecuatoriana INEN 1338:2012. Los parámetros microbiológicos analizados no se encontraron dentro de los límites establecidos en la norma para la producción de productos cárnicos cocidos INEN 1338. Se concluyó que la papaína agregada a la formulación de salchicha de pollo y carne porcina no contribuyó a la disminución de la carga microbiológico.

Palabras clave: Salchicha, papaína, antimicrobiano, microbiológica

¹Facultad de Ciencias Agrarias “Dr. Jacobo Bucaram Ortiz”; Universidad Agraria del Ecuador - Ecuador, <https://orcid.org/0000-0002-7546-5211>; +5930984794451.

²Instituto de Investigación “Ing. Jacobo Bucaram Ortiz, Ph.D.”, Universidad Agraria del Ecuador-Ecuador, <https://orcid.org/0009-0000-6429-4659>.

³Instituto de Investigación “Ing. Jacobo Bucaram Ortiz, Ph.D.”, Universidad Agraria del Ecuador; Facultad de Ciencias de la Salud y Desarrollo Humano; Universidad Tecnológica ECOTEC-Ecuador, <https://orcid.org/0000-0001-9547-2817>; +5930995700068.3Universidad Tecnológica ECOTEC-Ecuador, <https://orcid.org/0000-0001-9547-2817>; +5930995700068.

⁴Facultad de Ciencias Agrarias “Dr. Jacobo Bucaram Ortiz”; Universidad Agraria del Ecuador-Ecuador, <https://orcid.org/0000-0003-0010-4267>.

ABSTRACT: Sausage is a meat product that occupies an important place in people's diet due to its high protein content. The objective of this project was the elaboration of a mixed sausage with different concentrations of papain. To identify the formulation with the greatest antimicrobial effect, a total count of mesophilic aerobes was performed, the microbiological growth of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* was estimated, using Combase, from fundamental vectors such as pH, temperature and (aw) in the different formulations. As well as the determination of pathogenic microorganisms such as *Salmonella*, *E. coli* and *S. aureus* with rapid detection tests. The protein result in the 4 treatments was 17.00 ± 0.86 % for T0, 19.55 ± 0.98 for T1, 19.43 ± 0.97 for T2, 20.18 ± 1.01 , placing it in type I classification, according to the Ecuadorian reference standard INEN 1338:2012. The microbiological parameters analyzed were not within the limits established in the standard for the production of cooked meat products INEN 1338. It was concluded that the papain added to the formulation of chicken sausage and pork did not contribute to the decrease in the microbiological load.

Keywords: Sausage, papain, antimicrobial, microbiological

INTRODUCCIÓN

La salchicha es un alimento rico en proteínas con condiciones físicas químicas como pH, actividad de agua (aw) con contenido de nutrientes y oxígeno, que la hace apta para el desarrollo microbiano (1). El crecimiento de microorganismos, como bacterias ácido-lácticas, enterobacterias y *Pseudomonas spp*, puede provocar cambios en las propiedades organolépticas del producto, como el color, sabor, olor y textura (2). El control de los microorganismos que provocan el deterioro de los embutidos se realiza principalmente durante el proceso de fabricación, combinando bajas concentraciones de cloruro de sodio y nitritos, estos aditivos muy utilizados en los productos cárnicos contribuyen el color rojizo de la carne curada, deseable desde el punto de vista sensorial, también tienen una acción antibacteriana científicamente probada (3).

La tendencia en las formulaciones de productos cárnicos es reducir el contenido de cloruro sodio y nitritos que se emplean, porque grandes cantidades de estos conservantes tienen efectos tóxicos para la salud humana que pueden conducir a riesgos de enfermedades (4). Es importante evaluar alternativas para disminuir las cantidades de cloruro de sodio y nitrito que se emplean (5).

La incorporación de papaína en la formulación de las salchichas podría disminuir las cantidades empleadas de estos aditivos para obtener un producto más saludable (6). El uso de papaína en la producción de embutidos se utiliza principalmente como ablandador de carne. Aprovechando la acción proteolítica de la papaína en la hidrólisis del colágeno y la elastina del tejido conectivo de la carne (7).

La evaluación de la acción antimicrobiana de la papaína, como control efectivo de los principales microorganismos causantes del deterioro en salchichas es importante, su ventaja radica en el conocimiento que puede generar su utilización en la elaboración de este tipo de productos para el consumo humano. El beneficio de la investigación se consolidará al poder establecer una

formulación para la elaboración de la salchicha mixta de pollo y carne, usando la papaína, que a futuro podría sustituir parte del cloruro de sodio y nitritos que se emplean, para obtener un producto más saludable. El abordaje de la acción antimicrobiana de la papaína ha sido poco explorado en embutidos tipo salchicha; la investigación contribuiría al conocimiento sobre la acción y a la ampliación del rango de usos de la papaína.

En una investigación se determinó la actividad antimicrobiana del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*), incorporado en el embutido. Por lo que, se controló el crecimiento de bacterias de *S. aureus* y *E. coli*, las cuales fueron almacenadas durante 30 días, permitiendo alargar la vida útil de las mismas (8).

Se evaluó en un estudio la aplicación de sustancias antimicrobianas en la tripa de colágeno utilizadas para la elaboración de salchichas tipo Viena. Las tripas de colágeno se impregnaron al vacío con 1000 ppm de nisina para controlar eficazmente el *Staphylococcus aureus* y las bacterias ácido-lácticas y prolongar la vida útil del producto (9).

Según Salim, el uso de papaína en la elaboración de salchichas cocidas ha sido poco estudiado, sin embargo, en salchichas fermentadas en seco emplearon 800 y 4500 unidades de papaína por kg, sin observar cambios en la flora microbiana durante el proceso de fermentación (10).

El presente estudio tiene como objetivo evaluar el efecto de la papaína en diversas concentraciones como agente antimicrobiano en las salchichas mixtas de pollo y carne porcina. Para alcanzar este objetivo, se identificará la formulación con mayor efecto antimicrobiano mediante el recuento de aerobios mesófilos en un rango de tiempo determinado.

Además, se estimará el crecimiento microbiológico de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* utilizando el modelo Combase. Finalmente, se determinará el porcentaje de proteína total de las salchichas mixtas, siguiendo los lineamientos de la norma NTE INEN 1338:2012, analizando las formulaciones con concentraciones de papaína de 0,1 %, 0,2 % y 0,3 % al inicio del almacenamiento a una temperatura controlada de 4 ± 1 °C.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de investigación

El nivel de conocimiento de la investigación fue de carácter exploratorio porque es un método utilizado para investigar un problema que no está claramente definido. Se lleva a cabo para comprender mejor el problema existente, pero no proporcionará resultados concluyentes (11). La investigación fue de carácter experimental. Es un método de control parcial, basado en la identificación de los factores que pueden intervenir en la validez interna y externa del mismo (12).

Diseño de investigación

La investigación presenta un diseño de carácter experimental, en el cual el investigador manipula una variable no comprobada, bajo condiciones estrictamente controladas, donde su objetivo es

ELABORACIÓN DE SALCHICHA MIXTA DE POLLO Y CARNE PORCINA EMPLEANDO PAPAÍNA COMO TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO

describir de qué modo puede producirse un fenómeno. Para el desarrollo de la investigación se consideró la papaína como una variable experimental, se utilizaron métodos y técnicas que le permitan reaccionar como inhibidores microbianos presentes en los embutidos de pollo y carne porcina.

Tratamientos

Los tratamientos desarrollados a considerar son: la concentración de papaína (con 3 niveles: 0,1; 0,2; 0,3 %) se presenta en la Tabla 1.

Tabla 1. Formulación de las salchichas mixtas de pollo y carne considerando la concentración de papaína a evaluar.

| Ingredientes (%) | T0 | T1 | T2 | T3 |
|------------------|------------|------------|------------|------------|
| Carne de cerdo | 40 | 40 | 40 | 40 |
| Carne de pollo | 32,49 | 32,49 | 32,49 | 32,49 |
| Ajo | 0,3 | 0,3 | 0,3 | 0,3 |
| Pimienta | 0,06 | 0,06 | 0,06 | 0,06 |
| Hielo | 25 | 25 | 25 | 25 |
| Ácido ascórbico | 0,10 | 0,10 | 0,10 | 0,10 |
| Cloruro de sodio | 2 | 1,9 | 1,8 | 1,7 |
| Nitrito de sodio | 0,05 | 0,04 | 0,03 | 0,02 |
| Papaína | 0 | 0,1 | 0,2 | 0,3 |
| Total | 100 | 100 | 100 | 100 |

Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar, con 15 unidades por tratamiento, representada por una salchicha. Se realizó un control de Aerobios mesófilos al día 1, 7, 14 y 30 de almacenamiento. El control *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, se realizó mediante el software combase, un programa de microbiología predictiva Combase en el cual se evaluó las características tecnológicas, como pH, temperatura (°C) y actividad de agua (aw) para todos los tratamientos evaluando al día 1, 7,14 y 30 de almacenamiento. Se realizó el análisis de *Salmonella spp*, mediante kit de la marca Reveal® 2.0 para *Salmonella*, por otro lado, se determinó el porcentaje de proteína según NTE INEN 1338:2012

Materiales y equipos

Molino para carne #32 industrial OMEGA
Cutter industrial (Univex 4 lt)
Embutidora manual (Victoria #12)
Balanza digital (1 g – 5000 g)
Termómetro digital de alimentos (-50°C - 300°C)
Cocina industrial
Refrigerador
Tabla de picar

ELABORACIÓN DE SALCHICHA MIXTA DE POLLO Y CARNE PORCINA EMPLEANDO PAPAÍNA COMO TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO

Hilo de algodón o nylon
Olla de presión

Ingredientes y aditivos

Nitrito de sodio (BASF)
Agua potable
Ácido ascórbico (vitamina C)
Cloruro de sodio
Papaína (Papain)

Materia prima

Carne de cerdo
Carne de pollo
Grasa de cerdo
Harina de trigo
Hielo

Métodos y técnicas

Para la elaboración de la salchicha mixta de pollo y carne porcina se realizó un procedimiento experimental.

El procedimiento comienza con la recepción de la materia prima, que consiste en las carnes de pollo y cerdo, las cuales deben ser evaluadas físicamente antes de su procesamiento. Una vez aprobada, se procede al pesado de los ingredientes, según lo establecido en la formulación indicada en la tabla 4. A continuación, las carnes de pollo y cerdo se muelen utilizando un molino para carnes, comenzando con la grasa para evitar su pérdida y facilitar la emulsificación.

Posteriormente, se realiza el proceso de emulsionado en un cútter, donde se añaden las carnes molidas, hielo, nitrito de sodio, papaína y los ingredientes complementarios. Se incorpora el hielo restante durante este proceso para evitar el sobrecalentamiento de la masa. La masa emulsionada se transfiere a un embutidor, donde se embuten las salchichas utilizando tripa natural con un diámetro de 34-36 mm.

El siguiente paso es la cocción del embutido, que se realiza a una temperatura de 80 °C, asegurándose de que la temperatura interna del producto alcance los 75 °C. Después de la cocción, el embutido se enfría rápidamente en agua fría durante 15 minutos, con la temperatura del agua entre 3 y 5 °C, para descender rápidamente su temperatura. Finalmente, los embutidos se almacenan en cámaras frigoríficas a una temperatura de 4 ± 1 °C, donde se mantendrán hasta su distribución o consumo.

En la Figura 1, se visualiza un resumen del proceso para la elaboración de la salchicha que se llevó a cabo en esta investigación:

ELABORACIÓN DE SALCHICHA MIXTA DE POLLO Y CARNE PORCINA EMPLEANDO PAPAÍNA COMO TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO

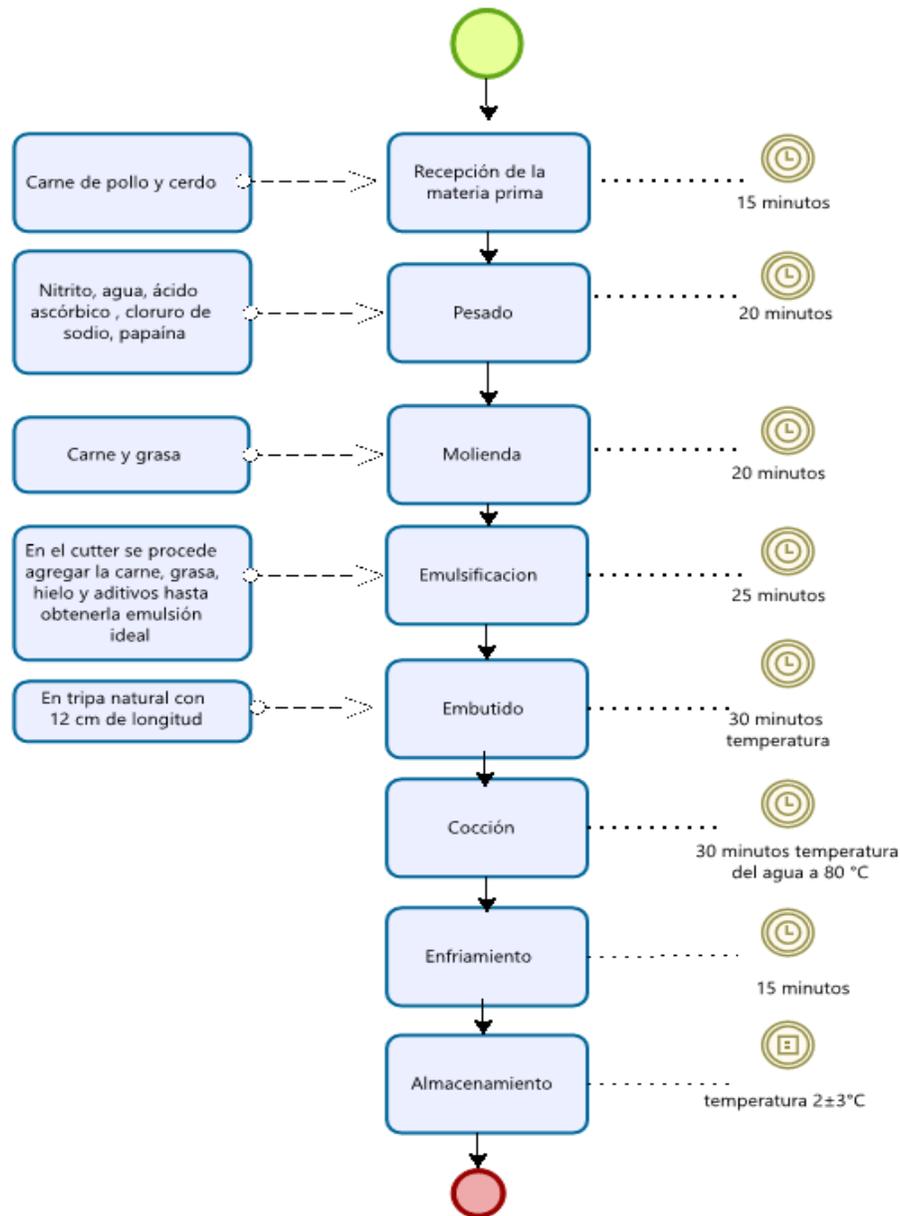


Figura 1. Diagrama de proceso para la elaboración de la salchicha.

Análisis microbiológico

Siembra e identificación de Aerobios mesófilos

Se inicia en un entorno estéril, esterilizando el material en autoclave. Se realiza un muestreo con diluciones decimales progresivas para facilitar el recuento microbiano. Se pesan 10 g de la muestra en condiciones asépticas y se tritura en un mortero para obtener una suspensión madre (dilución 10^{-1}). Luego, se transfieren 1 mL de esta suspensión a tubos con 9 mL de agua destilada estéril, preparando diluciones adicionales.

ELABORACIÓN DE SALCHICHA MIXTA DE POLLO Y CARNE PORCINA EMPLEANDO PAPAÍNA COMO TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO

Se toman alícuotas de 1 mL de estas diluciones y se depositan en placas Compact-Dry® con medio estéril. Las placas se incuban a 37 ± 2 °C durante 48 horas. Los resultados se obtienen mediante el conteo de colonias, incluidas las de color rojo, que representan el recuento total. Para aerobios mesófilos, el conteo se realiza con un contador de colonias y un dispositivo de registro automático.

Predicción del crecimiento microbiológico de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, mediante software de microbiología predictiva Combase

El software Combase se emplea para predecir el crecimiento microbiológico de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, utilizando parámetros como temperatura, pH, actividad de agua (a_w) y concentración de NaCl. Inicialmente, se selecciona el modelo de crecimiento y se determinan las condiciones estáticas o dinámicas de temperatura. Los parámetros se configuran en campos específicos:

Nivel inicial (Init. level): Indica el número de microorganismos iniciales en log UFC/g.

Estado físico: Se deja en blanco para que el programa determine automáticamente la fase latente del microorganismo.

Temperatura (°C), pH y concentración de NaCl: Estos valores se introducen según las condiciones experimentales, como 20 °C, pH 7 y 0,6 % NaCl.

Tiempo (h): Se establece un periodo de 25 horas para la predicción.

Al ejecutar el modelo, el software genera resultados en forma gráfica o numérica. Los resultados incluyen constantes cinéticas como la tasa máxima de crecimiento (Log. conc/h) y el tiempo de duplicación (h), además de tablas que detallan la concentración de microorganismos en intervalos de tiempo. Las predicciones permiten visualizar la evolución del log UFC/g durante el periodo de análisis.

Detección de Salmonella:

Se utilizó el medio Revive para un pre-enriquecimiento inicial de la muestra a 36 ± 1 °C por 4 horas. Posteriormente, se empleó el medio Rappaport-Vassiliadis (RV) para un enriquecimiento selectivo a 42 ± 1 °C durante 24 horas. Tras la incubación, se aplicaron 8 gotas del medio RV en un dispositivo Reveal para la detección, con lectura de resultados en 15 minutos.

Detección de *E. coli*:

Se preparó un medio en una bolsa tipo Stomacher con 225 mL de agua estéril a 42 °C y se añadió 25 g de muestra. Tras la homogenización, la mezcla se incubó a 42 ± 1 °C por 8 horas. Posteriormente, se aplicó una porción del cultivo (120 µL) en el dispositivo Reveal, incubándose a temperatura ambiente durante 15 minutos antes de la lectura.

Determinación del porcentaje de proteína total (Método Kjeldahl):

Digestión: Se transformó el nitrógeno orgánico en ion amonio mediante ácido sulfúrico concentrado y catalizadores. Se usó un digestor automático a 420 °C para realizar este proceso.

ELABORACIÓN DE SALCHICHA MIXTA DE POLLO Y CARNE PORCINA EMPLEANDO PAPAÍNA COMO TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO

Destilación: El nitrógeno amoniacal fue liberado como amoníaco tras la alcalinización con NaOH 10N y recogido en una solución de ácido bórico.

Valoración: El nitrógeno amoniacal fue cuantificado mediante un análisis ácido-base utilizando indicadores de rojo de metilo y azul de metileno.

Análisis estadístico:

Se evaluó el efecto de la papaína en concentraciones de 0,1 %, 0,2 % y 0,3 % durante un almacenamiento de 1, 7, 14 y 30 días. Los datos microbiológicos y fisicoquímicos (pH, temperatura) se analizaron con ANOVA y prueba de Tukey al 5 % para detectar diferencias significativas entre medias en los diferentes tratamientos.

RESULTADOS

Valores medios de pH de los tratamientos a lo largo del tiempo.

En la Tabla 2 se presentan los valores medios y error estándar del pH, como se puede observar el pH disminuye para todos los tratamientos debido a la proliferación de microorganismos. Considerando los 4 tratamientos, encontramos que en el tratamiento del día 1 el pH más bajo fue del T1 que arrojaron resultados de un pH de 6, sin diferencias significativas, como se observa en el T0, T2, T3, este comportamiento del pH fue similar al observado en el día 7, día 14 y día 30.

Las diferencias significativas de pH en los 4 tratamientos se manifestaron con el pasar de los días debido a la proliferación de las bacterias ácidos lácticas, estas bacterias mientras haya glucógeno, se produce ácido láctico. Estas bacterias en los productos cárnicos cocidos pueden ayudar a la prolongación de la vida útil, porque su crecimiento provoca un descenso del pH, creando condiciones desfavorables para la proliferación de microorganismos tales como los coliformes y Aerobios mesófilos.

Tabla 2. Valores medios de pH.

| Tratamientos | Día 1 | Día 7 | Día 14 | Día 30 |
|--------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| T0 | 6,12 ^a | 6,39 ^a | 6,01 ^b | 5,18 ^a |
| T1 | 6,00 ^a | 6,24 ^b | 5,96 ^b | 5,32 ^a |
| T2 | 6,17 ^a | 6,15 ^b | 6,18 ^a | 5,18 ^a |
| T3 | 6,19 ^a | 6,2 ^b | 6,29 ^a | 5,02 ^b |
| EE | 0,06 | 0,03 | 0,04 | 0,04 |

Medias con una letra en común no son significativamente diferente estadísticamente (P<0,05)

E.E: Error estándar de la media

Valores medios de temperatura de los tratamientos a lo largo del tiempo.

En la Tabla 3 se presentan los valores medios y error estándar de la temperatura, como se puede observar a lo largo del tiempo la temperatura se mantiene constante debido al control en la

ELABORACIÓN DE SALCHICHA MIXTA DE POLLO Y CARNE PORCINA EMPLEANDO PAPAÍNA COMO TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO

temperatura de almacenamiento. Al comparar en cada día los tratamientos, observamos que la temperatura con diferencias mínimas de 4 °C. Se estableció un control de la temperatura que permiten un almacenamiento óptimo para la conservación del producto.

Tabla 3. Valores medios de temperatura.

| Tratamientos | Día 1 | Día 7 | Día 14 | Día 30 |
|--------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| T0 | 4,28 ^a | 4,25 ^a | 4,3 ^a | 4,5 ^a |
| T1 | 4,22 ^a | 4,3 ^a | 4,33 ^a | 4,38 ^a |
| T2 | 4,28 ^a | 4,33 ^a | 4,3 ^a | 4,22 ^a |
| T3 | 4,4 ^a | 4,28 ^a | 4,28 ^a | 4,28 ^a |
| E. E | 0,06 | 0,08 | 0,10 | 0,10 |

Medias con una letra en común no son significativamente diferente estadísticamente ($P < 0,05$)

E.E: Error estándar de la media

Valores medios de actividad de agua (a_w) a lo largo del tiempo

En la Tabla 4 se puede observar que la actividad de agua se mantuvo estable en el tiempo con un valor de 0.99. La medición de la actividad del agua con una precisión de 0,01 a_w solo es posible con sensores de temperatura constante y alta sensibilidad. En áreas de alta actividad y de especial importancia (alimentos perecederos como pescado y carne).

Tabla 4. Valores medios de la actividad de agua (a_w)

| Tratamientos | Día 1 | Día 7 | Día 14 | Día 30 |
|--------------|-------|-------|--------|--------|
| T0 | 0,99 | 0,99 | 0,99 | 0,99 |
| T1 | 0,99 | 0,99 | 0,99 | 0,99 |
| T2 | 0,99 | 0,99 | 0,99 | 0,99 |
| T3 | 0,99 | 0,99 | 0,99 | 0,99 |
| E. E | 0.00 | 0.00 | 0.00 | 0.00 |

Medias con una letra en común no son significativamente diferente estadísticamente ($P < 0,05$)

E.E: Error estándar de la media

Como se observa en la Tabla 4, las medidas de actividad de agua no mostraron diferencias significativas entre los cuatro tratamientos.

La actividad del agua de las salchichas permaneció constante y fue el rango típico de actividad del agua que suelen tener las salchichas. Los embutidos son alimentos perecederos porque su a_w oscila entre 0,93 y 0,99 lo que indica una alta prevalencia de bacterias.

Resultados salmonella, *E. coli* y *S. aureus*

Se determinó la presencia de estos microorganismos mediante la prueba de detección rápida.

ELABORACIÓN DE SALCHICHA MIXTA DE POLLO Y CARNE PORCINA EMPLEANDO PAPAÍÑA COMO TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO

Como se observa en la Tabla 5, las 3 pruebas de detección rápida dieron positivo.

Tabla 5. Resultados de patógenos.

| Patógeno | Resultado |
|------------------------------|-----------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> | Positivo |
| <i>Echerichia coli</i> | Positivo |
| <i>Salmonella</i> | Positivo |

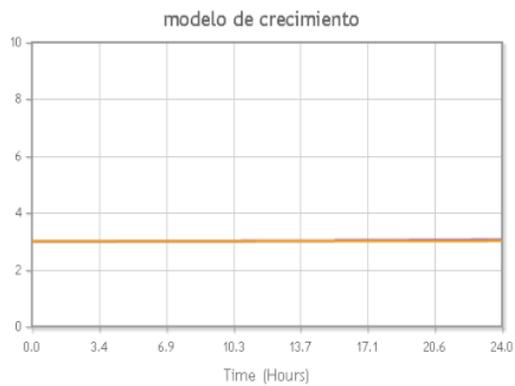


Figura 2. Curva de crecimiento *E. coli* y *S. aureus* (día 1) T0.

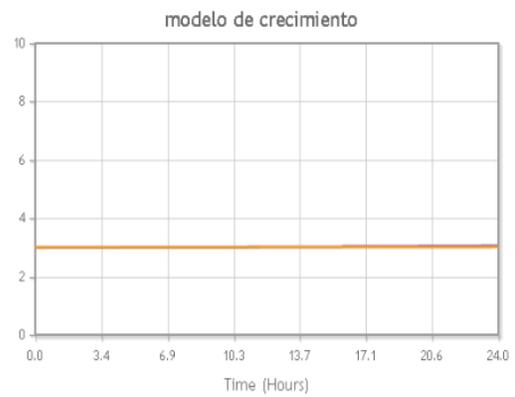


Figura 3. Curva de crecimiento *E. coli* y *S. aureus* (día 1) T1.

ELABORACIÓN DE SALCHICHA MIXTA DE POLLO Y CARNE PORCINA EMPLEANDO PAPAÍÑA COMO TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO

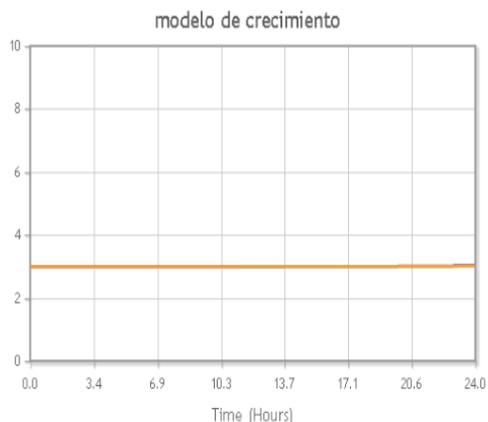


Figura 4. Curva de crecimiento *E. coli* y *S. aureus* (día 1) T2.

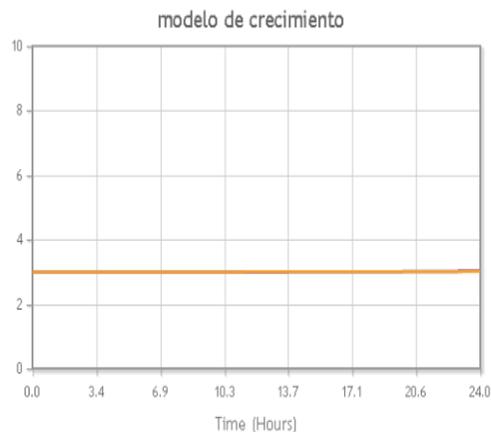


Figura 5. Curva de crecimiento *E. coli* y *S. aureus* (día 1) T3.

Se puede observar resultados positivos para la presencia de salmonella, *E. coli* y *S. aureus*.

Predicción de *E. coli* y *S. aureus* (día 1).

A continuación, se presenta la curva de predicción del crecimiento *E. coli* y *S. aureus*

Como se observa en las Figuras se presentan los resultados de la simulación en combase, de *E. coli* y *S. aureus* en el día 1. Como se evidenció en los 4 tratamientos no hubo crecimiento de estos microorganismos con los parámetros medidos. Esto se puede deber al control de la temperatura de almacenamiento, que es un factor que influye en la proliferación de los microorganismos, se tomaron los datos para realizar la curva de crecimiento.

Tabla 6. Datos obtenidos el día 1, tasa máxima de crecimiento de *E. coli* y *S. aureus* (log. conc/h).

| Tratamientos | M.O | Temp (°C) | Ph | Aw | Tiempo (h) | Conc (Log10 células/g) |
|--------------|------------------|-----------|------|------|------------|------------------------|
| T0 | <i>E. coli</i> | 10 | 6.11 | 0.99 | 24 | 3.05 |
| | <i>S. aureus</i> | 10 | 6.11 | 0.99 | 24 | 3.05 |
| T1 | <i>E. coli</i> | 10 | 5.99 | 0.99 | 24 | 3.02 |
| | <i>S. aureus</i> | 10 | 5.99 | 0.99 | 24 | 3.02 |
| T2 | <i>E. coli</i> | 10 | 6.18 | 0.99 | 24 | 3.05 |
| | <i>S. aureus</i> | 10 | 6.18 | 0.99 | 24 | 3.05 |
| T3 | <i>E. coli</i> | 10 | 6.16 | 0.99 | 24 | 3.05 |
| | <i>S. aureus</i> | 10 | 6.16 | 0.99 | 24 | 3.05 |

ELABORACIÓN DE SALCHICHA MIXTA DE POLLO Y CARNE PORCINA EMPLEANDO PAPAÍÑA COMO TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO

Como se observa en la Tabla 6 la curva de crecimiento se realizó a temperatura constante (10 °C) y una actividad de agua estable de 0.99, son parámetros ambientales importantes que regulan el crecimiento y la supervivencia de los microorganismos, los datos obtenidos de pH, temperatura y actividad de agua para realizar la curva se obtuvieron experimentalmente y fueron comparados a través del programa informático Combase Predictor las cuales arrojaron valores constantes de concentración de microorganismos de 3 (Log10 células/g) en las bacterias de *E. coli* y *S. aureus*, a intervalos regulares de tiempo de 24 horas.

Predicción de *E. coli* y *S. aureus* (día 7)

A continuación, se presenta la curva de predicción del crecimiento *E. coli* y *S. aureus*

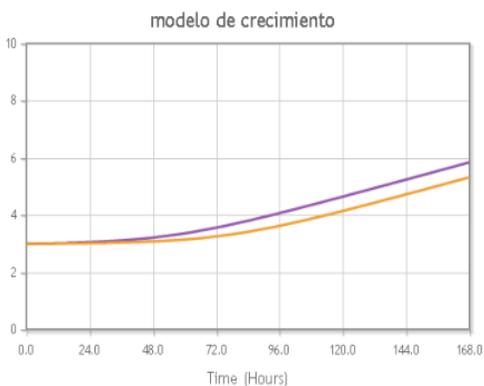


Figura 6. Curva de crecimiento *E. coli* y *S. aureus* (día 7) T0.

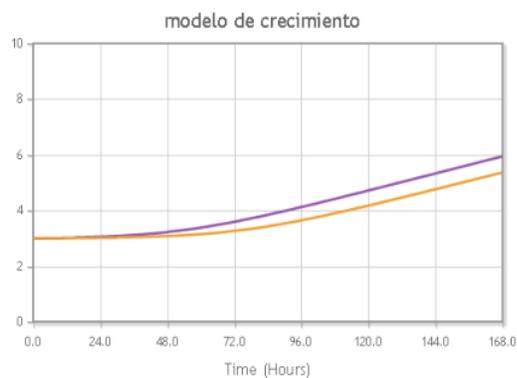


Figura 7. Curva de crecimiento *E. coli* y *S. aureus* (día 7) T1.

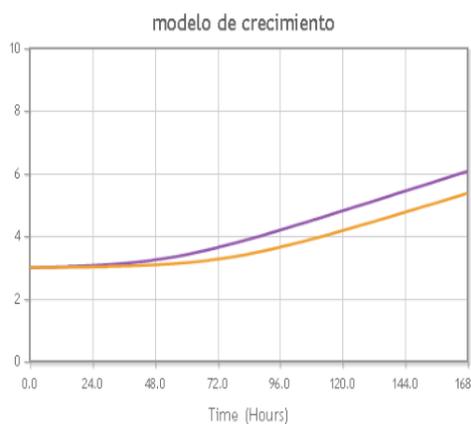


Figura 8. Curva de crecimiento *E. coli* y *S. aureus* (día 7) T2.

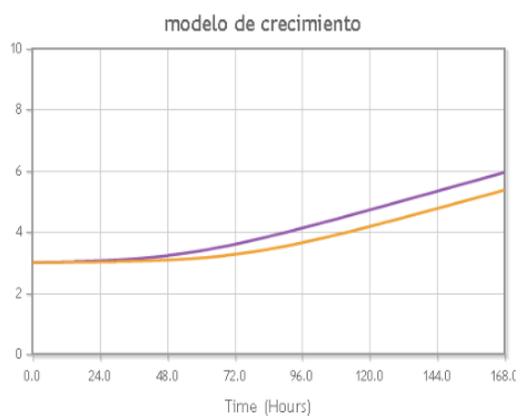


Figura 9. Curva de crecimiento *E. coli* y *S. aureus* (día 7) T3.

ELABORACIÓN DE SALCHICHA MIXTA DE POLLO Y CARNE PORCINA EMPLEANDO PAPAÍÑA COMO TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO

Cómo se observa en las Figuras 6,7,8,9. Los resultados de las predicciones simultáneas expresados en el día 7, se evidenció un crecimiento microbiológico como se muestra en las figuras. La cinemática de crecimiento de la bacteria *E. coli* y *S. aureus*, se tomaron datos para realizar la curva de crecimiento.

Tabla 7. Datos obtenidos del día 7, tasa máxima de crecimiento de *E. coli* y *S. aureus* (log. conc/h)

| Tratamientos | M.O | Temp (°C) | Ph | Aw | tiempo (h) | Conc (Log10 células/g) |
|--------------|------------------|-----------|------|------|------------|------------------------|
| T0 | <i>E. coli</i> | 10 | 6.42 | 0.99 | 168 | 6.07 |
| | <i>S. aureus</i> | 10 | 6.42 | 0.99 | 168 | 5.37 |
| T1 | <i>E. coli</i> | 10 | 6.24 | 0.99 | 168 | 5.94 |
| | <i>S. aureus</i> | 10 | 6.24 | 0.99 | 168 | 5.37 |
| T2 | <i>E. coli</i> | 10 | 6.12 | 0.99 | 168 | 5.84 |
| | <i>S. aureus</i> | 10 | 6.12 | 0.99 | 168 | 5.32 |
| T3 | <i>E. coli</i> | 10 | 6.2 | 0.99 | 168 | 5.94 |
| | <i>S. aureus</i> | 10 | 6.2 | 0.99 | 168 | 5.37 |

Como se observa en la Tabla 7 la curva de crecimiento, los datos obtenidos para realizar la curva se obtuvieron experimentalmente y fueron comparados a través del programa informático Combase Predictor, arrojaron resultados de bacterias de *E. coli* y *E. aureus* con una concentración mayor a 6 (Log10 células/g) en los 4 tratamientos en un lapso de 168 horas.

Predicción de *E coli* y *S. aureus* (día 14)

A continuación, se presenta la curva de predicción del crecimiento *E. coli* y *S. aureus* correspondiente al día 14

ELABORACIÓN DE SALCHICHA MIXTA DE POLLO Y CARNE PORCINA EMPLEANDO PAPAÍÑA COMO TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO

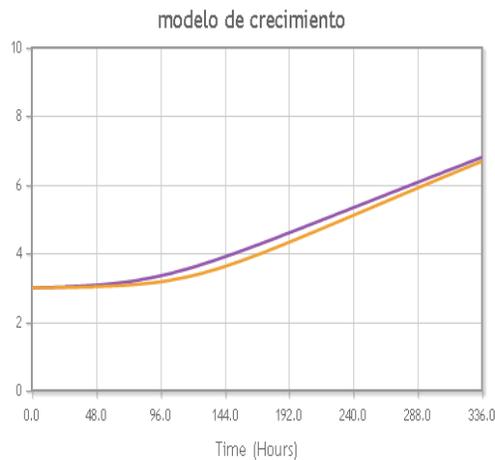


Figura 10. Curva de crecimiento *E. coli* y *S. aureus* (día 14) T0.

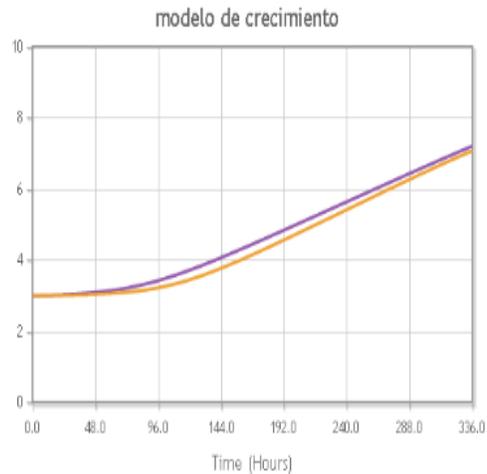


Figura 11. Curva de crecimiento *E. coli* y *S. aureus* (día 14) T1.

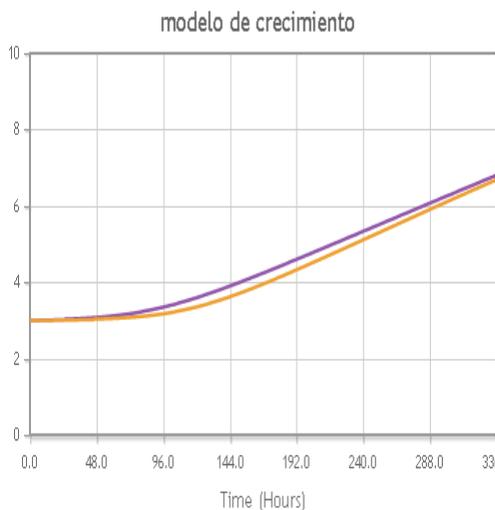


Figura 12. Curva de crecimiento *E. coli* y *S. aureus* (día 14) T2.

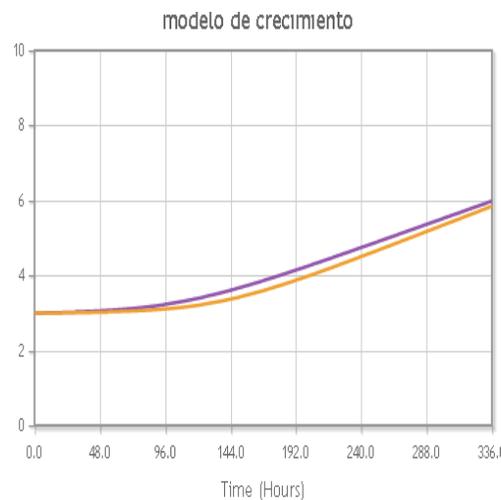


Figura 13. Curva de crecimiento *E. coli* y *S. aureus* (día 14) T3.

Observamos en las figuras 10,11,12,13. Los resultados de las predicciones simultáneas, se evidenció un crecimiento microbiológico como se muestra en las figuras. La cinemática de crecimiento de las bacterias *E. coli* y *S. aureus*, se tomaron los datos para realizar la curva de crecimiento.

En la Tabla 8 la curva de crecimiento se realizó con los datos obtenidos experimentalmente y fueron comparados a través del programa informático Combase Predictor, arrojaron resultados de concentración de *E. coli*, máxima de 7.2 (Log10 células/g) correspondiente al T1 y mínima de 5.98 (Log10 células/g) correspondiente al T3. En la Concentración de *S. aureus* con un máximo de

ELABORACIÓN DE SALCHICHA MIXTA DE POLLO Y CARNE PORCINA EMPLEANDO PAPAÍÑA COMO TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO

7.07 (Log10 células/g) correspondientes al T1 y mínimas de 5.84 correspondientes al T3 en un lapso de 336 horas.

Tabla 8. Datos obtenidos el día 14, tasa máxima de crecimiento de *E. coli* y *S. aureus* (log. conc/h).

| Tratamientos | M.O | Temp (°C) | Ph | Aw | tiempo (h) | Conc (Log10 células/g) |
|--------------|------------------|-----------|------|------|------------|------------------------|
| T0 | <i>E. coli</i> | 10 | 6.01 | 0.99 | 336 | 6.8 |
| | <i>S. aureus</i> | 10 | 6.01 | 0.99 | 336 | 6.68 |
| T1 | <i>E. coli</i> | 10 | 5.96 | 0.99 | 336 | 7.2 |
| | <i>S. aureus</i> | 10 | 5.96 | 0.99 | 336 | 7.07 |
| T2 | <i>E. coli</i> | 10 | 5.19 | 0.99 | 336 | 6.8 |
| | <i>S. aureus</i> | 10 | 5.19 | 0.99 | 336 | 6.68 |
| T3 | <i>E. coli</i> | 10 | 6.29 | 0.99 | 336 | 5.98 |
| | <i>S. aureus</i> | 10 | 6,29 | 0.99 | 336 | 5.84 |

Predicción de *E. coli* y *S. aureus* (día 30).

A continuación, se presenta la curva de predicción del crecimiento *E. coli* y *S. aureus* correspondiente al día 30.



Figura 14. Curva de crecimiento *E. coli* y *S. aureus* (día 30) T0

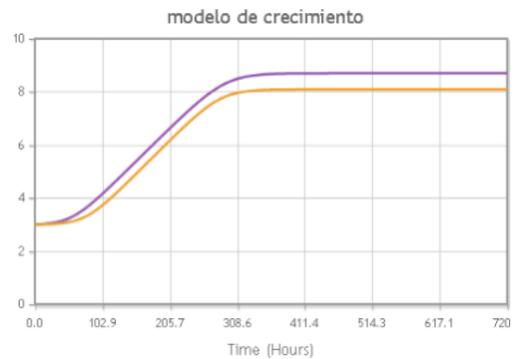


Figura 15. Curva de crecimiento *E. coli* y *S. aureus* (día 30) T1

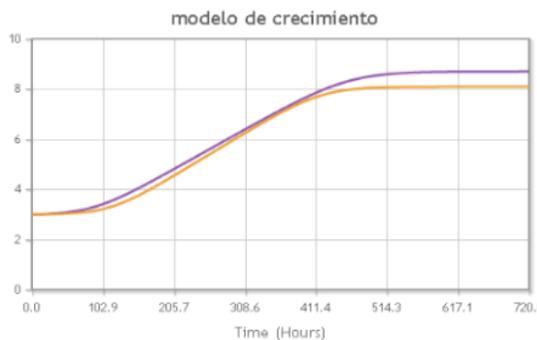


Figura 16. Curva de crecimiento *E. coli* y *S. aureus* (día 30) T2

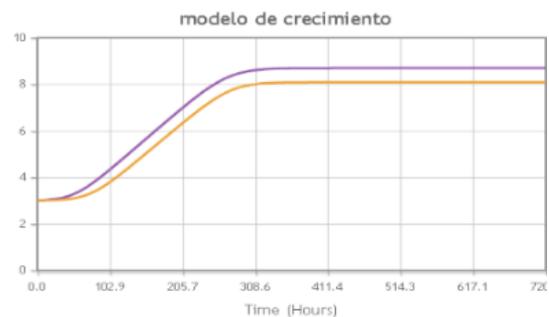


Figura 17. Curva de crecimiento *E. coli* y *S. aureus* (día 30) T3

ELABORACIÓN DE SALCHICHA MIXTA DE POLLO Y CARNE PORCINA EMPLEANDO PAPAÍNA COMO TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO

Tabla 9. Datos obtenidos el día 30, tasa máxima de crecimiento de *E. coli* y *S. aureus* (log. conc/h).

| Tratamientos | M.O | Temp (°C) | Ph | Aw | tiempo (h) | Conc (Log10 células/g) |
|--------------|------------------|-----------|------|------|------------|------------------------|
| T0 | <i>E. coli</i> | 10 | 5.18 | 0.99 | 720 | 8.7 |
| | <i>S. aureus</i> | 10 | 5.18 | 0.99 | 720 | 8.09 |
| T1 | <i>E. coli</i> | 10 | 5.32 | 0.99 | 720 | 8.07 |
| | <i>S. aureus</i> | 10 | 5.32 | 0.99 | 720 | 8.09 |
| T2 | <i>E. coli</i> | 10 | 5.19 | 0.99 | 720 | 8.7 |
| | <i>S. aureus</i> | 10 | 5.19 | 0.99 | 720 | 8.09 |
| T3 | <i>E. coli</i> | 10 | 5.02 | 0.99 | 720 | 8.7 |
| | <i>S. aureus</i> | 10 | 5.02 | 0.99 | 720 | 8.09 |

Como se observa en la Tabla 9, los datos para realizar la curva se obtuvieron experimentalmente y fueron comparados a través del programa informático Combase Predictor, los resultados obtenidos de las bacterias *E. coli* y *S. aureus*, en un lapso de tiempo de 720 horas (30 días) fueron mayores a 8 (Log10 células/g), en los 4 tratamientos no hubo una alteración de sus valores. Se determinó que con el pasar de los días existe un aumento de la concentración de microorganismo, lo que produce una alteración la curva de crecimiento.

Aerobios mesófilos

En la Tabla 10 encontramos los valores medios de Aerobios mesófilos expresados en logaritmos, en los 4 tratamientos a los días 1,7,14,30 de almacenamiento el cual las muestras contienen un 0, 0.1, 0.2, 0.3% de papaína.

Tabla 10. Valores medios de contenido de aerobios mesófilos expresados en UfC/gr.

| | Día 1 | Día 7 | Día 14 | Día 30 |
|--------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|
| Tratamientos | 10 ⁻⁴ | 10 ⁻⁵ | 10 ⁻⁷ | 10 ⁻⁸ |
| T0 | 1 ^{ab} | 72 ^c | 28 ^b | 8.05 ^c |
| T1 | 0 ^b | 299 ^b | 3 ^c | 72 ^a |
| T2 | 0.5 ^b | 375 ^a | 28 ^b | 52 ^b |
| T3 | 2 ^a | 429 ^a | 31 ^a | 42.5 ^b |
| E. E | 0,25 | 12,12 | 0.00 | 2,89 |

Medias con diferente letra en cada columna difieren significativamente (P<0,05).

E.E: Error estándar de la media.

Como se observa los datos obtenidos en la Tabla 10 en el transcurso de los días se evidenció la presencia de carga microbiana en las muestras de salchicha en donde el T3 presenta una mayor

ELABORACIÓN DE SALCHICHA MIXTA DE POLLO Y CARNE PORCINA EMPLEANDO PAPAÍNA COMO TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO

carga microbiana, a pesar de la adición de papaína en diferentes concentraciones. A diferencia del T0, el cual no contiene papaína, presenta una menor carga microbiana. Se determinó que la papaína no es un complemento efectivo para el control de microorganismos causantes del deterioro en el producto y que las muestras no cumplieron con los requisitos microbiológicos para la producción de productos cárnicos cocidos Norma INEN 1338.

Porcentaje de proteína de los tratamientos

En la Tabla 11 presenta los valores de porcentaje correspondientes a la proteína de la salchicha mixta de pollo y carne porcina donde se evidencia un mayor porcentaje de proteína en el T3, el cual podría ser influido por el contenido de papaína (0.3%) presente en las muestras de las salchichas.

Tabla 11. Porcentaje de proteína.

| Porcentaje de proteína | | | |
|------------------------|--------------|-------------------------------|-------------------------|
| Tratamientos | Resultados | Requisitos | Met/ referencia |
| T0 | 17.23 ± 0.86 | TIPO I: Min: 12 TIPO II: Min: | AOAC 21st 981.10 |
| | | 10 TIPO III: Min: 8 | (ME22-PG20-PO02-7.2 FQ) |
| T1 | 19.55 ± 0.98 | TIPO I: Min: 12 TIPO II: Min: | AOAC 21st 981.10 |
| | | 10 TIPO III: Min: 8 | (ME22-PG20-PO02-7.2 FQ) |
| T2 | 19.43 ± 0.97 | TIPO I: Min: 12 TIPO II: Min: | AOAC 21st 981.10 |
| | | 10 TIPO III: Min: 8 | (ME22-PG20-PO02-7.2 FQ) |
| T3 | 20.18 ± 1.01 | TIPO I: Min: 12 TIPO II: Min: | AOAC 21st 981.10 |
| | | 10 TIPO III: Min: 8 | (ME22-PG20-PO02-7.2 FQ) |

En los resultados obtenidos, muestra los niveles de proteína cumplen con las con los requisitos establecidos según los requisitos bromatológicos para la producción de productos cárnicos cocidos Norma INEN 1338. En donde señala que el producto debe tener un mínimo de 12 % de proteína.

DISCUSIÓN

En el estudio sobre la elaboración de un embutido de pollo y carne porcina, se empleó papaína en concentraciones de 0%, 0.1%, 0.2% y 0.3% como tratamiento antimicrobiano. Actualmente, debido al uso de aditivos como nitritos y nitratos en productos cárnicos, se han desarrollado nuevas alternativas en su formulación. Proaño y otros colaboradores elaboraron una salchicha de

ELABORACIÓN DE SALCHICHA MIXTA DE POLLO Y CARNE PORCINA EMPLEANDO PAPAÍNA COMO TRATAMIENTO ANTIMICROBIANO

pollo tipo Frankfurt, evaluando el efecto de antimicrobianos en concentraciones de 5000 ppm de ácido ascórbico, 500 ppm de aceite esencial de romero y 1000 ppm de vitamina E. Estos tratamientos demostraron resultados positivos al controlar el crecimiento de aerobios mesófilos, con valores inferiores a los límites establecidos por las normativas (13).

Es por esta razón que la adición de otros compuestos antimicrobianos en la formulación original para la elaboración de salchichas puede ser efectiva en el control de los microorganismos causantes del deterioro del producto.

A diferencia de los resultados obtenidos en el presente proyecto determinaron que la papaína en diferentes concentraciones no presentó un efecto antimicrobiano. Según lo establecido por (14), la papaína es una enzima que además de favorecer la digestión, también contiene propiedades antibacterianas y antifúngicas en donde la papaína presenta una mejor efectividad en el campo de la odontología como un removedor de caries dental. Es por esta razón que la papaína no obtuvo resultados positivos en sus propiedades antimicrobianas como un conservante alimentario, siendo eficaz en la industria alimentaria como un ablandador de carnes y en odontología durante el proceso de remoción de la carie dental.

En un estudio se evaluó el comportamiento de *Listeria monocytogenes* en frutas y verduras intactas, los productos investigados pertenecen a las principales familias de productos básicos (mora, frambuesa y arándano), Ericaceae (mora, frambuesa y arándano), Rutaceae (limón y mandarina), Roseaceae (cereza dulce), Solanaceae (tomate), Brassaceae (coliflor y brócoli) y Apiaceae (zanahoria). Las predicciones del modelo ComBase para *L. monocytogenes* mostraron un aumento de las tasas de crecimiento microbiológicos, ComBase Predictor modeló de forma conservadora el crecimiento de *L. monocytogenes*.

Esta investigación ayudará a comprender los riesgos de brotes de enfermedades transmitidas por los alimentos y las retiradas de productos asociados a *Listeria monocytogenes* en productos frescos enteros. Esto tiene similitud con lo establecido en la presente investigación en el cual se midió los parámetros de pH, temperatura y a_w del producto en un periodo de tiempo de 1,7,14 y 30 días, los resultados obtenidos evidenciaron un aumento de la concentración de microorganismos, lo que produce una alteración de la curva de crecimiento con el pasar de los días (15).

Montoya en su estudio de elaboración de una salchicha mixta utilizando como principales ingredientes carne de chame y carne de res, donde estableció tres relaciones de carne, chame y res (p/p:kg/kg):10:60, 20:50, 30:40 y 0:70, que correspondieron a los tratamientos (A1, A2, A3) y testigo, respectivamente. En los análisis de detección de proteína arrojaron resultados donde la proteína tuvo diferencias significativas ($p < 0.01$), varió de 15.90 % a 16.30 %, para la tercera y primera formulación respectivamente, al testigo corresponde el 16.22 %, reflejando que cumplen los requerimientos de la norma INEN 1338:96, donde se considera un mínimo de 12 % proteína, por tratarse de una salchicha escaldada. De acuerdo con los resultados obtenidos en esta investigación, se registraron valores de 17.23 ± 0.86 para T0, 19.55 ± 0.98 para T1, 19.43 ± 0.97 para T2 y 20.18 ± 1.01 para T3. Estos resultados indican que las salchichas cumplieron con todos

los requisitos bromatológicos establecidos por la norma NTE INEN 1338:2012. Este cumplimiento puede atribuirse al alto contenido de proteínas presente en las carnes utilizadas (16).

CONCLUSIONES

La incorporación de papaína en concentraciones de 0.1%, 0.2% y 0.3% en la formulación de salchichas mixtas de pollo y carne porcina no mostró un efecto significativo en la reducción de la carga microbiana. De hecho, el tratamiento testigo (T0), sin papaína, presentó una menor carga microbiana, evidenciando que la papaína no es un sustituto viable para los aditivos tradicionales utilizados en la conservación de embutidos.

El análisis microbiológico, respaldado por el modelo Combase Predictor, mostró que el crecimiento de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* aumentó con el tiempo bajo condiciones favorables de pH, temperatura y actividad de agua (*a_w*), alcanzando concentraciones máximas de 8 UFC/g en 720 horas. Estos resultados destacan la necesidad de medidas más efectivas para controlar estos microorganismos durante el almacenamiento.

Los análisis bromatológicos confirmaron que las formulaciones de salchichas, incluidas las tratadas con papaína, cumplen con los requisitos de la norma NTE INEN 1338:2012 al superar el contenido mínimo de proteína (12%). Los porcentajes de proteína total oscilaron entre 17.23 ± 0.86 en el tratamiento testigo (T0) y 20.18 ± 1.01 en el tratamiento con 0.3% de papaína (T3), reflejando un aporte proteico adecuado en todas las formulaciones.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Magán A. Evaluación de las nuevas tecnologías en el desarrollo de productos cárnicos saludables. E.T.S. de Ingeniería Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas (UPM), Madrid; 2019. Disponible en: <https://oa.upm.es/56983/>
2. Gonzalez L. Variación de pH y presencia de microorganismos en la carne de vacuno comercializada en los mercados de la ciudad Pucallpa. Universidad Alas Peruanas, Ucayali-Perú; 2018. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12990/7213>
3. Ranucci D. La mezcla de extractos afecta la tasa de crecimiento de microorganismos de deterioro en salchichas cocidas envasadas al vacío hechas de carne de cerdo, trigo emmer. *Alimentos*. 2019;8(12):664.
4. Organización Mundial de la Salud (OMS). Organización Mundial de la Salud. 2018. Disponible en: <https://www.who.int/es/>
5. Choi J, Chin K. Evaluation of physicochemical and textural properties of chicken breast sausages containing various combinations of salt and sodium tripolyphosphate. *J Anim Sci Technol*. 2020;62(4):577-586.
6. Karwowska M. Estrategias para mejorar el valor nutricional de los productos cárnicos: incorporación de compuestos bioactivos, reducción o eliminación de componentes nocivos y tecnologías alternativas. *Rev Int Cienc Tecnol Alim*. 2021;56(12):6142-6156.

7. Murillo J. Uso de papaína y bromelina y su efecto en las características organolépticas y bromatológicas de chuletas de cerdo ahumadas. RECUS. Rev Electr Coop Univ Soc. 2019;38-42.
8. Guamán B. Determinación de la acción antifúngica y antibacteriana del aceite esencial de orégano (*Origanum vulgare*), según la zona de procedencia. Universidad Central del Ecuador, Quito; 2020.
9. Batpho K. Actividad antimicrobiana de la tripa de colágeno impregnada con nisina frente a microorganismos alimentarios asociados a embutidos listos para el consumo. Control de Alimentos. 2017;1342-1352.
10. Salim R. Aplicaciones de las enzimas en el procesamiento de alimentos. Rev Farmacogn Fitoquim. 2017;2238-2240.
11. Nieto N. Investigación exploratoria: tipos, metodología y ejemplos. Disponible en: <https://core.ac.uk/download/pdf/250080756.pdf>
12. Proaño J, Urresta P, Racines M. Efecto antimicrobiano de la vitamina C, vitamina E y aceite esencial de romero (*Rosmarinus officinalis*) en salchichas de pollo tipo Frankfurt. Ind Data. 2017;20(2):27-36.
13. Hernández R. Metodología de la investigación. 4ª ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 2018. p. 310-386.
14. Fong A. Eficacia de la papaína en la remoción de dentina cariada. Universidad Santiago de Cali, Cali-Colombia; 2020. Disponible en: <http://repository.usc.edu.co/handle/20.500.12421/4935>
15. Girbal M. Los modelos ComBase son válidos para predecir el destino de *Listeria monocytogenes* en 10 frutas y verduras crudas enteras e intactas. Rev Prot Aliment. 2021;84(4):597-610.
16. Montoya C. Análisis de rendimiento, sensorial y proximal de filetes de *Dormitator latifrons* preparados con diferentes métodos de cocción. Agro Productividad. 2021.