

## SEGURIDAD MICROBIOLÓGICA DE UN EMBUTIDO FERMENTADO PORTUGUÉS EN RELACIÓN A SUS CARACTERÍSTICAS INTRÍNSECAS Y VARIABLES DE PROCESO

Nunes Silva<sup>1</sup>, B., Cadavez<sup>1</sup>, V., Pires<sup>2</sup>, P., Dias<sup>1</sup>, T. y Gonzales-Barron<sup>1</sup>, U.

<sup>1</sup> Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Escola Superior Agraria, Instituto Politécnico de Bragança. Campus de Santa Apolonia, 5301-855 Bragança, Portugal. <sup>2</sup> Escola Superior de Tecnologia e Gestão, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Viana do Castelo, Portugal; ubarron@ipb.pt

### INTRODUCCIÓN

En Portugal, se conoce como “*chouriço*” a un embutido semi-seco fermentado hecho de carne de cerdo cruda, no molida. Su proceso de elaboración se inicia al marinar la carne en trozos en una mezcla de agua, sal, vino regional y condimentos, aunque algunas fábricas incluyen también agentes de cura en esta fase. En la etapa siguiente, la fermentación ocurre espontáneamente sin adición de cultivos iniciadores (Gonzales-Barron et al., 2015; Roseiro et al., 2010; Elias et al., 2014). Después de 2 a 3 días de maduración, la mezcla se embute en tripas de cerdo, y después de ser brevemente ahumada, se somete a un proceso de maduración a bajas temperaturas. Este proceso productivo lo llevan a cabo generalmente fabricantes artesanales en pequeña/mediana escala, y cada unidad utiliza sus propias variantes y técnicas tradicionales. Por veces, esto se traduce en la obtención de productos de calidad microbiológica, estabilidad e inocuidad variables. Aparte de eso, no es raro que el proceso de elaboración sufra variaciones dentro de la misma unidad, debido a la falta de control de algunas variables de proceso (Marcos et al., 2016); por tanto, generando variabilidad en la calidad de lote para lote. Un estudio meta-analítico sobre la ocurrencia de patógenos en productos cárnicos tradicionales de Portugal, reveló valores de prevalencia promedio para *L. monocytogenes* de 8,0% (IC 95%: 5,10-15,1%) y *S. aureus* de 18,4% (95% IC: 9,00-33,9%) en embutidos “a ser consumidos crudos” (Xavier et al., 2014), entre los cuales figura el *chouriço*.

De esta manera, queda clara la necesidad de mejorar los métodos actuales de producción de *chouriço* mediante el entendimiento de cuáles son los factores de riesgo que afectan la calidad microbiológica de este producto y cómo reducir la variabilidad entre lotes de producción. En este estudio, se realizaron muestreos en cinco etapas de procesamiento, desde carne trozada hasta producto final, para someterlas a análisis fisicoquímicos y microbiológicos, con la finalidad de: (i) identificar las variables de proceso críticas, responsables por los niveles variables de *Enterobacteriaceae*, *S. aureus*, y *L. monocytogenes* entre los distintos lotes muestreados; y (ii) evaluar las relaciones entre propiedades fisicoquímicas del producto y la contaminación microbiana a lo largo del proceso.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Se seleccionaron dos fábricas en el Nordeste de Portugal para realizar muestreos en cinco etapas de procesamiento, a saber, carne trozada, macerada, embutida, ahumada y madurada (producto final), así como también de tripas. Se investigaron 6 lotes de producción por fábrica, totalizando 12 lotes de producción. Una de las fábricas no utiliza ningún aditivo en su formulación (Fábrica I) mientras que la segunda (Fábrica II) adiciona sales de cura (nitritos y nitratos) y polifosfatos durante la maceración. Para medir el grado de contaminación microbiana en los ambientes de producción, se realizaron también frotis de un total de 6 elementos ambientales por lote, entre los que figuraron, mesas, carritos, embutidora, cuchillos y manos de operadores. Los análisis fisicoquímicos realizados en carnes fueron actividad de agua ( $a_w$ ), pH, humedad, y concentraciones de hidróxido de sodio (sal), nitritos, nitratos y polifosfatos. Los análisis microbiológicos, realizados en carnes, tripas y elementos ambientales fueron recuentos de *Enterobacteriaceae*, *L. monocytogenes* y *S. aureus*. Adicionalmente, se realizaron mediciones de temperatura y humedad relativa (HR) en las salas de corte de carne, maceración, embutido y maduración. Todos los ensayos fisicoquímicos y microbiológicos fueron realizados utilizando métodos aprobados.

Se analizaron los datos provenientes de todos los lotes y las dos fábricas, a manera de revelar: (i) las dependencias entre propiedades fisicoquímicas y los recuentos microbianos a

lo largo del proceso; (ii) el impacto de la duración de los procesos y la contaminación ambiental en los recuentos microbianos a lo largo del proceso; y (iii) los factores que contribuyen al crecimiento o sobrevivencia de *Enterobacteriaceae* y patógenos durante el procesamiento. Para alcanzar los objetivos de análisis (i) y (ii), se ajustaron modelos longitudinales a cada grupo microbiano (variable de respuesta), considerando a las variables fisicoquímicas, microbiológicas o ambientales (temperatura y HR de ambientes) como variables independientes; mientras que para el objetivo de análisis (iii) se utilizaron modelos de regresión múltiple tipo paso a paso (stepwise) con un  $\alpha$  de ingreso y salida del 0,20. Todos los modelos fueron ajustados en el software R (R Core Team, 2018).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los embutidos producidos en la Fábrica II revelaron mayor  $a_w$  promedio al final del ahumado y la maduración (0,941 y 0,930, respectivamente) que los de la Fábrica I (0,929 y 0,914, respectivamente), lo cual se debe al menor periodo de maceración en esta fábrica así como también al uso de polifosfatos en la formulación del producto. En las carnes fermentadas, los polifosfatos aumentan la fuerza iónica y la capacidad de ligación al agua, lo cual puede originar un aumento indeseable del pH, tal como aconteció en los chorizos de la Fábrica II. Aunque los chorizos de la Fábrica I hayan presentado un declive continuo de pH, en ambas fábricas el pH promedio del producto final (I: 5,369; II: 5,815) fue superior al necesario para suprimir el crecimiento de *Salmonella* spp. y *S. aureus* (5,3; ICMSF, 2005). Esta situación revela la importancia de garantizar que el tiempo en el cual la carne madurada permanece por encima de 5,3 sea mínimo para asegurar que estos patógenos no proliferen. Debido al aumento significativo en los recuentos de *Enterobacteriaceae* ( $p=0,017$ ) y *S. aureus* ( $p=0,087$ ) que puede ocurrir hasta el fin de la maceración, esta etapa fue considerada como un punto crítico del proceso productivo.

**Tabla 1.** Variables críticas contribuyentes al desarrollo y sobrevivencia de *S. aureus* y *L. monocytogenes* en carne macerada, chorizo ahumado y chorizo madurado producidos en las fábricas investigadas

Microorganismo	Variables seleccionadas paso a paso (stepwise) <sup>a</sup>	R <sup>2</sup> parcial	Valor F	Pr > F
<b>S. aureus</b>	<b>Carne macerada</b>			
	<i>S. aureus</i> después de mezclar (+)	0,341	4,65	0,059
	pH de la carne macerada (+)	0,207	3,06	0,123
	<b>Chorizo ahumado</b>			
	[Sal] después del ahumado (-)	0,462	7,74	0,021
	Nitritos adicionados (-)	0,339	4,62	0,060
	<b>Chorizo madurado</b>			
	Temperatura de maceración (+)	0,408	6,22	0,034
	pH después del ahumado (+)	0,221	3,01	0,121
	Días de maduración (-)	0,197	2,21	0,171
<b>L. monocytogenes</b>	<b>Carne macerada</b>			
	<i>L. mono.</i> en la mezcla (+)	0,885	77,4	<,0001
	Temperatura de maceración (-)	0,504	10,15	0,010
	pH de la carne macerada (+)	0,336	5,07	0,048
	Nitritos adicionados (-)	0,020	1,90	0,201
	<b>Chorizo ahumado</b>			
	<i>L. mono.</i> en tripas (+)	0,223	2,88	0,120
	$a_w$ después del ahumado (+)	0,222	2,86	0,122
	<b>Chorizo madurado</b>			
	<i>L. mono.</i> después del ahumado (+)	0,906	97,2	<,0001
<i>L. mono.</i> en tripas (+)	0,347	5,31	0,044	
Días de producción (-)	0,261	3,53	0,090	

<sup>a</sup>Asociación positiva (+) o negativa (-) entre variables

Tal como muestra la Tabla 1, la contaminación del chorizo estuvo asociada positivamente con la temperatura ambiental de la sala donde se realiza la maceración (*S. aureus*:  $p=0,034$ ; *L. monocytogenes*:  $p=0,010$ ) y con el pH final de la carne macerada (*L. monocytogenes*:  $p=0,048$ ). Los lotes con menor concentración de sal en la carne ahumada ( $p=0,021$ ), mayor temperatura ambiental en la sala de maceración ( $p=0,034$ ) y sujetos a menor tiempo de maduración ( $p=0,171$ ) presentaron recuentos más altos de *S. aureus* en el producto final; mientras que niveles más altos de contaminación en la mezcla de la carne con los otros ingredientes ( $p<,0001$ ) y en las tripas ( $p=0,044$ ), y menor tiempo de producción ( $p=0,090$ ) condujeron a mayores recuentos de *L. monocytogenes* en el producto final (Tabla 1).

En lo que respecta a la introducción de nitritos en la formulación, aunque su presencia haya presentado un fuerte efecto reductor de *Enterobacteriaceae* durante el ahumado ( $p<,0001$ ) y en *L. monocytogenes* durante la maduración ( $p=0,036$ ), su uso no reveló ningún impacto negativo en el crecimiento de *S. aureus* ( $p=0,060$ ). En general, estos resultados revelan que, en la producción de *chouriço*, la maceración es una etapa crítica, y deben introducirse en esta fase acciones de monitorización de temperatura de macerado y pH de la carne en maceración. Adicionalmente, se necesita implementar acciones de control de calidad de las tripas, de las materias primas así como estandarizar la duración de las etapas de proceso.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Gonzales-Barron, U.; Cadavez, V.; Pereira, A.P.; Gomes, A.; Araújo, J.P.; Saavedra, M.J.; Estevinho, L.; Butler, F.; Pires, P.; Dias, T. 2015. *Food Res Int* 78, 50-61.
- Roseiro, L.C.; Gomes, A.; Goncalves, H.; Sol, M.; Cercas, R.; Santos, C. 2010. *Meat Sci* 84, 172-179.
- Elias, M.; Potes, M.E.; Roseiro, L.C.; Santos, C.; Gomes, A.; Agulheiro-Santos, A.C. 2014. *J Food Res* 3, 45-56.
- Marcos, C.; Viegas, C.; Almeida, A.M.; Guerra, M.M. 2016. *J Ethn Foods* 3, 51-60.
- R Core Team (2018). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Xavier, C.; Gonzales-Barron, U.; Paula V.; Estevinho L.; Cadavez V. 2014. *Food Res Int* 55, 311-323.
- ICMSF. 2005. *Microorganisms in Foods 6. Microbial Ecology of Food Commodities: Chapter 1*; 2nd edition; New York: Kluwer Academic.

### MICROBIOLOGICAL SAFETY OF PORTUGUESE DRY-FERMENTED CHOURIÇO SAUSAGES AS AFFECTED BY PROCESSING AND PHYSICOCHEMICAL FACTORS

**ABSTRACT:** In order to identify risk factors and main differences of the manufacturing technology of Portuguese *chouriço* leading to variable levels of *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*; microbiological and physicochemical characterisation of *chouriço* sampled at five stages of production was performed. Twelve production batches were surveyed from two factories, one of them used curing agents. The results suggest that maceration is a critical point of the process since *Enterobacteriaceae* ( $p=0,017$ ) and *S. aureus* ( $p=0,087$ ) could significantly increase until the end of such stage. The contamination of *chouriço* correlated positively with the maceration room temperature (*S. aureus*:  $p=0,034$ ; *L. monocytogenes*:  $p=0,010$ ) and the final pH of the macerated meat (*L. monocytogenes*:  $p=0,048$ ). Batches with lower salt concentration in smoked meat ( $p=0,021$ ), and shorter ripening time ( $p=0,171$ ) presented higher *S. aureus* counts in *chouriço*; whereas higher levels of contamination in the mixture ( $p<,0001$ ) and casings ( $p=0,044$ ) led to higher *L. monocytogenes* counts in the end-product. Although nitrite showed a strong effect on reducing *Enterobacteriaceae* during smoking ( $p<,0001$ ) and controlling *L. monocytogenes* during ripening ( $p=0,036$ ), it did not hinder ( $p=0,060$ ) *S. aureus* growth. These results reveal the need to implement more process controls during elaboration, and standardise the production process of *chouriço* in order to assure consumers' safety.

**Keywords:** *Chouriço*; *Staphylococcus aureus*; *Listeria monocytogenes*; longitudinal models.