



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA

FACULTAD DE CIENCIAS E INGENIERÍA

“ALBERTO CAZORLA TALLERI”

**ANÁLISIS DE LOS DATOS DE UN TRATAMIENTO TÉRMICO PARA
ASEGURAR LA INOCUIDAD DE UN LICUADO ACIDIFICADO DE
ACEITUNAS VERDES Y NEGRAS (*Olea europaea*), TAPENADE
TRABAJO DE SUFICIENCIA PROFESIONAL PARA OPTAR EL TÍTULO
PROFESIONAL DE LICENCIADO EN BIOLOGÍA**

AUTOR:

Cesar Alexander Vasquez Villarino

ASESOR:

MSc. Johnny Percy Ambulay Briceño

Lima-Perú

2023

REVISORES:

Dr. Francisco Peirano Blondet

Lic. Andrés Anampa Monzón

AGRADECIMIENTOS

La culminación de este trabajo de suficiencia profesional fue posible gracias a las personas que me apoyaron, confiaron y apostaron por mí desde el primer momento en que decidí realizarlo.

Por ello, quiero dedicar las siguientes líneas de agradecimiento:

A mi madre, por su amor infinito, su apoyo incondicional, y por ser el motivo a seguir adelante.

A mi padre, por el apoyo constante y comprensión.

A Mayra Quispe, mi compañera de vida, fuente de apoyo y motivación para seguir creciendo en todo ámbito. Por su fortaleza, perseverancia y sabiduría en todo momento.

A MSc. Johnny Percy Ambulay Briceno, por la paciencia, por la enseñanza integral brindada para el desarrollo de este TSP, por su disposición y calidad de persona.

A Facundo y Valeria, por ser la ventana de escape del día a día, de los problemas, y apoyarme a su manera, con su amor de hermanos.

ANÁLISIS DE LOS DATOS DE UN TRATAMIENTO TÉRMICO PARA ASEGURAR LA INOCUIDAD DE UN LICUADO ACIDIFICADO DE ACEITUNAS VERDES Y NEGRAS (*Olea europaea*), TAPENADE

ORIGINALITY REPORT

9%

SIMILARITY INDEX

9%

INTERNET SOURCES

2%

PUBLICATIONS

1%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1

[idoc.pub](#)

Internet Source

1%

2

[es.scribd.com](#)

Internet Source

1%

3

[slideplayer.es](#)

Internet Source

1%

4

[tesis.ucsm.edu.pe](#)

Internet Source

1%

5

[www.kerwa.ucr.ac.cr](#)

Internet Source

<1%

6

Wanessa Vieira Marques, Vitor Alves Cruz, Jozelia Rego, Nilzio Antonio da Silva. "Influência das comorbidades na capacidade funcional de pacientes com artrite reumatoide", Revista Brasileira de Reumatologia, 2016

Publication

<1%

[www.sedesol.gob.mx](#)

TABLA DE CONTENIDO

| | | |
|--------|--|----|
| 1. | RESUMEN | 1 |
| 2. | ABSTRACT | 2 |
| 3. | INTRODUCCION..... | 3 |
| 4. | OBJETIVOS | 6 |
| 4.1. | Objetivo general | 6 |
| 4.2. | Objetivos específicos..... | 6 |
| 5. | ANTECEDENTES | 7 |
| 6. | JUSTIFICACIÓN | 8 |
| 7. | METODOLOGÍA | 9 |
| 7.1. | Descripción del producto: Licuado acidificado de aceitunas verdes y negras, tapenade | 9 |
| 7.2. | Etapas del flujo de proceso del licuado de aceitunas negras y verdes acidificado.. | 10 |
| 7.3. | Letalidad objetivo y obtención de datos de la letalidad del licuado acidificado de aceitunas verdes y negras: | 13 |
| 7.3.1. | Establecimiento de la letalidad objetivo (Valor F): | 13 |
| 7.3.2. | Obtención de datos de letalidad: | 17 |
| 7.4. | Monitoreo del tiempo de vida útil y descripción de la esterilidad comercial | 18 |
| 7.5. | Análisis de datos | 19 |
| 8. | RESULTADOS..... | 20 |
| 9. | DISCUSIÓN..... | 30 |
| 10. | CONCLUSIONES | 34 |
| 11. | RECOMENDACIONES | 35 |
| 12. | REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 36 |
| 13. | ANEXOS | 38 |

1. RESUMEN

La aceituna no se puede consumir directamente luego de su cosecha, debido a la presencia de la oleuropeína, compuesto fenólico, que le brinda un amargor; el cual, se debe disminuir mediante un tratamiento posterior a su cosecha. De acuerdo al Consejo Oleícola Internacional existen dos tipos de procesos para tratar la aceituna de mesa: el primero consiste en usar la fermentación, mientras que el segundo solo utiliza salmueras

La Industria Alimentaria posee como reto diario la optimización de procesos y recursos; específicamente, en la agroindustria de las aceitunas, hay un porcentaje de todo el volumen procesado que se convierte en subproducto (merma), aceitunas rotas, con mal corte, blandas, etc. Existen distintos tipos de preparaciones untables a base de aceituna, que se pueden elaborar para el aprovechamiento de mermas. Frente a ello, se desarrolla el tapenade; el cual, es un licuado untable de aceitunas negras y verdes acidificado.

El área de Investigación y Desarrollo de una empresa se encarga de la generación de nuevos productos, abarcando desde la formulación hasta la revisión y diseño del empaque primario y secundario. A su vez, asegura el tiempo de vida útil e inocuidad del producto. Uno de los métodos para cumplir tal objetivo es la aplicación de un tratamiento térmico, que a su vez permite la conservación de los alimentos mediante la eliminación de microorganismos patógenos y disminución de microorganismos alterantes.

El presente trabajo se desarrolló en una empresa procesadora y envasadora de aceitunas; en la cual, se planteó como objetivo, analizar los datos de una validación de tratamiento térmico que permita obtener un producto inocuo, y por lo tanto exportable; con la ayuda de controles externos (análisis de esterilidad comercial) e internos (pH, acidez, porcentaje de cloruros y análisis de mohos y levaduras), para demostrar la efectividad del mismo.

Palabras clave: aceituna, oleuropeína, fermentación, tratamiento térmico, alimentos acidificados.

2. ABSTRACT

Olives cannot be consumed directly after harvesting due to the presence of oleuropein, a phenolic compound that gives them the bitter taste. This bitter must be reduced by post-harvest treatment. According to the International Olive Council, there are two types of processes to treat table olives: the first consists of using fermentation, while the second only uses brine.

The Food Industry has as a daily challenge the optimization of processes and resources; specifically, in the olive agroindustry, there is a percentage of the entire processed volume that becomes a by-product (waste), broken olives, badly cut olives, soft olives, etc. There are different types of olive-based spreadable preparations, which can be elaborated for the use of these olives by-products. Tapenade, which is an acidified spreadable form of black and green olives (chopped), has been developed.

The Research and Development area of a company is responsible for the generation of new products, ranging from formulation to the revision and design of primary and secondary packaging. At the same time, it ensures the shelf life and safety of the product. One of the methods to achieve this objective is the application of heat treatment, which in turn allows the preservation of food by eliminating pathogenic microorganisms and reducing the number of altering microorganisms.

The present work was carried out in an olive processing and packing company. The objective was to analyze the data of a heat treatment validation that allows obtaining a safe product, and therefore exportable. External (commercial sterility analysis) and internal controls (pH, acidity, percentage of chlorides and analysis of molds and yeasts) have been done, in order to demonstrate the effectiveness of the heat treatment.

Keywords: Olives, oleuropein, fermentation, heat treatment, acidified food, acidified foods.

3. INTRODUCCION

La aceituna es uno de los vegetales fermentados más antiguos de la zona mediterránea. Investigaciones calculan que su cultivo inició hace aproximadamente seis mil años en el oriente próximo, y luego fue expandiéndose con los griegos, romanos y hebreos. Su llegada hacia los demás continentes se debió a la colonización y presencia de padres franciscanos españoles en diversas partes del mundo (1).

Más allá de su importancia económica para diversos países en occidente (España, Grecia, Italia, Portugal, Egipto, Turquía) y en América (Perú, Argentina, Chile, Uruguay y Brasil) (2) las aceitunas son consideradas como uno de los alimentos saludables más importantes en la dieta mediterránea, debido a su alto contenido de compuestos bioactivos, tales como grasas monoinsaturadas (ácido oleico) y compuestos antioxidantes (oleuropeína), que ayudan a preservar la salud (3).

La aceituna no se puede consumir directamente luego de su cosecha, debido a la presencia de la oleuropeína (4), compuesto fenólico, que le brinda un amargor; el cual, se debe disminuir mediante un tratamiento posterior a su cosecha.

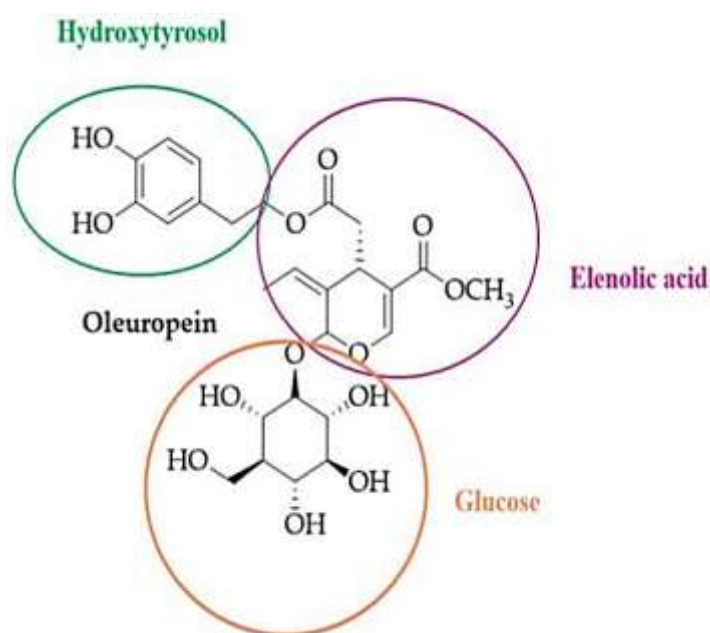


Figura 1: Estructura química de la oleuropeína (3)

De acuerdo al Consejo Oleícola Internacional existen dos tipos de procesos para tratar la aceituna de mesa: el primero consiste en usar la fermentación, mientras que el segundo solo utiliza salmueras (5).

Uno de los métodos más utilizados para disminuir el amargor de la aceituna verde, es el estilo español; el cual, consiste en un tratamiento alcalino del fruto, previo a la fermentación. Finalmente se utilizan salmueras y se acidifica la misma para brindarle un sabor característico (6).

Este método varía de acuerdo al nivel de maduración de la misma. Para las aceitunas “verdes”, se toma en cuenta la variedad de la misma y el estado de maduración, esto con la finalidad de determinar la concentración de soda cáustica requerida para el proceso de sodado (tratamiento alcalino, que tiene como objetivo la hidrólisis de la oleuropeína). Dicha concentración es controlada para saber el grado de penetración de la soda en la aceituna a lo largo del proceso; así como el tiempo de sodado, el cual dura en promedio entre 8 y 12 horas (6).

Luego del sodado se procede a retirar la solución de soda cáustica, para agregar agua hacia los tanques con aceituna, proceso denominado “enjuague”, tiene que correr el agua por varios minutos. Termina el enjuague y se procede con el lavado; es decir, se llenan los tanques con agua por doce horas. Transcurrido este tiempo, se agrega una solución de cloruro de sodio y una dosis de ácido clorhídrico de acuerdo a la cantidad de solución total, de tal manera que se neutralicen los posibles restos de soda, tanto en el tanque, como en las aceitunas (6).

Finalmente se lleva a cabo la fermentación, proceso natural, en el cual, a medida que transcurre el tiempo, los valores de pH bajan y los valores de acidez empiezan a subir. En el caso del color de las aceitunas verdes, ésta tiende a aclararse. El tiempo de fermentación mínimo en la aceituna verde es de tres meses. Este tiempo es relevante;

debido a que, si no se deja completar un tiempo de fermentación óptimo, la lejía residual formada por la soda, no sería neutralizada completamente por la acidificación generada en la fermentación. Otra razón por la cual, se debe cumplir tal tiempo, es para que los azúcares del fruto sean metabolizados completamente (7).

En los inicios de la Industria Alimentaria permaneció desconocida la causa del deterioro de los alimentos. En este contexto, se reporta la existencia de distintas teorías que intentaban explicar tal fenómeno, como la de Nicolás Appert, en 1810, quien descubrió que los alimentos envasados en frascos de vidrio, sellados con corcho y esterilizados en agua hirviendo, lograban durar más tiempo sin descomponerse (8) (9). En 1860, Louis Pasteur demostró que ciertos microorganismos eran responsables de la fermentación y la descomposición de los alimentos (10). Sin embargo, no es hasta 1895, que el Instituto de Tecnología de Massachusetts demostró en sus investigaciones sobre microbiología de los alimentos, que el misterio aparente del deterioro de los alimentos en conserva, era resultante de una insuficiente aplicación del calor para la eliminación de los microorganismos (11).

Se han requerido varios años de estudio para poder determinar la temperatura óptima, el tiempo de proceso y otros parámetros necesarios para garantizar la esterilidad de una conserva; es decir, la esterilidad comercial. Gracias a la aplicación de conocimientos sobre microbiología de alimentos, físico-química de los alimentos y sistemas de procesamiento, es que se ha obtenido la base para poder determinar y diseñar un determinado tipo de tratamiento térmico.

Entonces, un tratamiento térmico es un método que consiste en controlar la temperatura del medio, mediante la aplicación de calor por un periodo de tiempo determinado, con la finalidad de eliminar o inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos y/o alterantes (12). La severidad de un tratamiento térmico puede ser determinada por el pH

del alimento en la conserva; ya que existe una clasificación de acuerdo al pH del mismo. A los alimentos en conserva con un pH mayor a 4.5 y menor a 7, se les denomina de baja acidez, mientras que los alimentos en conserva con un pH menor a 4.5, se les conoce como alimentos acidificados (12). Para cada tipo, el objetivo del tratamiento térmico aplicado es distinto. En los alimentos de baja acidez, se busca la destrucción de bacterias patogénicas, y en los acidificados, la destrucción de los microorganismos alterantes y/o desactivación de enzimas que provocan el deterioro del producto (12).

De acuerdo a lo expuesto, para que los productos en conserva puedan obtener el tiempo de vida útil deseado, la esterilidad comercial (inocuidad), y así cumplir con la normativa nacional (13) e internacional (14), se debe tener en cuenta la naturaleza del producto (conserva); de tal manera, que se pueda diseñar el tratamiento térmico adecuado.

En el proyecto, se evalúan los factores propios del producto (licuado acidificado de aceitunas verdes y negras, tapenade), que influyen para el establecimiento de un tratamiento térmico, se describen los datos generados en la validación del mismo; es decir, la letalidad obtenida a pH 3.60. A su vez, se presentan resultados correspondientes a evaluaciones del monitoreo de la vida útil y la esterilidad comercial del producto.

4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

- Analizar los datos del tratamiento térmico para asegurar la inocuidad de un licuado acidificado de aceitunas verdes y negras, tapenade.

4.2. Objetivos específicos

- Describir los cálculos de letalidad a pH 3.60 de un licuado acidificado de aceitunas verdes y negras.
- Monitorear el tiempo de vida útil de un licuado acidificado de aceitunas verdes y negras a partir de los datos de pH, acidez y cloruros.

- Describir la esterilidad comercial de un licuado acidificado de aceitunas verdes y negras a partir de los datos de recuentos de mesófilos y termófilos.

5. ANTECEDENTES

El desarrollo de lineamientos, en base a normativas o regulaciones de alguna entidad internacional; en la cual, expliquen el tipo de tratamiento térmico aplicado sobre los alimentos en conserva; se ha llevado a cabo solo para un grupo de productos y procesos; es decir, los denominados tratamientos térmicos “safe harbors”.

Por ejemplo, las 12 reducciones decimales (12D) de *Clostridium botulinum* en conservas con alimentos de baja acidez, es el tratamiento térmico que se utiliza para reducir el número de esporas de esta bacteria, responsable de la formación de la toxina botulínica (causante del botulismo) (15). A su vez, se han descrito algunos métodos de pasteurización para almendras en conserva (16), y la pasteurización de la leche (17) (18). A diferencia de los alimentos de baja acidez, que requieren tratamientos térmicos severos para exterminar las esporas de *Clostridium botulinum*, los procesos para los alimentos acidificados, dependen del pH para prevenir que las esporas de este microorganismo puedan germinar (12).

Para alimentos en conserva con un pH de 4.5 o menos, de acuerdo a las investigaciones realizadas, se ha definido que el tratamiento térmico aplicado debe asegurar el control de *Bacillus coagulans* var. *Thermoacidurans* (19).

El segundo grupo de microorganismos que deben controlarse en productos acidificados, son los siguientes patógenos acidotolerantes de interés, *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella entérica* y *Listeria monocytogenes*, para los cuales se debe llevar a cabo una reducción de 5 ciclos logarítmicos (20) (21).

6. JUSTIFICACIÓN

De acuerdo a lo mencionado, existen lineamientos para ciertos tipos de productos y procesos; sin embargo, no todas las empresas de alimentos manufacturan los mismos productos; por ende, se necesitan diseñar medidas de control para los productos que no tienen establecido un proceso estándar; y así cumplan con la normativa vigente, de tal manera que se puedan comercializar (15).

Debido a que el producto evaluado (licuado de aceitunas negras y verdes) en este trabajo de suficiencia profesional es considerado una conserva acidificada, no es necesario aplicar un tratamiento térmico extremo (22). Los alimentos acidificados generalmente se someten a pasteurización; el cual es un tipo de tratamiento térmico moderado; ya que las temperaturas aplicadas sobre el producto son menores a 100°C (12). No obstante, a su vez, el tratamiento térmico para este tipo de productos, comprende un proceso de llenado y retención en caliente (Hot-Fill-Hold); en el cual, implica envasar el alimento caliente, sellarlo y mantenerlo a cierta temperatura por un periodo de tiempo determinado (15).

Todos los procesadores de alimentos en conservas (acidificados y de baja acidez) deben registrar cada producto que elaboran; es decir, el flujo de proceso para tal producto, con la Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA, por sus siglas en inglés) (14). Este registro de información sobre los procesos, debe estar sustentado por un estudio y/o informe; el cual, confirme que se llega a la letalidad necesaria para controlar los microorganismos correspondientes al tipo de alimento en conserva.

Por lo tanto, es obligatorio para las empresas de alimentos evaluar la viabilidad de los tratamientos térmicos que aplican sobre sus productos, con el objetivo de cumplir con la normativa internacional y a su vez, generar un valor agregado al producto; ya que, al cumplir con estos requisitos el producto se convierte en exportable (14).

Por ende, el problema a resolver en este trabajo de suficiencia profesional (TSP) es, asegurar la inocuidad de un licuado acidificado de aceitunas verdes y negras (tapenade) mediante el análisis de los datos de su tratamiento térmico. De esta manera, cumplir con la normativa indicada en el “Code of Federal Regulations Title 21, Part 114 – Acidified Foods” (14) y la Norma Sanitaria Aplicable a la Fabricación de Alimentos Envasados de Baja Acidez y Acidificados Destinados al Consumo Humano (13), requisitos obligatorios para la exportación de alimentos en conserva.

7. METODOLOGÍA

7.1. Descripción del producto: Licuado acidificado de aceitunas verdes y negras, tapenade

Los tapenades consisten en la mezcla de diferentes insumos, siendo el principal componente la aceituna. Estos son licuados, luego mezclados y acidificados.

El rango del pH del producto está entre 3.00 – 3.60, porcentaje de acidez entre 0.40 – 1.00 y porcentaje de cloruros entre 2.60 – 3.20.

En base a las formulaciones de los diferentes tapenades que se procesan, se evaluó el producto que tiene una menor consistencia y, en consecuencia, una menor retención de calor. En ese sentido, se escogió el tapenade descrito en la tabla N°1; debido a que representa el “peor escenario”.

Se utilizó el envase más pequeño (130 gramos), que tiene las siguientes dimensiones: 62.5mm de diámetro x 71.3mm altura total.

Tabla 1: Tapenades utilizados para la evaluación del tratamiento térmico.

| PRODUCTO | ENVASE | CAPACIDAD (gr) |
|--------------------------------|------------------|----------------|
| Tapenade de aceitunas al pesto | Frasco de vidrio | 130 |

7.2. Etapas del flujo de proceso del licuado de aceitunas negras y verdes

acidificado

La preparación de los productos señalados se sigue el flujo mostrado en el Anexo I; el cual, se describe a continuación:

- **Recepción:** Las aceitunas son recibidas en planta, en bidones, con un pH que varía entre 3.1 a 4.0.
- **Licuado:** La materia prima a procesar es licuada y guardada en bidones hasta su posterior requerimiento por parte del área de producción.
- **Pesado:** Las aceitunas y los ingredientes a ser utilizados son pesados previamente, según las cantidades a procesar.
- **Mezclado:** Según la formulación del tapenade a procesar, son mezclados los ingredientes, adicionándose el ácido suficiente para lograr que la mezcla tenga un pH que no sea mayor a 3.60.
- **Cocción:** La mezcla ya preparada es cocinada en una marmita con chaqueta de vapor hasta que alcanza una temperatura de 90°C, para luego ser bombeada hacia la envasadora.
- **Envasado, sellado y retención en caliente:** El tapenade es bombeado hacia la dosificadora, la cual llena los envases según su capacidad. La tolva de la citada dosificadora cuenta con un sensor de temperatura, el cual registra, durante el envasado, que la temperatura del producto se encuentra como mínimo en 79°C. A continuación, los envases pasan por un exhauster (el recorrido en el exhauster no es menor a los 18 segundos), para luego ser cerrados en una selladora que cuenta con una cámara de vapor que trata con vapor a 93°C aproximadamente por 4 segundos, tanto en la superficie interna de la tapa, como en el espacio de cabeza del envase. Los envases ya sellados

continúan su recorrido por una banda transportadora hasta llegar a un túnel de enfriamiento con agua. El tiempo transcurrido desde que el envase ha sido llenado hasta el momento en que inicia el enfriamiento es de aproximadamente 2 minutos con 48 segundos.

Es en la etapa de retención en caliente en la cual el producto gana la letalidad requerida para garantizar su esterilidad comercial, por el hecho de mantenerse a una temperatura mínima lo suficiente para lograr una reducción de 5 ciclos logarítmicos tanto de microorganismos patógenos, como de alterantes.

- **Enfriamiento:** El enfriado se realiza con agua en un túnel de enfriamiento, a fin de poder alcanzar una temperatura final del producto de aproximadamente 40 a 45°C. Esta etapa de enfriamiento es importante para eliminar el riesgo de crecimiento de microorganismos termófilos que pueden afectar sensorialmente a los productos evaluados.

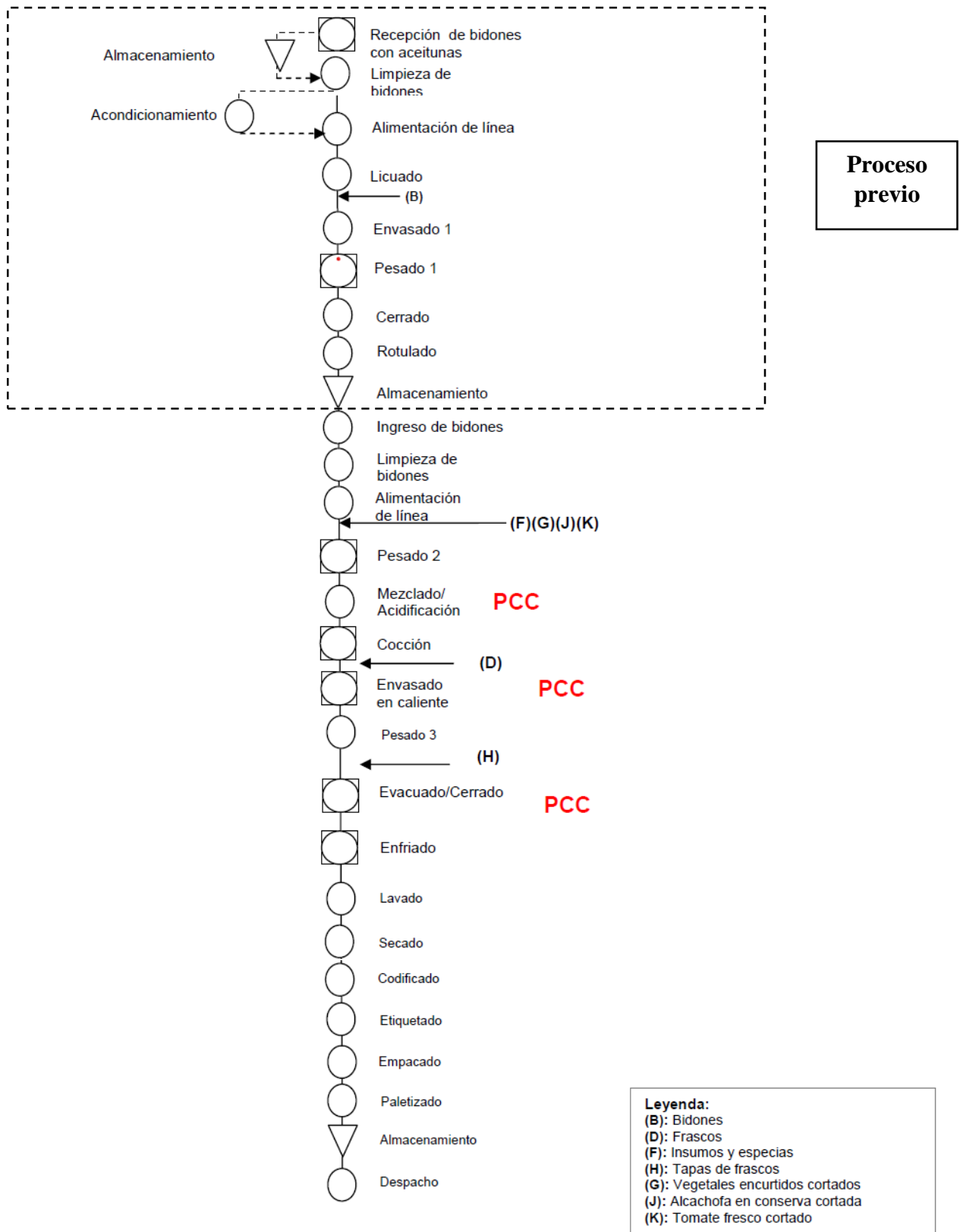


Figura 2: Flujo de proceso para Tapenades

7.3. Letalidad objetivo y obtención de datos de la letalidad del licuado

acidificado de aceitunas verdes y negras:

7.3.1. Establecimiento de la letalidad objetivo (Valor F):

- Para entender los parámetros de letalidad objetivo (valor F) establecidos para este producto, se deben tener en cuenta, los siguientes conceptos previos:

- Cinética de destrucción microbiana:

- Cuando las bacterias se exponen al calor, la sobrevivencia de éstas, se puede describir con la siguiente ecuación (cinética de primer orden):

$$N = N_0 e^{-kt}$$

Donde:

N = Número de células sobrevivientes, (UFC/ml)

N₀ = Número de células iniciales, (UFC/ml)

K = Velocidad de destrucción térmica

t = Tiempo (min)

- Linealizando la ecuación de sobrevivencia, quedaría:

$$\text{Log}N = \text{log}N_0 - \left(\frac{K}{2.303}\right)t$$

- Cumpliendo la siguiente gráfica:

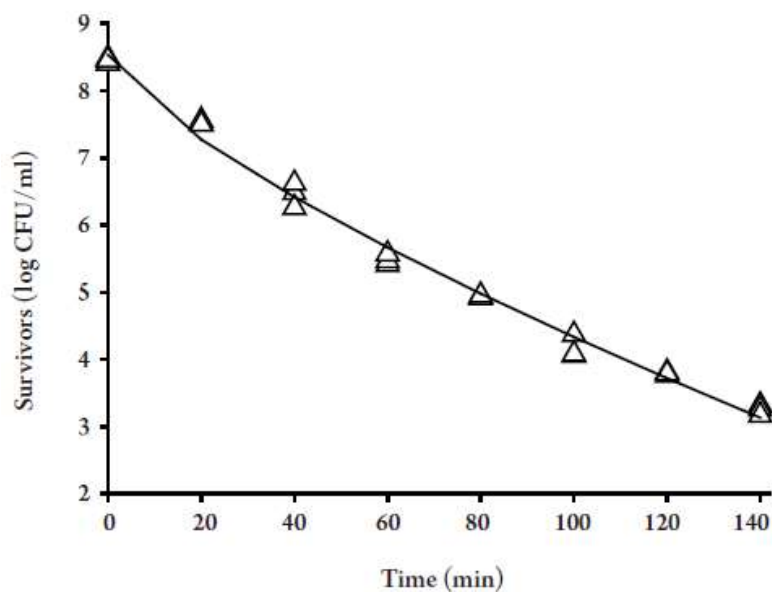


Figura 3: Gráfico de supervivencia vs tiempo para E. coli O157:H7 en una solución (líquido de gobierno) con 0.6% de ácido acético, 4.6 de pH y a 56°C (15).

- Tiempo de reducción decimal (D_T)

Se refiere al tiempo (a una temperatura constante) requerido para reducir la población microbiana 10 veces, un ciclo logarítmico o el 90% de la población.

Representado por la siguiente figura:

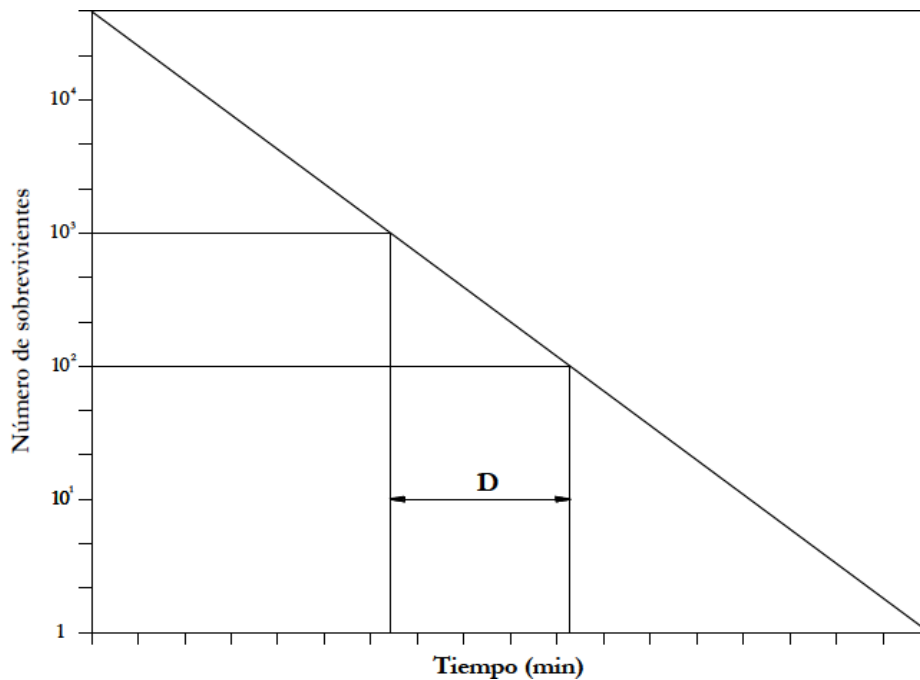


Figura 4: Representación gráfica del tiempo de reducción decimal “D” en la curva de microorganismos sobrevivientes típica (15).

- Entonces, se tiene la ecuación de supervivencia:

$$\text{Log}N = \text{log}N_0 - \left(\frac{K}{2.303}\right)t$$

- De acuerdo al concepto, la pendiente de la ecuación de supervivencia se puede expresar en función de D:

$$\text{Log}N = \text{log}N_0 - \left(\frac{1}{D}\right)t$$

- Quedando: $D_t = \frac{2.303}{K}$

- Se debe tener en cuenta que a mayor temperatura, menor es el D. Esto se concluye a partir de diversos estudios realizados para conocer el comportamiento de microorganismos, de interés en la industria alimentaria, frente a la temperatura (15).

- Valor Z

El tercer concepto importante es el valor Z o constante de resistencia térmica; el cual se define como el incremento de temperatura requerida para que “D” disminuya un ciclo logarítmico. Se expresa en unidades de temperatura.

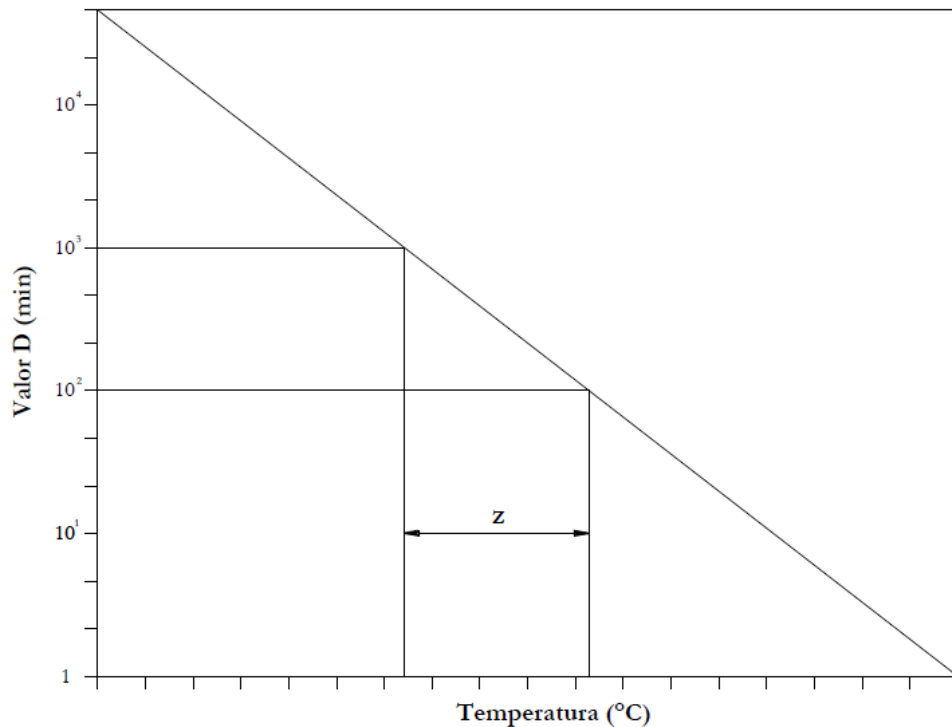


Figura 5: Representación gráfica del valor “Z” (15).

Caracteriza a las resistencias de las poblaciones microbianas frente a los cambios de temperatura. A su vez, un organismo dado tendrá diferentes valores Z en diferentes alimentos.

Por lo tanto, de acuerdo a la figura 5, el valor Z sale de hallar la pendiente de la gráfica en mención:

$$pend = -\frac{1}{Z}$$

Valores Z bajos, indican variaciones o cambios significativos en los componentes con poco cambio de temperatura; es decir, existe una gran dependencia de la misma.

Y valores Z altos, indican la necesidad de cambios grandes en la temperatura para afectar algún componente; por ende, posee una alta resistencia hacia la misma.

- Valor F

Teniendo en cuenta que D_T es el tiempo necesario para reducir un 90% la población microbiana.

El valor F es un múltiplo de D_T ; ya que representa el tiempo requerido para reducir la carga microbiana por un múltiplo de D_T . Este valor F es específico para una temperatura y un microorganismo objetivo. Se debe indicar la temperatura a la cual se calculó y el valor Z del microorganismo objetivo, representado de la siguiente manera, $F_{T_{ref}}^Z$.

Para llegar al valor F, primero se halla la letalidad (L), conocida como la velocidad de destrucción de microorganismos a la temperatura T, expresada en términos de temperatura de referencia T_{ref} , es decir:

$$L = 10^{\frac{(T-T_{ref})}{Z}}$$

Luego, tenemos que para el cálculo del valor F o F_T , va a expresarse de la siguiente manera:

$$F_T = \int_0^t 10^{\frac{(T-T_{ref})}{Z}} dt$$

Entonces F_T , quiere decir que los minutos equivalentes de un proceso térmico van a ser igual al valor integrado bajo la curva de L vs t.

En otras palabras, el valor F, es el número de minutos a una temperatura específica requeridos para destruir un número específico de organismos con un valor Z específico (23).

- Temperatura de Referencia

La temperatura de referencia es establecida de acuerdo a la bibliografía acumulada con los estudios de cinética de destrucción térmica para diferentes microorganismos; por lo tanto, la temperatura de referencia es específica para cada microorganismo objetivo (15).

- Se ha considerado una temperatura de referencia de 93.33°C (200°F) y un valor Z de 8.8°C (16°F) para el control del *Bacillus coagulans var. thermoacidurans* en productos acidificados (19), tal y como se aprecia en la tabla 2.
- Con respecto al control de los patógenos acidotolerantes, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* y *E. coli*, se ha considerado una temperatura de referencia de 71.1°C (160°F) y un valor Z de 10.83°C (19.5°F) (21) tal y como se aprecia en la tabla 2.

Tabla 2: Valores F objetivos de acuerdo al pH y microorganismo a controlar

| Microorganismos objetivo | A pH: 3.60 | Valor F |
|--|-------------------------|---------|
| <i>Bacillus coagulans var. thermoacidurans</i> | F _{8.8/93.33} | 0.007 |
| <i>Salmonella, Listeria monocytogenes</i> y <i>E. coli</i> | F _{10.83/71.1} | 1.2 |

7.3.2. Obtención de datos de letalidad:

Para la obtención de los datos de temperatura en el tiempo se utilizó un set conformado por cables tipo T (cobre-constantan) de grado 22 (marca Ecklund-

Harrison Technologies, Fort Myers, Florida, USA) con “uniones calientes” soldadas. Se emplearon 5 cables tipo T, colocados en las tapas de los envases, para monitorear la temperatura del nivel superior del producto (zona más fría).

La recolección de datos fue realizada con el Software de Procesamiento Térmico de TechniCAL CalSoft5. Dicho software dirige la unidad recolectora de datos (CALPlex™) para que detecte las termocuplas disponibles y recolecte los datos de temperatura a intervalos predeterminados. Los datos de tiempo/temperatura fueron recolectados cada 10 segundos en las pruebas realizadas. De tal manera, que permita obtener los datos de letalidad alcanzados, mediante el software.

Los productos evaluados fueron procesados siguiendo lo establecido en la producción regular (flujo de proceso ya descrito).

Se fueron retirando 5 muestras de producto de la línea de producción, inmediatamente después de que los envases hubieran salido del exhauster, a diferentes intervalos de tiempo, desde el inicio del proceso (cuando la marmita de cocción estaba llena) hasta los últimos envases, a los cuales se procedió a medir la temperatura con el equipo Calplex™.

Las repeticiones se realizaron de la siguiente manera:

- Para el producto tapenade al pesto, se realizaron un total de 7 repeticiones; es decir, un total de 35 muestras fueron evaluadas.

7.4. Monitoreo del tiempo de vida útil y descripción de la esterilidad comercial

- **Seguimiento del tiempo de vida útil**

La vida útil de un alimento, se define como el periodo de tiempo en el cual, permanece inocuo, cumpliendo con las características sensoriales, físico-químicas y biológicas, siempre y cuando se asegure las condiciones de almacenamiento indicadas en el etiquetado (24).

La calidad engloba muchos aspectos del alimento como sus características físicas, químicas, microbiológicas, sensoriales, nutricionales y referentes a inocuidad.

En el instante en que alguno de estos parámetros se considera como inaceptable el producto ha llegado al fin de su vida útil. Este período depende de muchas variables, entre ellas; la formulación, el proceso, el envasado y las condiciones de almacenamiento.

En este caso, se realizó un seguimiento en tiempo real, de los siguientes parámetros, pH, porcentaje de acidez y porcentaje de cloruros.

- **Descripción de la esterilidad comercial**

El tapenade es un producto envasado; es decir, está contenido en un recipiente (frasco de vidrio) herméticamente cerrado y luego sometido a un tratamiento térmico, suficiente para destruir o inactivar cualquier microorganismo dañino (a determinado pH) para la salud de las personas, que pudiera desarrollar en condiciones de almacenamiento a temperatura ambiente o durante su distribución, a eso se refiere la esterilidad comercial.

Por lo tanto, la evaluación de la esterilidad comercial del tapenade fue realizada en un laboratorio acreditado por INACAL. Se inocula 1-2 g/ml del producto en dos tipos de caldos de cultivo, caldo extracto de malta y caldo ácido, para evaluar el crecimiento de mesófilos (a 30°C) por 96 horas y termófilos (a 55°C) por 48 horas, respectivamente.

7.5. Análisis de datos

- **Recolección de datos**

Los datos del tratamiento térmico evaluado fueron obtenidos en una empresa que procesa aceitunas, Empresas Nobex S.A.; durante la producción de un

lote completo de los productos evaluados. Para lo cual, previamente a la presentación de los datos, se pidió el permiso correspondiente.

- **Procesamiento de datos**

Se propone realizar un análisis descriptivo de las variables presentadas, tales como media y desviación estándar.

Para el análisis inferencial, se propone un análisis de regresión lineal múltiple, previamente se corroborará la normalidad de los residuos y el VIF (factor de la inflación de la varianza).

Un valor p menor a 0.05, es considerado como significativo, mediante la utilización del software Stata versión 17.

8. RESULTADOS

- **Análisis de los cálculos de letalidad a pH 3.60 de un licuado acidificado de aceitunas verdes y negras.**

Se llevó a cabo el análisis de regresión lineal para los cálculos de letalidad del tapenade, a un pH de 3.6.

En la tabla 3, para el $F_{8,8/93,33}$ (0.007), correspondiente al microorganismo objetivo *Bacillus coagulans* var. *Thermoacidurans*, se observa una relación directa entre la temperatura y la letalidad. En otras palabras, por cada grado de temperatura que aumenta, la letalidad aumenta en 0.006832, ajustado al tiempo en segundos ($p = 0.000$).

Asimismo, se ajustó el modelo según la siguiente condición, cuando la letalidad es mayor o igual a 0.007 y se haya alcanzado una temperatura mayor a 70°C. Es decir, a una letalidad alcanzada mayor o igual a 0.007, por cada grado de temperatura (mayor a 70°C) que aumenta, la letalidad aumenta en 0.0106609, a su vez ajustado al tiempo en segundos ($p = 0.000$).

Con respecto al segundo grupo de microorganismos, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* y *E. coli*, también se observa una relación directa entre la temperatura y la letalidad; ya que, por cada grado que aumenta, la letalidad aumenta en 0.8108135, ajustado al tiempo en segundos ($p = 0.000$).

A su vez, se ajustó el modelo con la siguiente condicional, cuando la letalidad es mayor o igual a 1.2 y se haya alcanzado una temperatura mayor a 70°C. Entonces, a una letalidad alcanzada mayor o igual a 1.2, por cada grado de temperatura (mayor a 70°C) que aumenta, la letalidad aumenta en 2.185407, ajustado al tiempo en segundos ($p = 0.000$).

Tabla 3: Predicción de la letalidad por la temperatura en un licuado acidificado de aceitunas verdes y negras, tapenade, a pH 3.6 para F_{8.89/93.33}.

Elaboración propia.

| Variable | Letalidad (F _{8.8/93.33}) | | | | | |
|--|-------------------------------------|-------|-------------------------|------------------------------|-------|-------------------------|
| | Modelo Crudo | | | Modelo Ajustado ^a | | |
| Microorganismo objetivo: <i>Bacillus coagulans</i> var. <i>thermoacidurans</i> | β (IC 95%) | p | R ² ajustado | β (IC 95%) | p | R ² ajustado |
| Temperatura | 0.00673 (0.00589 a 0.00757) | 0.000 | 0.48 | 0.00683 (0.00605 a 0.00761) | 0.000 | 0.56 |
| Temperatura* | 0.01093 (0.00922 a 0.01265) | 0.000 | 0.64 | 0.01066 (0.00911 a 0.01221) | 0.000 | 0.71 |

^aModelo ajustado al tiempo en segundos

*Modelo condicionado con letalidad ≥ 0.007 y Temperatura > 70°C

Tabla 4: Predicción de la letalidad por la temperatura en un licuado acidificado de aceitunas verdes y negras, tapenade, a pH 3.6 para

F_{10.93/71.1}. Elaboración propia.

| Variable | Letalidad (F _{10.93/71.1}) | | | | | |
|---|--------------------------------------|-------|-------------------------|------------------------------|-------|-------------------------|
| | Modelo Crudo | | | Modelo Ajustado ^a | | |
| Microorganismos objetivo: <i>Salmonella</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>E. coli</i> | β (IC 95%) | p | R ² ajustado | β (IC 95%) | p | R ² ajustado |
| Temperatura | 0.81640 (0.72699 a 0.90581) | 0.000 | 0.42 | 0.81081 (0.72778 a 0.89385) | 0.000 | 0.50 |
| Temperatura* | 2.01355 (1.76434 a 2.26276) | 0.000 | 0.58 | 2.18541 (2.01015 a 2.36067) | 0.000 | 0.79 |

^aModelo ajustado al tiempo en segundos

*Modelo condicionado con letalidad ≥ 1.2 y Temperatura $> 70^{\circ}\text{C}$

- **Seguimiento de valores de pH, porcentaje de acidez y porcentaje de cloruros.**

Cabe resaltar que el establecimiento de vida útil, se tuvo en cuenta, la naturaleza del producto y el tratamiento térmico aplicado sobre el mismo. Al ser una conserva, la duración en el mercado, para productos similares es de dos años (referencia). Por lo tanto, la evaluación de los tres parámetros fisicoquímicos (valores de pH, porcentaje de acidez, y porcentaje de cloruros) se realizó un seguimiento durante 24 meses en total.

Cada dos meses se obtuvo el resultado a partir de 10 muestras, siendo el promedio, las que se pueden apreciar en las figuras 5, 6 y 7.

Asimismo, durante el seguimiento de los 24 meses se ha tenido en cuenta las especificaciones técnicas establecidas para el tapenade; es decir, un valor de pH de 3.00 a 3.60, porcentaje de acidez entre 0.40 – 1.00 y porcentaje de cloruros entre 2.60 – 3.20.

Mientras los resultados de pH no sobrepasen 3.60 (punto de corte), el producto se considera estable.

En la figura 5, el valor promedio de pH obtenido durante los meses anteriores a los 24, han sido valores cercanos a los 3.50. No obstante, en el mes 24, coincide con el punto de corte.

Para el caso del porcentaje de acidez, los valores promedio obtenidos se pueden ver en la figura 6. Se puede observar que comienza en 0.50 y va aumentando gradualmente durante los 24 meses; sin embargo, hasta finalizar el seguimiento, este parámetro está dentro de la especificación técnica.

Por último, en la figura 7 se presentan los valores promedio del porcentaje de cloruros. Se puede observar que este parámetro ha sido estable a lo largo de todo

el seguimiento, por debajo del punto de corte, con excepción de los meses 20 y 24; en los cuales, se obtuvieron datos por encima de la especificación técnica.

1. pH

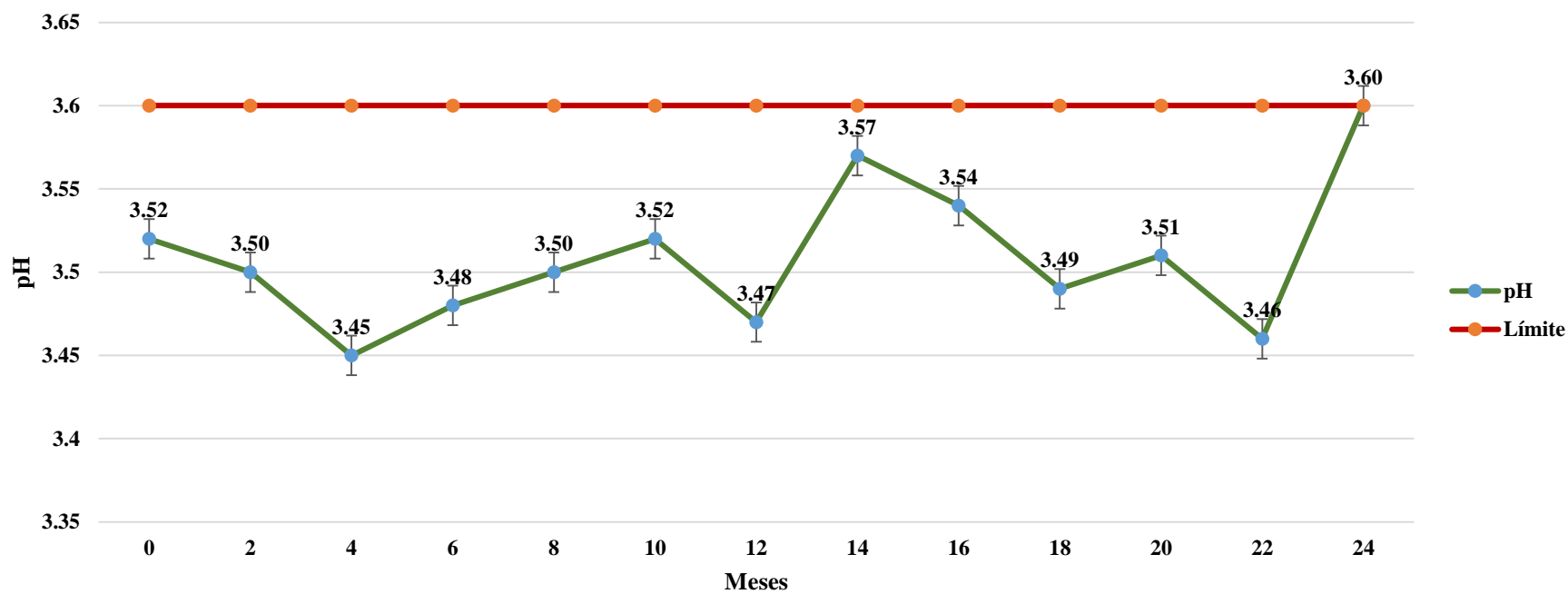


Figura 6: Valores de pH vs el tiempo, teniendo en cuenta el límite de la especificación técnica. Elaboración propia.

2. Porcentaje de acidez:

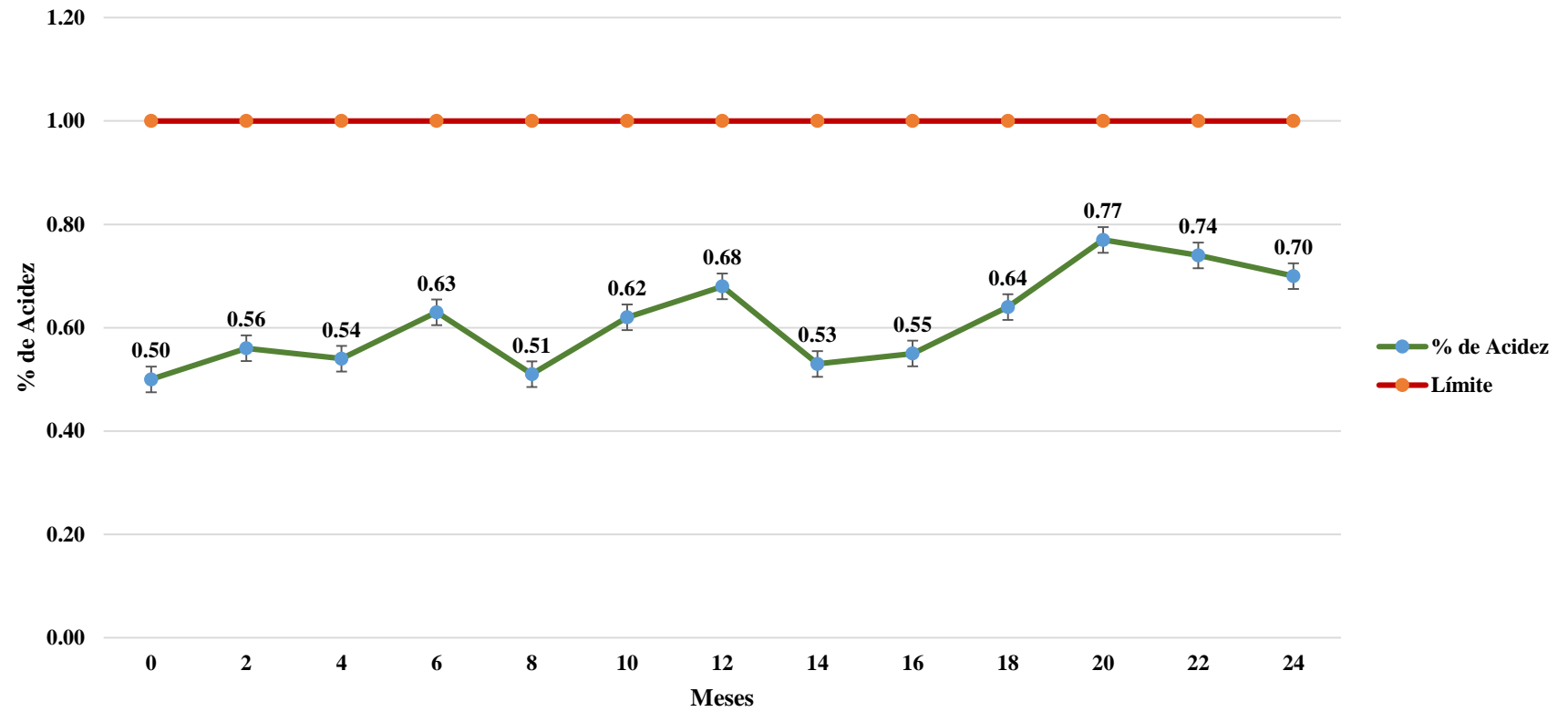


Figura 7: Valores de porcentaje de acidez vs el tiempo, teniendo en cuenta el límite de la especificación técnica. Elaboración propia.

3. Porcentaje de cloruros

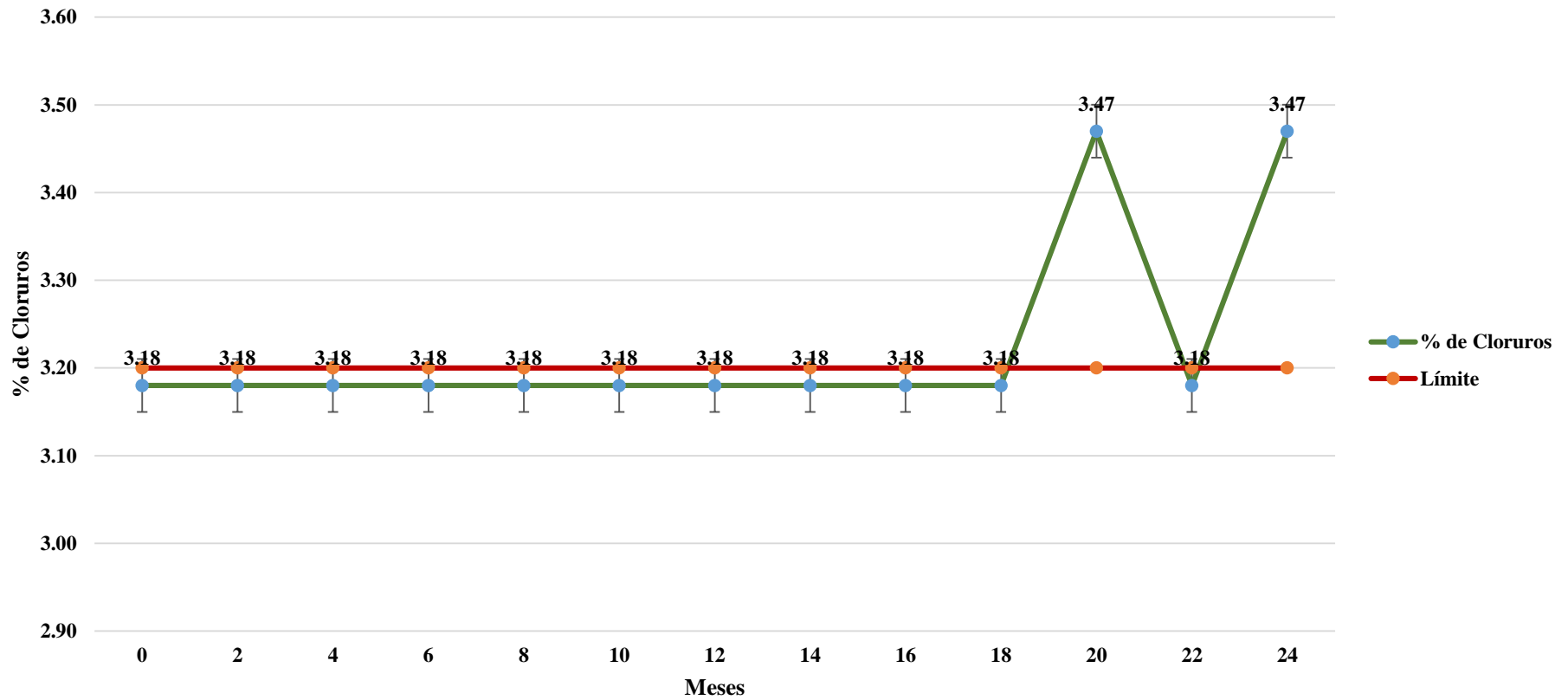


Figura 8: Valores de porcentaje de cloruros vs el tiempo, teniendo en cuenta el límite de la especificación técnica. Elaboración propia.

- **Descripción de la estabilidad comercial de un licuado acidificado de aceitunas verdes y negras.**

Para la evaluación de la esterilidad comercial del tapenade, se mandaron 10 unidades de tapenade al pesto a un laboratorio externo acreditado por INACAL; en el cual, utilizaron entre 1-2 g/ml de muestra en cada medio de cultivo (caldo). Los microorganismos evaluados fueron dos, aerobios mesófilos en caldo ácido y caldo extracto de malta, a 30°C por 96 horas; y aerobios termófilos en caldo ácido a 55°C por 48 horas.

De acuerdo a la tabla 3, no hubo crecimiento en ninguno de los caldos de cultivo, para ningún microorganismo descrito anteriormente. Por ende, el resultado de la evaluación fue conforme. Asimismo, se corrobora tal resultado con el control de incubación que se evalúa a 35°C por 14 días; en el cual, tampoco hubo crecimiento.

Tabla 5: Cuadro resumen del ensayo de esterilidad comercial realizado con un laboratorio externo, certificado por INACAL, para el producto tapenade. Elaboración propia en base al anexo 1.

| Producto evaluado | Cantidad de muestras | pH del producto | Control de incubación | Microorganismos evaluados | | | Resultado |
|-------------------|----------------------|-----------------|-----------------------|---------------------------|-------------------------|-------------|-----------|
| | | | | Mesófilos | | Termófilos | |
| Tapenade al pesto | 10 | 3.565 | Conforme | Caldo ácido | Caldo extracto de malta | Caldo ácido | Conforme |
| | | | | 0 | 0 | 0 | |

9. DISCUSIÓN

El concepto base que explica la relación entre la letalidad y la temperatura (teniendo en cuenta el tiempo) es el crecimiento microbiano; el cual, depende de factores intrínsecos, ambientales e implícitos. Para el tapenade y en general para otros productos en la industria alimentaria, se controló el pH (factor intrínseco) y la temperatura (factor ambiental) (25).

Los microorganismos objetivos se escogieron en base al pH (3.6) del producto. Con respecto a la letalidad, teniendo en cuenta la temperatura necesaria para eliminar tales microorganismos, también considera el pH (25).

El componente más sensible hacia el pH en las células son las proteínas; puesto que cambios moderados del mismo, modifican la ionización de los grupos funcionales de los aminoácidos y alteran los enlaces de hidrógeno, dando lugar a cambios en el plegamiento molecular; y finalmente la desnaturalización de las proteínas (perdiendo su actividad).

En el caso de la temperatura, el crecimiento microbiano se lleva a cabo en un intervalo de temperatura comprendido desde aproximadamente los -8°C hasta los 100°C (a presión atmosférica). Cabe resaltar que ningún organismo aislado es capaz de crecer a todas las temperaturas de este intervalo; ya que, las bacterias generalmente se limitan a crecer dentro de una escala de temperaturas entre los 35°C mientras que los mohos lo hacen a temperaturas algo más bajas, de unos 30°C (26).

Cada microorganismo posee temperaturas mínimas, óptimas y máximas de crecimiento. A estas temperaturas también se les conocen como cardinales (Figura 9); ya que son típicas de un determinado microorganismo (26).

Tal y como se observó en los resultados del análisis de regresión lineal para *Bacillus coagulans* var. *Thermoacidurans*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* y *E. coli*, al haber un aumento de la temperatura también aumenta la letalidad; lo cual permite llegar a la letalidad objetivo establecida para el control de los microorganismos mencionados (25).

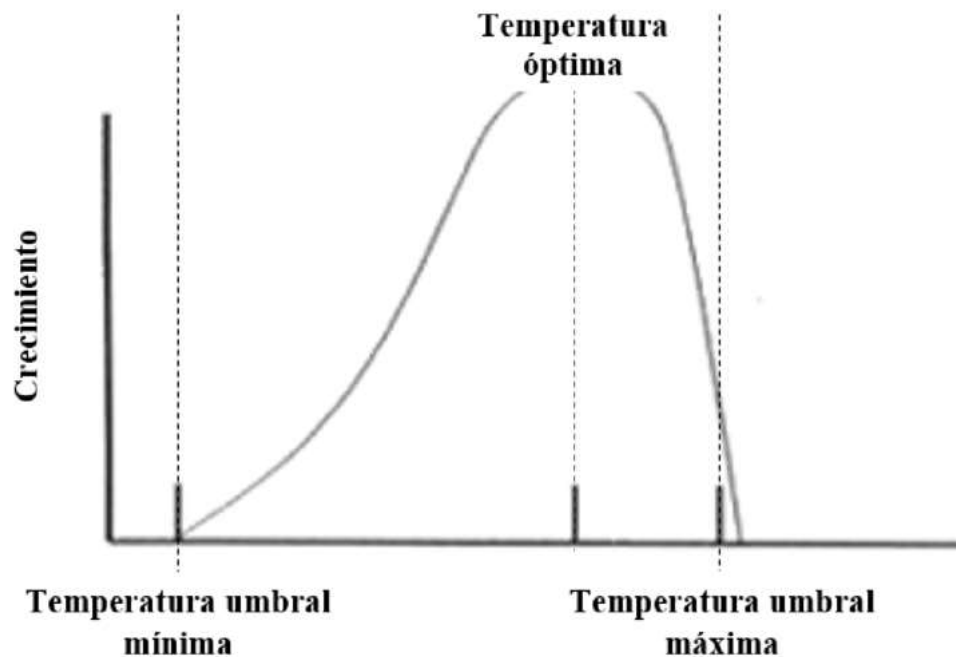


Figura 9: Efecto de la temperatura en la velocidad de crecimiento (26).

El cálculo de la letalidad necesaria para el control de *Bacillus coagulans* var. *Thermoacidurans*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* y *E. coli* se ha realizado en distintas investigaciones donde se han estudiado la resistencia térmica de cada microorganismo, de tal manera que se pueda diseñar un tratamiento térmico que asegure la eliminación de los mismos.

En el caso del *Bacillus coagulans* var. *Thermoacidurans*; es un bacilo gram positivo que tiene la capacidad de formar esporas y puede sobrevivir a ambientes ácidos; por ello, es el microorganismo objetivo para las conservas consideradas como acidificadas (27). De acuerdo a la tabla 3; en la cual se vió la relación directa entre la letalidad y la temperatura, respecto al ajuste con la letalidad mayor o igual a 0.007 y una temperatura mayor a 70°C, también existe una relación significativa estadísticamente. Se tomó en cuenta estos dos aspectos, la letalidad objetivo (punto de corte) es 0.007; por ende, quiere decir que los datos recolectados de temperatura a lo largo del proceso indican que se llega a la letalidad

objetivo; es decir, es un proceso que asegura la inocuidad del producto. Y una temperatura alcanzada mayor a 70°C, ya que, es la recomendación de temperatura (aplicada en procesos térmicos) a la cual debe llegar el centro del envase por unos 2 a 3 minutos, en el caso de conservas acidificadas (27).

Para *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* y *E. coli*, consideradas como patógenas, se han reportado estudios sobre su comportamiento frente al calor, principalmente en salsas de tomate (productos con pH y textura similar al tapenade). Tales investigaciones indican que se necesitan por lo menos 1.2 minutos a una temperatura mayor a 70°C para alcanzar una disminución de 5 unidades logarítmicas de los microorganismos mencionados (21) (20). De acuerdo a la tabla 4; el ajuste con la letalidad mayor o igual a 1.2 y una temperatura mayor a 70°C, existe una relación significativa estadísticamente. Al ser la letalidad objetivo (punto de corte) 1.2; los datos recolectados de temperatura a lo largo del proceso indican que se llega a la letalidad objetivo; es decir, se asegura la inocuidad del producto y se corrobora lo mencionado anteriormente en las investigaciones hechas en salsas de tomate (21) (20) .

En la figura 6, 7 y 8, tal y como se mencionó, se pueden observar los datos correspondientes al seguimiento a lo largo de 24 meses de cada parámetro fisicoquímico de calidad que posee el tapenade. Las conservas generalmente poseen una vida útil de 2 años. Pueden llegar a durar este tiempo; debido a la aplicación del tratamiento térmico (27). El seguimiento del pH es un parámetro común de control, y debido a su importancia ya mencionada es que permite indicar el estado de conservación del producto. Muchos productos acidificados, toman en cuenta el porcentaje de acidez como parámetro indicador de deterioro en su vida útil; debido a que, un cambio del mismo, es evidente a la hora de una prueba sensorial. De acuerdo a la figura 7, se encontró que para la vida útil establecida (24 meses), los parámetros cumplen con las especificaciones; por ende, se

está asegurando el sabor característico del tapenade hasta los 24 meses de vida útil. Finalmente, el porcentaje de cloruros, permite, no solo favorecer los parámetros sensoriales del producto, sino que también es utilizado como conservador. A comparación de otros productos a base de aceituna que poseen salmuera, el tapenade no posee un porcentaje alto de cloruros; debido al tratamiento térmico que recibe; sin embargo, su relevancia radica en el control de sus parámetros sensoriales (23).

La esterilidad comercial es un término asignado a las conservas (alimentos envasados que han recibido un tratamiento térmico), y se refiere al requisito que deben cumplir este tipo de productos, de acuerdo a la normativa nacional (DIGESA) e internacional (FDA).

Según la tabla 5, el tapenade evaluado cumple con la esterilidad comercial; es decir, el tratamiento térmico aplicado eliminó los microorganismos capaces de reproducirse en el alimento bajo condiciones ambientales y de distribución; en otras palabras, los microorganismos alterantes, en este caso, el *Bacillus coagulans var. Thermoacidurans*. También se encargó de eliminar los microorganismos de interés para la salud pública *Salmonella*, *Listeria monocytogenes* y *E. coli*.

La evaluación de la esterilidad comercial fue realizada por un laboratorio externo acreditado por el INACAL. Los microorganismos se evaluaron de acuerdo a su clasificación fisiológica (ver tabla 6), mesófilos y termófilos, ambos cultivados en dos tipos de caldos nutritivos. En microbiología de los alimentos, los microorganismos mesófilos y termófilos usualmente son de principal importancia (28).

Los mesófilos, con óptimos de temperatura de crecimiento en torno a 37°C, generalmente son de origen humano o animal e incluyen algunos de los patógenos de importancia para salud pública; ya que pueden ser transmitidos por alimentos como, por ejemplo, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y *Clostridium perfringens* (28).

Tabla 6: Temperaturas cardinales correspondientes al crecimiento microbiano (28).

| Grupo | Temperatura (°C) | | |
|---|------------------|--------|--------|
| | Mínima | Óptima | Máxima |
| Termófilos | 40-45 | 55-75 | 60-90 |
| Mesófilos | 5-15 | 30-40 | 40-47 |
| Psicrófilos (psicrófilos obligados) | -5 - +5 | 12-15 | 15-20 |
| Psicrótrofos (psicrófilos facultativos) | -5 - +5 | 25-30 | 30-35 |

Es evidente, que a su temperatura óptima los mesófilos crecen rápidamente. Por ello, la alteración de los productos perecederos almacenados en el intervalo de temperaturas correspondientes al crecimiento de los mesófilos es más rápida que su alteración en condiciones de refrigeración.

Por otro lado, se tienen a los termófilos, específicamente, los termófilos esporógenos tales como determinados *Bacillus* y algunas especies de *Clostridium* que, gracias a su capacidad de formar esporas, pueden soportar condiciones ambientales adversas (altas temperaturas) (28).

10. CONCLUSIONES

- Al pH establecido, 3.60, se alcanza la letalidad objetivo para los dos tipos de microorganismos establecidos en el tapenade, manteniendo una temperatura mayor a 70°C por un tiempo mínimo de 2.71 minutos.
- De acuerdo a los resultados de pH, porcentajes de acidez y cloruros, el tapenade es estable durante los 24 meses de vida útil que posee.
- El tapenade cumple con la esterilidad comercial durante los 24 meses de vida útil que posee.

11. RECOMENDACIONES

- Realizar más evaluaciones con respecto al tiempo de retención de la temperatura ($> 70^{\circ}\text{C}$), de tal manera que se puedan proponer mejoras al disminuir el tiempo total del proceso.
- Revisar nuevas metodologías para el monitoreo de la temperatura mediante otro tipo de termocuplas.
- Revisar información de termorrsistencia de los microorganismos objetivos en productos de pH y consistencia similar al producto a evaluar para poder considerar una letalidad objetivo mínima.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bautista-Gallego J, Arroyo-López FN, Bordons A, Jiménez-Díaz R. Editorial: New Trends in Table Olive Fermentation. *Frontiers in Microbiology* [Internet]. 2019 [citado 1 de agosto de 2023];10. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2019.01880>
2. International Olive Council [Internet]. 2022 [citado 23 de julio de 2023]. THE WORLD OF TABLE OLIVES. Disponible en: <https://www.internationaloliveoil.org/the-world-of-table-olives/>
3. Perpetuini G, Prete R, Garcia-Gonzalez N, Khairul Alam M, Corsetti A. Table Olives More than a Fermented Food. *Foods*. 12 de febrero de 2020;9(2):178.
4. Nediani C, Ruzzolini J, Romani A, Calorini L. Oleuropein, a Bioactive Compound from *Olea europaea* L., as a Potential Preventive and Therapeutic Agent in Non-Communicable Diseases. *Antioxidants (Basel)*. 22 de noviembre de 2019;8(12):578.
5. International Olive Council [Internet]. [citado 23 de julio de 2023]. Table olives. Disponible en: <https://www.internationaloliveoil.org/olive-world/table-olives/>
6. de Castro A, Sánchez AH, Cortés-Delgado A, López-López A, Montaña A. Effect of Spanish-style processing steps and inoculation with *Lactobacillus pentosus* starter culture on the volatile composition of cv. Manzanilla green olives. *Food Chemistry*. 15 de enero de 2019; 271:543-9.
7. Cabrera-Bañegil M, Pérez-Navado F, Montaña A, Pleite R, Martín-Vertedor D. The effect of olive fruit maturation in Spanish style fermentation with a controlled temperature. *LWT*. 1 de mayo de 2018; 91:40-7.
8. Nicolas Appert. *Le livre de tous les ménages: ou L'art de conserver, pendant plusieurs ...* [Internet]. Chez Barrois l'ainé ... l'auteur, 1831; [citado 23 de julio de 2023]. 307 p. Disponible en: <http://archive.org/details/lelivredetousle00appegoog>
9. Featherstone S. A review of development in and challenges of thermal processing over the past 200years — A tribute to Nicolas Appert. *Food Research International*. 1 de julio de 2012;47(2):156-60.
10. Amit SK, Uddin MdM, Rahman R, Islam SMR, Khan MS. A review on mechanisms and commercial aspects of food preservation and processing. *Agriculture & Food Security*. 21 de noviembre de 2017;6(1):51.
11. MIT Technology Review [Internet]. [citado 23 de julio de 2023]. Two Happy Clams. Disponible en: <https://www.technologyreview.com/2009/02/24/215536/two-happy-clams/>
12. Podolak R, Black G, Barach JT, Balestrini C, Howell D, Shafer B. *Canned Foods - Principles of Thermal Process Control, Acidification and Container Closure Evaluation*. 2015.

13. Resolución Ministerial N.º 495-2008-MINSA [Internet]. [citado 23 de julio de 2023]. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/minsa/normas-legales/247892-495-2008-minsa>
14. 21 CFR Part 114 -- Acidified Foods [Internet]. [citado 23 de julio de 2023]. Disponible en: <https://www.ecfr.gov/current/title-21/part-114>
15. Ceylan E, Amezquita A, Anderson N, Betts R, Blayo L, Garces-Vega F, et al. Guidance on validation of lethal control measures for foodborne pathogens in foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 2021;20(3):2825-81.
16. Almond Pasteurization Program | Almond Processing Safety [Internet]. [citado 23 de julio de 2023]. Disponible en: <https://www.almonds.com/almond-industry/processors-and-suppliers/processing-safe-product/pasteurization-program>
17. Commission JFCA. Milk and Milk Products. World Health Organization; 2007. 242 p.
18. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service and Food and Drug Administration. Grade «A» Pasteurized Milk Ordinance. 2019.
19. Pflug IJ. *Microbiology and Engineering of Sterilization Processes*, 14 Ed 2010. Environmental Sterilization Laboratory; 2010. 600 p.
20. Dufort EL, Etzel MR, Ingham BH. Thermal Processing Parameters to Ensure a 5-log Reduction of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica*, and *Listeria monocytogenes* in Acidified Tomato-based Foods. *Food Protection Trends*. 1 de noviembre de 2017;37(6):409-18.
21. Breidt F, Sandeep KP, Arritt FM. Use of linear models for thermal processing of acidified foods. *Food protection trends*. 2010;30(5):268-72.
22. Tola YB, Ramaswamy HS. Novel processing methods: updates on acidified vegetables thermal processing. *Current Opinion in Food Science*. 1 de octubre de 2018;23:64-9.
23. Dimou A, Panagou E, Stoforos NG, Yanniotis S. Analysis of thermal processing of table olives using computational fluid dynamics. *J Food Sci*. noviembre de 2013;78(11):E1695-1703.
24. Piergiovanni L, Limbo S. Chapter 4 - Food shelf-life models. En: Accorsi R, Manzini R, editores. *Sustainable Food Supply Chains* [Internet]. Academic Press; 2019 [citado 24 de julio de 2023]. p. 49-60. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128134115000041>
25. Gaze J. Microbiological aspects of thermally processed foods. *Journal of Applied Microbiology*. 2005;98(6):1381-6.
26. Ashenafi M. Thermal Effects in Food Microbiology. En 2012. p. 65-79.
27. Featherstone S. Heat penetration determinations and thermal process calculations. En 2015. p. 43-58.

28. Lorenzo JM, Munekata PE, Dominguez R, Pateiro M, Saraiva JA, Franco D. Main Groups of Microorganisms of Relevance for Food Safety and Stability. Innovative Technologies for Food Preservation. 2018;53-107.

12. ANEXOS

Anexo 1: Informe de ensayo de esterilidad comercial realizado por un Laboratorio externo acreditado por INACAL.

INFORME DE ENSAYO N° 1-02779/21

Página 1/1

Solicitante : **AGRCINDUSTRIAS NOBEX S.A.**
 Domicilio legal : **Av. Los Falsetes 148 Urb. La Campaña - Churillos - Lima - Lima**
 Producto destinado : **TAPENADE PESTO**
 Cantidad de Muestras para el Ensayo : **1 muestra x 10 unidades**
Muestra proporcionada por el solicitante
 Identificación de la muestra : **LOTE: 3239**
 Forma de Presentación : **En envase de vidrio, sellado y a temperatura ambiente**
 Fecha de recepción : **2021-08-02**
 Fecha de inicio del ensayo : **2021-08-05**
 Fecha de término del ensayo : **2021-08-20**
 Ensayo realizado en : **Laboratorio de Física Química - Alimentos / Microbiología (Calle)**
 Identificado con : **HYS 2-001740 (EXAI-02624-2021)**
 Validez del documento : **Este documento es válido solo para la muestra descrita**

Análisis Físico Químico:

| Ensayos | Unidad | Resultados |
|---|----------------|------------|
| Ácidos (Expresado como ácido láctico) | g/100 g | 0.66 |
| Cloruros (Expresado como NaCl) a 18.25 °C | g/100 g | 2.64 |
| | Unidades de pH | 5.32 |

Análisis Microbiológico:

| CONTROL DE INCUBACIÓN | pH | ESTERILIDAD COMERCIAL | | | RESULTADO |
|-----------------------|-------|-----------------------------|------------------|----------|-----------|
| | | Productos Ácidos (pH < 4,6) | | | |
| | | MFSÓFIOS: 30°C | TERMÓFILOS: 55°C | | |
| 30°C / 14-24 h | | C. Ácido | C.E. Malta | C. Ácido | NEGATIVO |
| 30 | 3,985 | 0,112 | 0,112 | 0,112 | |

| Datos del Ensayo | |
|-------------------|--|
| Medios de Cultivo | Productos Ácidos Medios: Caldo Ácido, Caldo Extracto de Malta Termofilos: Caldo Agua |
| Procedimiento | 1-2 g/mL por cada tubo (2 tubos) |

MÉTODOS

Ácidos: NTP 200.073.1977 (revisada el 2019). Productos elaborados a partir de frutas y otros vegetales. Determinación de la acidez.
 Clarancia: AOAC 916.01 c3, 21st Ed. 2018. Orlin Orlin Paris. Volumetric Method I
 pH: AOAC 981.12 c/2, 21st Ed. 2013. pH of Acidified Foods
 Esterilidad Comercial: ILSA/ISAM DK. NE 8 Th. Courier 1995. Revisión A, 1998. January 2001 Chapter 21 A. Vol. excepto 04, 51-53, detección de toxina. Examinación of natural lines

OBSERVACIONES

Prohibida la reproducción parcial o total de este informe, sin la autorización escrita de CERPER S.A.
 Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de gestión de la calidad de un proceso.

Calle 24 de mayo 2006 5321
 RC

CERTIFICACIONES DEL PERU S.A.

ING. SONIA GARCÍA CANALES
 C.I.P. 33422
 ASIST. GESTIÓN LABORATORIOS

AREQUIPA
 Calle Teniente Rodríguez N° 141E
 Miraflores - Arequipa
 T. (051) 266472

CALLAO
 Oficina Principal
 Av. Santa Fe 601, La Perla - Callao
 T. (51) 318 8000

info@cerper.com - www.cerper.com

"EL USO IMPROPIO DE ESTE INFORME DE ENSAYO CONSTITUYE DELITO SANCIONADO CONFORME A LA LEY POR "AUTORIDAD COMPETENTE"