

EFFECTO DE LA PASTEURIZACIÓN EN LA CALIDAD DEL SUPLEMENTO NUTRICIONAL BIOESTIMULIN

María Aloida Guerra, Alvaro García, Tatiana Beldarraín, Lumey Llera, Roger De Hombre, Angela Miranda,
Elba Barrero, Frank Rodríguez, Norma Vergara, Carmen Casañas y Cecilia Carrillo*

*Instituto de Investigaciones para la Industria Alimentaria. Carretera al Guatao, km 3 1/2,
La Habana, CP 19 200, Cuba.*

**E-mail: maguerra@iiaa.edu.cu*

RESUMEN

El Bioestimulín es un suplemento antianémico líquido, elaborado con sangre bovina por métodos combinados de conservación. Su vida de anaquel a temperatura ambiente es de un año, pero incluir un tratamiento térmico en su elaboración daría una seguridad microbiológica aún mayor, por lo que en este trabajo se determinó el efecto del tratamiento térmico sobre su calidad. La sangre se llevó a los tachos de cocción donde se mezcló con el resto de los ingredientes de la formulación y se pasteurizó hasta 70 °C. Al producto se le realizaron determinaciones físico-químicas, contenido de minerales, análisis microbiológicos y evaluación sensorial mediante una prueba descriptiva y de aceptación-rechazo. Para conocer el efecto del tratamiento térmico sobre los parámetros físico-químicos, viscosidad y composición mineral, se realizó una prueba t para muestras pareadas a $p \leq 0,05$. El único cambio apreciable observado luego del tratamiento térmico, fue la desecación, fenómeno que se presenta debido al tratamiento térmico aplicado, mientras que los índices que definen la estabilidad del mismo (pH y a_w) se encontraron en el rango establecido

Palabras clave: suplemento antianémico, tratamiento térmico, calidad

ABSTRACT

Effect of pausterization on the quality of nutritional supplement Biostimulin

Bioestimulin is an antianaemic liquid supplement elaborated with bovine blood using combined methods of preservation. Its shelf-life in ambient temperature is a year, but the heat treatment inclusion will be a more microbiological stability. In this work the effect of heat treatment on Bioestimulin quality was determined. Blood was carried out of water bath, the rest of ingredients were mixed and the product was pasteurized until 70 °C. Physic-chemicals evaluations, minerals content, microbiological and sensorial analysis were determined. To know the heat treatment on this parameters a t-student test to paired samples ($p \leq 0,05$) was done. Desiccation was unique change observed in the product while the stability indices of Bioestimulin were into de ranges of this antianaemic supplement.

Keywords: antianaemic supplement, heat treatment, quality

INTRODUCCIÓN

La destrucción de los microorganismos por el calor es consecuencia de la desnaturalización de sus proteínas y sobre todo de la inactivación de las enzimas que necesitan para desarrollar sus actividades metabólicas. La intensidad del tratamiento térmico necesaria para destruir los microorganismos o sus esporas depende de la especie, de su estado fisiológico, y de las condiciones del medio en el momento de efectuar el tratamiento. El tratamiento térmico elegido dependerá de las especies de microorganismos que sea preciso destruir, de otros procedimientos de conservación que sea preciso utilizar, y del efecto que produzca el calor en el alimento (1).

**María Aloida Guerra Álvarez: Ingeniera Química (1979).
Master en Ciencia y Tecnología de Alimentos (1998) de la
Universidad de La Habana, Cuba. Doctora en Ciencia y
Tecnología de Alimentos (2000) Universidad Politécnica
de Valencia, España. Investigador Titular. Más de 33 años
de experiencia en trabajo de investigación-desarrollo:
Desarrollo en tecnología de productos cárnicos. Consultora
de la FAO impartiendo cursos en diferentes países.*

Desde hace algún tiempo se ha incrementado el interés por el uso de la sangre proveniente de los animales de abasto en la fortificación de alimentos y elaboración de suplementos, ya que es una fuente de hierro hemínico y proteínas.

En el Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia se han desarrollado numerosos alimentos fortificados utilizando como fuente de hierro la sangre o los corpúsculos sanguíneos procedentes del sacrificio de reses y cerdos. Entre éstos, los concentrados en polvo a base de sangre o corpúsculos y su empleo posterior en la elaboración de bebidas instantáneas, gelatina, caramelos y tabletas, suplementos líquidos como el Bioestimulin y los embutidos con altos porcentajes de sangre. Estos productos pueden consumirse fácilmente, se recomienda para personas con anemia por deficiencia de hierro como mujeres embarazadas, niños y ancianos, también para personas con pérdida del apetito y deportistas (2-8).

El Bioestimulin es un suplemento líquido, elaborado a partir de sangre entera de ganado bovino por métodos combinados de conservación (9-12). Para su preparación se emplean acidulantes, saborizantes, azúcar refinado y como preservante el sorbato de potasio, el mismo contiene hierro en 16 mg/100 g de producto. Tiene la ventaja de que se puede almacenar a temperatura ambiente durante un año (13).

La utilización de la sangre para el consumo humano exige una higiene absoluta debido a que es muy susceptible a la contaminación por su elevado contenido de proteína, alta actividad de agua y pH. Durante la recolección de la sangre, puede ocurrir una contaminación debido a la presencia de microorganismos gram positivos, catalasa positivos, bacilos, cocos, enterobacterias, microorganismos gram negativos, entre otros, debido al contacto de los cuchillos con la piel, saliva, cuchillos, equipos de recolección y estado higiénico del matadero (14-16). Además, puede contaminarse con las bacterias del contenido gástrico-intestinal si el desangramiento no se realiza adecuadamente. Sin embargo, el animal, si está enfermo, puede tener en el torrente sanguíneo una serie de patógenos como *Mycobacterium tuberculosis* y *Brusella abortus* que transmiten enfermedades fatales en individuos inmunodeprimidos (17-18) y contar con un tratamiento térmico sería una barrera más al implantar este pro-

ducto en la industria. El objetivo del trabajo fue determinar el efecto del tratamiento térmico sobre la calidad del suplemento nutricional Bioestimulin.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para dar cumplimiento a los objetivos planteados se procedió a elaborar el suplemento nutricional Bioestimulin. Inicialmente se pesó el anticoagulante, en este caso el tripolifosfato de sodio y se preparó la solución al 10 % que se emplearía en el momento de obtener la sangre en el matadero. La sangre recogida se almacenó a temperatura entre 2 y 4 °C y HR de 95 %, hasta concluir la inspección veterinaria y los análisis de la sangre, en depósitos de 20 L cada uno.

El mezclado se realizó en un tacho de acero inoxidable con camiseta de 200 L utilizando un agitador para garantizar una mezcla homogénea. Para ello se colocó la sangre, previamente mezclada con el tripolifosfato de sodio y se le adicionó el azúcar, el sorbato de potasio, el ácido cítrico y el sabor cola y se mezcló en frío durante 5 a 8 min hasta su total homogenización. Una vez mezclado se pasó al proceso de pasteurización. Para ello, comenzó a suministrársele vapor y se controló la temperatura del producto y del agua de la camiseta, realizando mediciones cada 10 min, tratando que el agua no sobrepasara los 75 °C hasta alcanzar 70 °C en el producto. Se empleó esta temperatura debido a que *Mycobacterium tuberculosis* y *Brusella abortus* son microorganismos mesófilos y extremadamente sensibles al calor (17, 18). Posteriormente, en el mismo tacho se pasó a la fase de enfriamiento o atemperado, también controlando la temperatura del agua y se realizaron mediciones de temperatura cada 10 min hasta que la mezcla alcanzó los 35 °C para realizar el cálculo del valor de pasteurización.

Para el cálculo del valor de pasteurización (P) se empleó el método de Patashnik (19). Para ello se determinaron las fracciones letales a la temperatura del suplemento. La ecuación estuvo determinada, también, por los intervalos de tiempo en los que se realizaron las mediciones de temperatura, como un método de adición simple y suficientemente seguro que involucra todos los valores de P alcanzados en el producto mediante el calentamiento y el enfriamiento, estas se leyeron a intervalos de 10 min. Se tomó como temperatura de referencia 70 °C y la expresión es la siguiente:

$$P_{70}^{10} = \sum p/t^* \Delta t$$

Donde P_{70}^{10} es valor de pasteurización a $Z=0^\circ\text{C}$ y $T_{\text{ref}} 70^\circ\text{C}$

p/t son los valores letales a una temperatura y un instante dado

Δt intervalos de tiempo en los que se realizan las mediciones de temperatura

Durante el tratamiento térmico se tomaron muestras cada 10 min, también, para determinar la influencia de la temperatura sobre la viscosidad del producto. Para ello se utilizó un Viscosímetro Rotacional Brookfield modelo LVT a 30 mE¹ y las muestras se atemperaron a 25 °C. Una vez atemperado, el producto se envasó en frascos de cristal previamente esterilizados de 250 mL, con un tanque de llenado de 50 L. El sellado se efectuó con el auxilio de una selladora manual. De cada una de las cuatro corridas se tomaron, en condiciones asépticas, muestras en frascos estériles de boca ancha con tapa de goma y retapa de aluminio para realizar los análisis físico-químicos, microbiológicos y sensoriales.

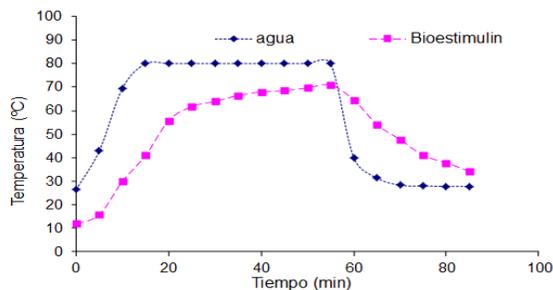


Fig. 1. Curva de penetración de calor durante el tratamiento térmico del Bioestimulín.

Al producto ya envasado en los frascos se le determinaron humedad (20), cenizas (la muestra previamente carbonizada en plancha se colocó en la mufla hasta la obtención de cenizas (21), proteína (22), pH (23), actividad de agua (se realizaron las mediciones mediante un equipo Novasina TH-2), así como sus contenidos de hierro, cobre, zinc, calcio, magnesio, sodio y potasio (espectrofotómetro de absorción atómica (EAA) modelo PU9100, previamente ajustado para cada elemento, de acuerdo a los parámetros de operación fijados).

También se realizaron análisis microbiológicos al producto: conteo total de aerobios mesófilos (24), conteo de hongos y levaduras (25), conteo de coliformes (26), conteo de enterobacterias totales (27) y determinación de *Staphylococcus aureus* (28). La evaluación sensorial del producto se realizó una prueba descriptiva y una prueba de aceptación-rechazo. Se hizo con 8 a 10 jueces experimentados. La prueba de aceptación-rechazo tuvo como objetivo conocer si el producto presentaba algún sabor extraño después de la cocción. Se consideró aceptable el producto con sabor característico y rechazable si presentaba sabor extraño.

Para conocer la influencia que tenía el tratamiento térmico sobre los parámetros físico-químicos, viscosidad y composición mineral, se realizó una prueba t para muestras pareadas para $p \leq 0,05$.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La curva de penetración de calor del suplemento Bioestimulín (Fig. 1) muestra, como era de esperarse, que conforme pasa el tiempo hay un aumento de la temperatura interna del producto. Es de notar dos fases perfectamente definidas en la curva: una fase de calentamiento que ocurre durante 60 min y en la cual el Bioestimulín alcanza 70°C y una fase de enfriamiento. Al calcular el valor de pasteurización para el producto este fue de 51,38 min, acumulados a través de la cocción y el enfriamiento. El valor de pasteurización es un índice que debe estar entre 40 y 60 para considerarse al producto inocuo y libre de microorganismos patógenos (19). El tratamiento térmico tiene una incidencia sobre la viscosidad (Fig. 2). A medida que transcurre el tiempo la viscosidad va aumentando hasta alcanzar en-

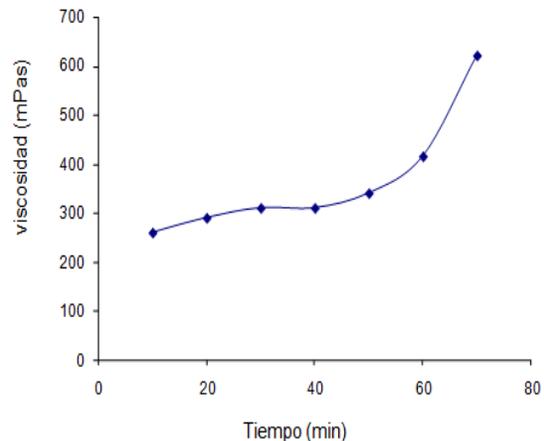


Fig. 2. Valores medios de la viscosidad (mPa.s).

Tabla 1. Composición química del producto (%), pH y a_w antes y después del tratamiento térmico (n=4)

tre 580 y 620 mPa.s a los 70 min, esto se debe al proceso de coagulación de las proteínas de la sangre que contiene el producto. Se observó que a partir de los 60 min aparece un coágulo oscuro que desaparece fácilmente por agitación.

La composición del producto seleccionado es la esperada (Tabla 1). Su contenido de proteína es del 6 %, esto significa que además del hierro aporta proteína y la misma es de alto valor biológico. Las proteínas de la sangre tienen una alta digestibilidad que alcanza entre 95 y 97 %. El alto contenido de hierro y lisina provenientes de la sangre convierten al producto elaborado en un complemento importante de la dieta (33). El único cambio apreciable observado fue en la humedad, donde se produjo una desecación, fenómeno que se presenta debido al tratamiento térmico aplicado al producto y se observaron diferencias significativas para $p > 0,05$ entre ambas variantes del producto. El aumento del porcentaje de proteína (de 6,01 a 7,12 %) podría deberse a la desecación que sufre el producto debido al tratamiento térmico, existiendo diferencias significativas a $p \leq 0,05$ entre el producto sin tratamiento térmico y el producto tratado.

Los índices que definen la estabilidad del producto (pH y a_w) se encuentran en el rango establecido (Tabla 1), de acuerdo a estas características puede ser almacenado a temperatura ambiente sin verse afectada su estabilidad microbiológica (30-31). Este medio es su-

mamente hostil para el desarrollo de la mayoría de los microorganismos de interés en los alimentos, los cuales crecen óptimamente a a_w superiores a 0,98.

Dada su a_w en este producto apenas podría crecer un grupo muy reducido de bacterias osmofílicas. La mayoría de las bacterias crecen a valores de a_w de 0,99 y 0,98. Por debajo del óptimo, la velocidad de crecimiento con frecuencia decrece linealmente. Los bacilos Gram (-) por ejemplo, son más sensibles a la reducción de la a_w con un rango mínimo de crecimiento de 0,96 a 0,94 en medios de laboratorio. Para las especies de *Clostridium* este valor es de 0,95 a 0,94 y para *Bacillus* 0,93 a 0,90. Sin embargo algunos cocos Gram (+) pueden crecer a valores tan bajos como 0,83 (32-33).

De acuerdo a la clasificación de para la inocuidad de los alimentos (34), este producto pertenece al grupo de riesgo 3 que son aquellos en que las posibilidades de proliferación microbiana son remotas. Tienen una a_w reducida, un pH bajo y protección microbiana intrínseca. En estos alimentos el crecimiento de los patógenos sobrevivientes es sólo posible como resultado de cambios espectaculares en los atributos del producto. Estos cambios pueden ser graves errores de formulación, pésima calidad de las materias primas y falta de control durante el proceso, entre otros.

La composición mineral del preparado antianémico se muestra en la Tabla 2. El contenido de hierro es apreciable, éste es el elemento traza más importante e in-

Tabla 2. Composición mineral del Suplemento nutricional Bioestimulin antes y después del tratamiento térmico (n=4)

Suplemento nutricional	Composición mineral del (mg/100 g)				
	Fe	Cu	Mg	Na	K
Sin tratamiento térmico	16,3(1,0)	0,33(0,09)	15,6 (0,79)	78,2(6,20)	45,0(4,5)
Con tratamiento térmico	15,23(2,7)	0,28(0,15)	15,1(1,14)	71,4(10,60)	38,9 (7,2)

(): desviación estándar

dispensable en el metabolismo humano y de los animales superiores como constituyente de la hemoglobina (35-37). Como se puede apreciar, el tratamiento térmico no afecta significativamente a $p \leq 0,05$ la composición de hierro sino que los niveles se mantienen entre 15 y 16 mg/kg de producto. El suplemento Bioestimulín, con este tratamiento aplicado, no varía su composición mineral sino que proporciona además, cantidades variadas de cobre, magnesio, sodio y potasio.

Se ha demostrado que el cobre contribuye también a la absorción del hierro en pacientes anémicos. En investigaciones realizadas en pacientes con anemia por deficiencia de hierro se ha evidenciado que los tratamientos sólo a base de preparados de hierro son insuficientes por lo que se ha pensado que esto puede estar relacionado con la existencia de un déficit no solamente de hierro, sino también de otros microelementos. Se ha observado que ingiriendo conjuntamente el hierro con el cobre y el manganeso, o con el cobre y el cobalto, se produce un mayor aumento de la concentración de hierro en la sangre, que durante la ingestión solamente de hierro (38). El sodio y el potasio están presentes en el suplemento en cantidades que se corresponden con el porcentaje de sangre empleado. El sodio lo aporta fundamentalmente el anticoagulante (tripolifosfato de sodio) y el potasio se introduce con el preservante (sorbato de potasio).

La calidad microbiológica del preparado después del tratamiento térmico se corresponde con lo esperado (Tabla 3), el conteo de mesófilos totales es inferior a 10^3 u.f.c/g y los de enterobacterias, hongos y levaduras son negativos. Resultados similares fueron obtenidos por otros autores (4,6,12), en un producto semejante elaborado con corpúsculos sanguíneos y azúcar refinado. También concuerdan con los índices microbiológicos establecidos en la Norma Cubana de medicamentos no estériles (39). En dicha norma se indica que el conteo total de microorganismos aerobios

mesófilos debe ser inferior a 10^3 u.f.c/g, el conteo de hongos filamentosos inferior a 10^2 u.f.c/g y el conteo de enterobacterias negativo.

Las enterobacterias no pueden soportar valores de a_w inferiores a 0,92 mientras que el pH que resisten está por encima de 5,00. Los hongos y las levaduras se inhiben con la presencia del sorbato de potasio, excelente agente antimicótico (40). La presencia de sacarosa inhibe a los microorganismos psicrótrofos y disminuye su efecto competitivo (41), de hecho, *Staphylococcus aureus* podría crecer en estas condiciones pero no produce la toxina productora de la intoxicación (42). Este comportamiento ha sido observado anteriormente en otros productos obtenidos por la tecnología de métodos combinados. Valladares y col (43) que *S.aureus* podía eliminarse en 2 días en albónDIGAS obtenidas por métodos combinados partiendo de niveles de inoculación semejantes a los utilizados en el presente trabajo. El sistema presentaba una a_w de 0,87 y un pH de 4,8. En pastas cárnicas untables obtenidas por esta tecnología también se eliminó al patógeno, pero al ser mayor el valor de a_w del sistema se requirió 10 días para su eliminación (44).

De acuerdo a los resultados obtenidos puede asegurarse que se cumplieron los enunciados de la tríada de Wilson (35), que incluyen la aplicación de un tratamiento bactericida adecuado, la ausencia de recontaminación y el almacenamiento y distribución en condiciones que impidan la proliferación de los microorganismos sobrevivientes. Esto permitió obtener un producto estable e inocuo.

Mediante la combinación del pH (reducido a niveles de 4,7 a 4,9) la acción del sorbato de potasio, la a_w (disminuida hasta niveles de 0,83 a 0,85) y el tratamiento térmico aplicado, se obtuvo la estabilidad microbiológica del producto. Resultados similares fueron obtenidos anteriormente (43,44) en productos

Tabla 3. Resultados medios de los conteos microbiológicos, pH Y a_w del preparado antianémico al inicio (\log_{10} UFC/g) (n=4)

Suplemento nutricional	CTAM	Hongos	Levaduras	pH	a_w
Sin tratamiento térmico	1,86	1	1	5,3	0,83
Con tratamiento térmico	1	1	1	5,1	0,83

CTAM: Conteos de aerobios mesófilos

cárnicos de humedad intermedia que fueron estables por períodos de almacenamiento superiores a los tres meses.

Debe destacarse que las buenas prácticas de elaboración y la toma de medidas estrictas que sólo permitan la recolección de la sangre de animales sanos después de practicar la inspección veterinaria ante mortem y post mortem, pueden garantizar una buena calidad microbiológica en la sangre que sea recolectada.

Los resultados de la evaluación sensorial permitieron definir que el tratamiento térmico no afecta la calidad del producto y los jueces lo evaluaron como un líquido viscoso de color rojo oscuro con sabor a cola muy azucarado. En la prueba de aceptación-rechazo se encontró que es aceptable y no presenta sabor extraño. En este tipo de producto no es indispensable que el sabor

sea muy gustado sino simplemente aceptable, ya que no es un alimento sino un suplemento nutricional. Su consumo no está determinado por el gusto del consumidor sino por sus carencias nutricionales.

CONCLUSIONES

El tratamiento térmico tiene un efecto positivo sobre la calidad del suplemento antianémico ya que se convierte en una barrera más para los microorganismos.

El tratamiento térmico del suplemento Bioestimulín no afecta los niveles de hierro, sodio y potasio, necesarios para la correcta absorción del producto y posee efecto sobre la humedad del producto al aumentar la viscosidad del mismo, pero eso no lo hace rechazable por los consumidores.

REFERENCIAS

1. Exama, A. J. Food Sci. 58: (6), 1365-1370, 1993.
2. Gutiérrez, S.; González, A. Utilización de corpúsculos bovinos y porcinos en polvo en productos para regímenes especiales de alimentación. I Taller Nacional Uso de Hemoderivados y otros productos para la prevención de la anemia férrica. RIARE, Cuba, pág. 34, 1994.
3. Castro, D.; Valladares, C.; Martín, M.; Lima, L.B.; Panadés, E.; Guerra, M.A.; Castanedo, R. Alimentaría (268): 107-110, 1995.
4. Martín, M.; Valladares, C.; Guerra, M. A.; Castro, D.; Chang, L. y Casals, C. Alimentaria (288): 99-102, 1997.
5. Guerra, M.A.; Martín, M.; Valladares, C.; Castanedo, R.; Fernández, C.; Barrero, E. Alimentaría (303): 91-94, 1999.
6. Martín, M.; Guerra, M.A. y Valladares, C. Cienc. Tecnol. Alim. 7(1-2): 106-112., 1997.
7. Guerra, M.A.; Martín, M.; Sánchez, R.; Castanedo, R.; Barrero, E.; Beldarraín, T.; Chang, L.; Vergara, N. y Barrero, E. Cienc. Tecnol. Alim. 19 (2): 73-78, 2009.
8. Guerra, M.A.; Beldarraín, T.; Castanedo, R.; Bouza, A.M.; Consuegra, L.S.; Chang, L.; Fometa, Z.; Rodríguez, F. Empleo de embutidos de sangre en el tratamiento de la anemia. Cienc. Tecnol. Alim. 21 (1): 21-24, 2011.
9. Leistner, L. Food Res.Int. 22: 151-158, 1992.
10. Leistner, L. Further developments in the utilization of hurdle technology for food preservation. J. of Food Eng. 22: 411-422, 1994.
11. Leistner, L. User guide to food design. En Desarrollos recientes sobre el diseño de alimentos por tecnología de obstáculos con particular referencia a productos cárnicos. TECNO FIDTA'94. Material técnico de consulta, Kulmbach, pp 25-28, 1994.
12. Leistner, L. Applications of hurdle technology in developing countries. En Food preservation by combined processes. Final report, FLAIR Concerted Action no.7, pp 95-98, 1994.
13. Guerra, M.A.; Martín, M.; Sánchez, R.; Castanedo, R.; Barrero, E.; Beldarraín, T.; Chang, L.; Vergara y N.; Barrero, E. Cienc. Tecnol. Alim. 17 (3): 24-30, 2007.
14. Swingler, G.R.; Taylor, P.E.L. y Lawrie, R.A. Meat Sci 3: 83-87, 1982.
15. Valladares, C.; Peterfy, M. Estudio de la calidad sanitaria de la sangre. Reporte Anual, IIIA, La Habana, 1984.
16. Guerra, M.A. y Martín, M. Utilización de sangre y sus derivados en la elaboración de productos cárnicos. Manual Docente para la Industria Cárnica-FAO, pp. 128-155, 2003.
17. Jay, J.M. Microbiología Moderna de los Alimentos. 3ª ed. Acribia, S.A. Zaragoza, 1994.
18. Anón (2006). Disponible en <http://www.unavarra.es/genmic/salint/tuberculosis.pdf>. Consultado 23 de octubre de 2008.
19. Patashnik, M. A. Food Technol. 7: 1-6, 1953.
20. NC- ISO 1442:2002. Carne y productos cárnicos. Determinación del contenido de humedad: método de referencia, 2002.

21. NC ISO 936:2006. Carne y productos cárnicos. Determinación de ceniza total, 2006.
22. AOAC 1990. Determinación de proteína. Official Methods of Analysis. 15 ed. Assn. Offic. Anal. Chem., Washington D.C., 1990.
23. NC ISO 2917. Carne y productos cárnicos. Medición del pH. Método de referencia, Cuba, 2004.
24. NC 76-04-01 (1982). Determinación de Enterobacterias. Cuba, 1982.
25. NC ISO 7954:2002. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Guía general para la enumeración de levaduras y mohos. Técnica de placa vertida a 25 °C, 2002.
26. NC ISO 4832:2002. Microbiología de alimentos de consumo humano y animal. Guía general para la enumeración de coliformes. Técnica de placa vertida. 2002.
27. NC 76-04-04 (1982). Determinación de Enterobacterias. Cuba, 1982.
28. NC ISO 6888-1(2003). Microbiología de alimentos para consumo humano y animal. Método horizontal para la determinación de *Staphylococcus aureus* coagulasa positivos. Cuba, 2003.
29. Martín, M.; Guerra, M.A.; Valladares, C. El empleo de la sangre como fuente de hierro y proteína en los alimentos. I Taller Nacional. Uso de Hemoderivados y otros productos para la prevención de la anemia férrica. RIARE, Cuba, pp. 28, 1994.
30. Leistner, L. Hurdle technology applied to meat products of the shelf stable product and intermediate food types. En: Properties of water in foods in relation to quality and stability, Simatos, D., Multon, J.L. Edition. martinus Nijhoff Publishers, Dordrecht, pp 309-329, 1985.
31. Leistner, L. Shelf-stable products and intermediate moisture foods based on meat. En water activity: theory and applications to food. Rockland, L.B.; Beuchat, L.R. Edition Marcel Dekker, New York pp 295-327, 1987.
32. Leistner, L. Use of combined preservative factors in foods. En The microbiological safety and quality of food Vol 1. Ed Lund, B. Baird-Parker, T. y Gould, G. Aspen Publishers, Inc: pp 294-314, 2000.
33. Beales, N. Compreh. Rev. Food Sci. Food Safety 3: 1-20, 2004.
34. Mossel, A.; Struijk, C.B. El análisis microbiológico de los alimentos después de la introducción del ARPC. Primer Seminario de Control Higiénico y de Residuos en Alimentos para países del MERCOSUR. Buenos Aires, 26-29 Nov. 1996.
35. Gay, J. Conferencia ofrecida durante el I Congreso Nacional de Alimentación y Nutrición. Capitolio Nacional, La Habana, 21 al 24 de Marzo, 1997.
36. Díaz, R.; Fernández, S.; Reyes, P.; Pardo, M.; Ochoa, J.; Pratts, O. Heme iron fortified foods production. Proceedings del 36 ICOMST, La Habana, Vol. III:784, 1990.
37. FAO/OMS. Necesidades de Vitamina A, Hierro, Folato y Vitamina B12. FAO: Estudios FAO Alimentación y nutrición No. 23, Roma, 1991.
38. Nasolodin, V.V. Vaprosy Pitaniya 21:12, 1983.
39. NC. Norma Cubana. Medicamentos no estériles. Límites microbianos, 1985.
40. Santos, R.; Beldarrain, T.; Ramos, M. Alimentaria (351): 47-50, 2004.
41. Silliker, J.H.; Elliot, R.P.; Baird Parker, A.C.; Bryan, J.H.B.; Clark, D.S.; Olson, J.C.; Roberts, T.A. Ecología microbiana de los alimentos. Vol I, Editorial Acribia, Zaragoza, 1990.
42. Yáñez, Y.; Valladares, C.; Martín, M.; Yáñez, J.; Falco, AS; Beldarraín, T.; Prieto, E.; García, M. Empleo de energía ionizante como método para garantizar la calidad sanitaria de los suplementos líquidos. La Alimentación Latinoamericana. (231): 76-80, 1999.
43. Valladares, C.; Guerra, M.A.; Andújar, G.; García, A.; Nodarse, G.; Vergara, N. Alimentaria. (185): 32-35, 1993.
44. Valladares, C.; Guerra, M.A.; Andújar, G.; Casals, C.; Nodarse, G. y García, A. Alimentaria. (245): 37-40, 1993.