

Comportamiento microbiano y obstáculos en alimentos venezolanos de humedad intermedia

L. Elguezal, M. Daly, P. Navarro y M. E. Jreige

Dpto. Biología Aplicada, Tecnología de Alimentos. Instituto Universitario de Tecnología de Cumaná, Venezuela

RESUMEN. Se caracterizaron dieciséis Alimentos venezolanos de Humedad Intermedia (AHI) venezolanos de diferentes categorías, lácteos, cárnicos, marinos y de origen vegetal, tomando en cuenta, la actividad de agua, pH, humedad, acidez y humectantes utilizados. Paralelamente se estableció el perfil microbiano para cada AHI, siguiendo su evolución en función de las condiciones domésticas de almacenamiento y tiempo. Esta caracterización y comportamiento microbiano se relacionó con los obstáculos y nos permitió explicar los diferentes grados de estabilidad a temperatura ambiente de los AHI estudiados y sugerir mejoras que alarguen su vida útil. El valor del Aw, por sí solo, no es suficiente para garantizar la estabilidad del alimento si no es acompañado de un embalaje apropiado que limite las migraciones del agua, especialmente en nuestros países tropicales.

SUMMARY. Microbial comportment and hurdles in Venezuelan Intermediate Moisture Food. Sixteen Venezuelan IMF, dairy products, dry-salted fish products, meat products and vegetable products (specially fruit products) were characterized; water activity, pH, moisture, acidity and humectants were determined, allowing us to identify the main hurdles. Paralelly the microbial profile and her evolution for each IMF were established in function of time and storage conditions. This information permits us to explain the different stability comportments for our IMF; simple modifications that will increase their stability are suggested. Water activity is not enough as a hurdle if it is not accompanied by an appropriate packaging, specially in tropical countries, that would limit water migrations

INTRODUCCION

En el lapso 1989-1992 se realizó en Iberoamérica, en el marco del programa Ciencia y Tecnología para el Desarrollo (CYTED), Subprograma Conservación de los Alimentos un inventario de los Alimentos de Humedad Intermedia (AHI) de la Región. La información requerida estribaba fundamentalmente en los valores de la actividad de agua (Aw), el pH, el contenido en agua, depresores de Aw utilizados, técnicas de preparación y costo como lo señala Aguilera et al. (1). Se entiende por AHI, de acuerdo a Multon (2), «aquellos alimentos de textura blanda que sufren uno o más tratamientos tecnológicos, que se conservan sin preparación previa y poseen estabilidad, sin necesidad de tratamientos térmicos, congelación o refrigeración, sino mediante el ajuste adecuado del pH, aditivos y principalmente su Aw, que se ubica aproximadamente entre 0,60 y 0,90». Como resultado de dicho inventario se registraron más de 300 productos diferentes como lo señala Welti et al. (3), estos productos fueron agrupados de acuerdo a su origen en diferentes categorías; frutícolas, lácteos, cárnicos, marinos y misceláneos, y en ellos se identifican los principales factores de estabilidad microbiana (obstáculos) tal como lo indica Tapia de Daza et al. (4). Este conjunto de factores de estabilidad se ubica en lo se, denomina Tecnología de Obstáculos de acuerdo a Leistner (5). Esta identificación y posterior clasificación en factores primarios y secundarios, los refieren para cada uno de los alimentos y categorías seleccionados, pero no los relacionan con el comportamiento microbiano de cada producto. Nuestro laboratorio participó y participa activamente en los programas de CYTED, Elguezal et al. (6), nuestra evaluación incluía información sobre la flora microbiana presente y su evolución durante el almacenamiento en condiciones tradicionales. Nuestro objetivo es el de relacionar el comportamiento microbiano de los AHI venezolanos estudiados en sus diferentes categorías y relacionarlos

con los factores de estabilidad identificados y tratar de explicar la vida útil de los mismos.

MATERIALES Y METODOS

Se seleccionaron cuatro categorías de alimentos; Cárnicos (Jamón serrano, chorizo ahumado y cochino salpreso), Marinos secosalados [Lamparosa (*Vomer setapiris*), Roncador (*Microphaga furnieri*), Merluza (*Merluccius albidus*)], Lácteos (Queso fundido sucedáneo, Queso fundido y una crema achocolatada) y Azucarados (dulce de toronja, dulce de papaya, dulce de batata, jalea de guayaba, pulpa de tamarindo, bola de cacao y gofio). Estos productos, tres lotes, se adquirieron en el mercado local, en el momento de su llegada al punto de venta y se analizaron por duplicado en el momento de la compra y después de almacenarse a temperatura ambiente por lapsos de diferente duración (10-15 y 20 días) según las características de cada producto (incluido el tipo de embalaje).

Análisis físico-químicos: La Actividad de agua (Aw) se determinó por el método higrométrico (Lufft-Aw-messer, Stuttgart, Alemania) y punto de rocío (DECAGON CX-1, Devices Corporation); pH: con un pHmetro ORION CX-50, previamente calibrado a 4 y 7; Humedad: mediante el método gravimétrico, en estufa MEMMERT, a 100 °C 1 °C hasta peso constante en desecador; Azúcares Totales: método de Felhing; Cloruro: método de Mohr; Acidez: por titulación con NaOH 0,1N con fenoltaleina como indicador. Todas las pruebas se realizaron por duplicado para tres muestras diferentes, estableciéndose el perfil inicial para cada producto.

Análisis microbiológico: De acuerdo a las particularidades de cada producto se realizaron las siguientes determinaciones, siempre por duplicado en dos muestras por producto para cada tiempo de

almacenamiento: Aerobios Mesófilos (Agar para recuento, 30 °C x 48 horas), Mohos y Levaduras (Agar patata dextrosa, acidificado con ac. tartárico, 25 °C x 2-5 días) en estufa refrigerada UWR modelo 200S, Staphylococcus (Agar Baid Parker, 37 °C x 24-48 h.), *Clostridium* Sulfito-reductores (Agar Sulfito polimixina sulfadiazina, 37 °C x 24 h.), Coliformes totales (Agar bilis violeta rojo neutro, 37 °C x 24 h.), *Salmonella* (Enriquecimiento en caldo selenito cistina, 37 °C x 24 h. y Aislamiento en Agar S-S, 37 °C x 24 h.), Halófilos (Agar peptona extracto de carne con 7,5% de NaCl), esporulados totales aerobios y anaerobios (Mesófilos y Termófilos) a 37 °C y 55 °C por 24-48 h., previa activación térmica a 100 °C x 5 minutos en Agar dextrosa Triptona púrpura de bromocresol y caldo trioglicolato con tapón de parafina respectivamente. Al agua peptonada utilizada como diluyente se le agregó sacarosa (4 %) o NaCl (2 %) para limitar el shock osmótico. También se practicó una revivificación a 20 °C, por 30 minutos, con la excepción de los análisis de las formas esporuladas.

RESULTADOS Y DISCUSION

En las Tablas 1 y 2 se observa que desde la óptica del A_w , existe un grupo de doce alimentos con valores inferiores a 0,77, la cual es

limitante para la mayoría de los microorganismos, excepción hecha de levaduras osmófilas, mohos xerófilos y limitadas bacterias halófilas según señala ICMSF (7). En este grupo de AHI se ubican los tres productos marinos y uno cárnico conservados por saturación salina, pero con valores de pH cercanos a la neutralidad; los productos azucarados (siete), especialmente los frutícolas con pH ácido o muy ácido que va desde 2,60 hasta 5,10 y uno de los productos lácteo con pH de 6,90. Los cuatro AHI restantes ubican su A_w entre 0,88 y 0,96, escapando así algunos de ellos a la definición formal de AHI anteriormente citada; con excepción del jamón tipo serrano y el chorizo ahumado que presentan Nitrito y ahumado como sustancias antimicrobianas respectivamente, los restantes AHI carecen de aditivos. Cinco de los siete AHI azucarados sufren algún tipo de tratamiento térmico (cocción) al igual que los tres lácteos (temperatura de pasteurización); ni los productos cárnicos ni los productos marinos reciben algún tipo de tratamiento térmico. La mayoría de los productos marinos y cárnicos no presentan embalaje, excepción del chorizo embutido en tripa natural, en cambio todos los AHI lácteos y la mayoría de los azucarados (6/7) poseen algún tipo de embalaje o envasado, no necesariamente hermético (vidrio, plástico, celofán, etc).

TABLA 1
Perfil físico-químico para AHI venezolanos

Tipo	Producto	A_w	pH	H ₂ O	Az Tot	Acidez (g. Ac. Cit/ 100g Prod)	NaCl
Azucarados	Dulce de batata	0,74	5,20	20,40	51,00	0,22	
	Dulce de toronja	0,77	4,30	21,80	50,80	1,06	
	Dulce de papaya	0,77	5,00	18,20	54,42	0,39	
	Golfo	0,71	5,10	18,80	46,50	0,26	
	Jalea de guayaba	0,74	3,40	21,40	27,72	0,55	
	Pulpa de tamarindo	0,64	2,60	19,60	26,48	1,25	
	Bola de cacao	0,74	4,80	9,30	12,79	0,28	
Cárnicos	Jamón serrano	0,88	6,30	47,34	-	-	8,86
	Chorizo ahumado	0,92	6,80	37,19	-	-	3,50
	Cochino salpreso	0,74	6,40	45,38	-	-	14,63
Lácteos	Crema achocolatada	0,74	6,90	19,30	26,01	-	-
	Queso fundido	0,96	6,40	38,76	-	-	1,04
	Queso fundido sucedáneo	0,94	5,60	52,77	5,60	-	2,17
Marinos	Lamparosa	0,75	6,90	46,50	-	-	17,80
	Roncador	0,74	7,40	47,50	-	-	16,50
	Merluza	0,75	7,50	46,80	-	-	19,70

(-) no se realiza

TABLA 2
Factores importantes de conservación en AHI venezolanos

Tipo	Producto	Aw	pH	Factores Conservación				OBS. IMP.			Observación	Elaboración
				A	TT	TA	FC	Emb.	Irios.	2rios		
Azucarados	Dulce de batata	0,74	5,20	Neg	+	Amb	Neg	Celofán	Aw	pH, Tc, Emb.	Estable	Artisanal
	Dulce de toronja	0,77	4,30	Neg	+	Amb	Neg	Vidrio	Aw-pH	pH, Tc, Emb.	Muy estable	Artisanal
	Dulce de papaya	0,77	4,30	Neg	+	Amb	Neg	Vidrio	Aw	pH, Tc, Emb.	Muy estable	Artisanal
	Gofio	0,71	5,10	Neg	+	Amb	Neg	Celofán	Aw	pH, Tc, Emb.	Estable	Artisanal
	Jalea de guayaba	0,74	3,40	Neg	+	Amb	Neg	Celofán	Aw-pH	TT, Emb.	Estable	Artisanal
	Pulpa de tamarindo	0,64	2,60	Neg	Neg	Amb	Neg	Celofán	Aw-pH	Emb.	Estable	Artisanal
	Bola de cacao	0,74	4,80	Neg	Neg	Amb	Neg	Neg	Aw-pH	-	Muy estable	Artisanal
Cárnicos	Jamón serrano	0,88	6,30	Nit	Neg	Amb	Nat	Neg	Aw	Nit	Estable	Industrial
	Chorizo ahumado	0,92	6,80	Ahu	Neg	Amb	Neg	Tripa	Aw	Ahum.	Poco estable	Artisanal
	Cochino salpreso	0,74	6,40	Neg	Neg	Amb	Neg	Neg	Aw	-	Poco estable	Artisanal
Lácteos	Crema achocolatada	0,74	6,90	Neg	+	Amb	Neg	Plast	Aw	TT, Emb	Muy estable	Industrial
	Queso fundido	0,96	6,40	Neg	+	Amb	Neg	Vidrio	Aw	TT, Emb	Muy estable	Industrial
	Queso fundido sucedáneo	0,94	5,60	Neg	+	Amb	Neg	Vidrio	Aw	TT, Emb	Muy estable	Industrial
Marinos	Lamparosa	0,75	6,90	Neg	Neg	Amb	Neg	Neg	Aw	-	Poco estable	Artisanal
	Roncador	0,74	7,40	Neg	Neg	Amb	Neg	Neg	Aw	-	Poco estable	Artisanal
	Merluza	0,75	7,50	Neg	Neg	Amb	Neg	Neg	Aw	-	Poco estable	Artisanal

A=Antimicrobiano; TT=Tratamiento o cocción; TA=T. Almacén; FC=Flora competitiva; Emb.= Embalaje
Muy estable= más de 3 meses; Estable= 15 días-3 meses; Poco estable= Menos de 15 días.

En particular los AHI azucarados presentan una gran estabilidad debido entre otras cosas a valores bajos de Aw acompañados en todos los casos de pH ácidos o muy ácidos, los cuales, además, reciben un tratamiento de cocción durante su elaboración que conjuntamente con el embalaje, siendo su vida de anaquel, a temperatura ambiente superior a los productos cárnicos y marinos. La flora aerobia mesófila (Tabla 3) al igual que la acidófila y las esporas totales permanecen con recuentos muy bajos durante los lapsos estudiados, excepción de las esporas del producto Bola de Cacao que presenta un número medianamente alto de $2,9 \times 10^4$ a $1,1 \times 10^4$ esporas totales por gramo, hecho atribuible a su composición básicamente farinácea. La flora micótica se mantiene prácticamente constante ($10^2 \rightarrow 10^6$ por gramo) o con incrementos muy importantes como en dulce de papaya (10^2 ; 10^3 por gramo) y leves para dulce de toronja y batata ($10^4 \rightarrow 10^5$ y $10^5 \rightarrow 10^7$) para un tiempo de almacenamiento de 20 días.

Al observar la Tabla 4 y relacionarla con las Tablas 1 y 2, se corrobora que la mayoría de los productos marinos y cárnicos a pesar de poseer los Aw más bajos (0,74-0,75) y las concentraciones más altas de sal (14-19%) similares a las reportadas por Gómez y Fernández Salguero (8), y Fernández Salguero (9) para productos marinos y cárnicos españoles, presentan baja estabilidad; nuestros alimentos, crudos, con exceso de sal, sin embalaje alguno, almacenados a temperatura ambiente, manipulados y distribuidos deficientemente son definitivamente poco estables, deteriorándose rápidamente, con la excepción del jamón serrano el cual con un Aw de 0,88 presentó mayor estabilidad que sus análogos cárnicos o marinos, aquí el nitrito como aditivo y la flora competitiva natural obviamente juegan un rol importante, como obstáculos secundarios.

TABLA 3
Resultados microbianos en AHI azucarados

Vegetales	Días	Aero. Mesófil/g	Mohos- Lev/g	Esp.Tot/g	Acidófilos/ g
Dulce de papaya	1	10^2	$2,5 \times 10^2$	$1,5 \times 10^2$	-
	10	$7,3 \times 10^2$	$9,8 \times 10^2$	$2,2 \times 10^2$	-
	20	$1,6 \times 10^3$	$1,5 \times 10^6$	$2,8 \times 10^3$	-
Dulce de toronja	1	10^2	$9,0 \times 10^4$	$1,5 \times 10^2$	-
	10	$1,3 \times 10^2$	$9,6 \times 10^4$	$1,3 \times 10^2$	-
	20	$3,0 \times 10^2$	$1,8 \times 10^5$	$2,5 \times 10^2$	-
Jalea de guayaba	1	$5,0 \times 10^2$	$7,2 \times 10^2$	-	4,10
	16	$1,9 \times 10^2$	$6,4 \times 10^2$	-	2,10
Pulpa de tamarindo	1	$3,8 \times 10^2$	$2,0 \times 10^3$	-	$9,2 \times 10^2$
	16	$2,3 \times 10^2$	$1,3 \times 10^3$	-	$4,5 \times 10^2$
Bola de cacao	1	$1,4 \times 10^4$	$3,4 \times 10^3$	$2,9 \times 10^4$	-
	16	$6,0 \times 10^4$	$2,3 \times 10^3$	$1,1 \times 10^4$	-
Dulce de batata	1	$3,0 \times 10^2$	$8,9 \times 10^5$	$8,5 \times 10$	-
	10	$3,9 \times 10^2$	$1,2 \times 10^7$	$1,6 \times 10^2$	-
	20	$6,4 \times 10^2$	$1,2 \times 10^7$	$1,6 \times 10^2$	-
Gofio	1	8x10	$5,2 \times 10^3$	$1,1 \times 10^2$	-
	10	$1,2 \times 10^2$	$6,7 \times 10^3$	$1,9 \times 10^2$	-
	20	$2,1 \times 10^2$	$8,2 \times 10^2$	$3,2 \times 10^2$	-

(-) no se realiza

TABLA 4
Resultados microbianos en AHI de origen animal

TIPO	Producto	Días	Aer.Mes /g	Mohos y Lev./g	Salmonella/25 g	Clostridium SR/g	Staphylococcus/g	Col. Tot./g	Halófilos/g	Esp.Tot/g
Cárnicos	Chorizo ahumado	1	5,3x10 ⁵	9,0x10 ²	Aus.	<10	<10 ²	<10	-	-
		15	6,8x10 ⁷	1,5x10 ³	Aus.	<10	<10 ²	<10	-	-
	Jamón Serrano	1	6,2x10 ⁵	<10 ²	Aus.	<10	2,5x10 ³	<10	-	-
		15	3,0x10 ⁷	<10 ²	Aus.	<10	1,1x10 ⁴	<10	-	-
	Cochino Salpreso Lamparosa	1	6,2x10 ⁵	2,0x10 ²	Aus.	<10	<10 ²	<10	-	-
		15	3,4x10 ⁵	5,0x10 ⁴	Aus.	<10	<10 ²	<10	-	-
		1	2,8x10 ³	3,0x10 ⁴	Aus.	102	<10 ²	-	6,8x10 ⁴	-
Marinos	Roncador	1	2,3x10 ³	<10 ²	Aus.	<10	<10 ²	-	7,2x10 ⁴	-
		15	4,8x10 ²	5,10 ²	Aus.	102	<10 ²	-	2,6x10 ⁴	-
	Merluza	1	10 ⁵	3x10 ³	Aus.	102	<10 ²	-	>3x10 ⁵	-
		15	10 ⁴	3x10 ³	Aus.	4x10	<10 ²	-	>3x10 ⁵	-
	Crema Achocolatada	1	9,0x10 ³	10 ²	Aus.	4x10	<10 ²	-	>3x10 ⁵	-
		1	3,6x10 ⁴	7,8x10 ³	-	-	<10 ²	-	-	6,5x10 ³
		10	7,4x10 ⁴	10 ⁴	-	-	<10 ²	-	-	1,1x10 ⁴
Lácteos	Queso Fundido	20	7,4x10 ⁴	1,6x10 ⁴	-	-	<10 ²	-	-	1,2x10 ⁴
		1	1,5x10 ²	<10 ²	-	-	2,5x10 ²	-	-	3,0x10 ²
		10	1,2x10 ³	3x10 ²	-	-	2,5x10 ²	-	-	3,9x10 ²
	Queso Fundido Sucedáneo	20	2,9x10 ³	7x10 ²	-	-	6,0x10 ³	-	-	3,9x10 ²
		1	2,0x10 ⁶	2x10 ²	-	-	3x10 ⁴	-	-	1,3x10 ³
		10	3,8x10 ³	2x10 ²	-	-	3x10 ⁴	-	-	3,9x10 ²
	32	3,5x10 ³	<10 ²	-	-	3x10 ²	-	-	10 ³	

(-) no se realiza

A pesar de esto, los muestreos microbianos no indican presencia de flora toxi-infecciosa tipo *Salmonella spp.* o *Staphylococcus aureus*, por cuanto su Aw (0,74) está alejado de los Aw mínimos de crecimiento para cada uno de estos, siendo 0,94 y 0,86 respectivamente los Aw mínimos de acuerdo a Troller (10). Los valores del pH encontrados en estos productos no contribuyen en la inhibición bacteriana. La única flora resalante es la halófila que fluctúa entre 2,6 x 10⁴/g y > 3 x 10⁵/g en los productos marinos. La excepción en referencia a microorganismos potencialmente toxinógenos presentes, se observa en el jamón serrano con un número de *Staphylococcus aureus* que se incrementa en casi un ciclo log en 15 días, aunque de acuerdo con Troller (11, 12), no existe riesgo de formación de enterotoxina estafilococcica por debajo de Aw 0,91. Tampoco hay presencia de *Clostridium* sulfitorreductores, ni de indicadores de contaminación. En general estos productos con Aw tan bajos podrían tener una vida útil mayor si se les embalase apropiadamente, restringiéndose la migración interdiaria, interna y externa que influye sobre el Aw como destaca Mossel (13), problema este que se agudiza para los productos en países tropicales tal como lo indica Quast y Texeira (14).

Los productos lácteos evaluados: crema achocolatada, queso fundido y sucedáneo de queso fundido presentan respectivamente Aw de 0,74, 0,96 y 0,94, uno en el rango contemplado definido de AHI (0,70-0,90) y dos superiores a 0,90, con pH no limitantes para el crecimiento microbiano, sin aditivos, almacenados a temperatura ambiente, envasados apropiadamente, resultando ser productos estables, con presencia de esporas totales, en números estables en los quesos fundidos, y con un incremento leve en la crema achocolatada (1/2 ciclo log) en 20 días. Igualmente, un ligero incremento de mohos en la crema achocolatada y estabilidad en el número de mohos en ambos quesos fundidos. Presencia de *Staphylococcus aureus*, en ambos quesos e incremento de más de un ciclo log en el queso

fundido, al cabo de veinte días de almacenamiento, aunque en número inferior al señalado para producir niveles de enterotoxinas significativos de acuerdo a Troller (10, 11, 12), pero potencialmente peligroso para almacenamientos más prolongados.

Los cinco AHI menos estables de acuerdo al los valores de la Tabla 2 tienen en común ausencia de algún tipo de embalaje y cuatro de cinco presentan la Aw como único obstáculo importante y ningún obstáculo secundario. Contrariamente los seis AHI de mayor estabilidad tienen en común la Aw sola o combinada con el pH, como obstáculos primarios, y dos o más obstáculos secundarios, con la excepción del producto Bola de Cacao que no presenta obstáculos secundarios.

Como conclusión podemos señalar que la actividad de agua, como obstáculo microbiano, corresponde a un concepto dinámico, por lo tanto puede variar dependiendo del ambiente en el cual se ubica el alimento, especialmente la Humedad Relativa Ambiental (HRA) y la temperatura del almacenamiento, por ello es necesario interponer barreras entre el alimento y su entorno que restrinjan dicho intercambio, tipo películas plásticas o equivalentes o controlar ambas variables, HRA y T en el almacén, esta propuesta de modificación iría en contra del almacenamiento a temperatura ambiente definida para los AHI. Algunos de nuestros AHI pudieran clasificarse como alimentos autoestables tipo Aw y otros simplemente como alimentos autoestables tipo Métodos Combinados, en estos últimos son varios los factores que participan en su estabilidad, Aw, pH, TT y embalaje de acuerdo a los postulados de Leistner (5, 15). Para Sofos (16) un sistema dinámico de conservación de alimentos será exitoso cuando su efecto total es inhibitorio de la proliferación microbiana durante la vida útil del alimento.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al programa CYTED-D y sus coordinadores el apoyo brindado. Igualmente al SIAT del I.U.T. Cumaná el soporte financiero, y de la misma manera al Prof. Hernani Gabor.

REFERENCIAS

1. Aguilera J. M., Chirife J., Tapia de Daza M., Welti J. y Parada E. Inventario de Productos de Humedad Intermedia en Iberoamérica. CYTED-D, México. Ins. Polit. Nacional. 1990
2. Multon J. L. L'état actuel des travaux de la commission «Aliments a Humidité Intermediare» du CNERMA. Ind. Alim. Agric. 98:291. 1981
3. Welti J., Tapia de Daza M., Aguilera J. M., Chirife J., Parada E., López Malo A., López L. y Corte P. Clasificación de AHI consumidos en Iberoamérica. Rev. Esp. Cienc. Tecn. Alim. 34(1):53-63. 1994
4. Tapia de Daza M., Aguilera J. M., Chirife J., Parada E. y Welti J. Identification of microbial stability factors in traditional foods from Iberoamérica. Rev. Esp. Cienc. Tecn. Alim. 34(2):145-163. 1994
5. Leistner L. Shelf stable products and intermediate moisture food based on meat. In L.B. Rockland and L.R. Beuchat (Eds). Water activity: Theory and applications to food. New York. Marcel Decker Inc., pp. 295-337. 1987
6. Elguezabal L., Navarro P., Daly M., Chirinos C., Blohm N., Jreige M. y Hoyos G. Caracterización proximal y perfil microbiano de 68 productos de Aw modificado distribuidos en el Estado Sucre, Venezuela. Memorias CICTA-3. La Habana, Cuba. pp. 1113-1115. 1992
7. ICMSF. Ecología microbiana de Alimentos. Ed. ACRIBIA, Zaragoza, España. 1980
8. Gómez R. y Fernández-Salguero J. Water activity of spanish intermediate moisture fish products. Rev. Esp. Cienc. Tecnol. Alim., 33(6):651-656. 1993
9. Fernández-Salguero J. Conservación de Productos Cárnicos por aplicación de método combinados. Productos españoles de humedad intermedia y alta. Rev. Esp. Cienc. Tecn. Alim. 35 (3) pp 233 - 246. 1995.
10. Troller J. A. Effect of water activity on enterotoxin B production and growth of *S. aureus*. Appl. Microbiol., 21:435-439. 1971
11. Troller J. A. Effect of water activity on enterotoxin A production and growth of *S. aureus*. Appl. Microbiol., 24:440-443. 1972
12. Troller J.A. The water relations of food borne bacterial pathogens. A review, Journ. Milk. Food Techn., 36:276-288. 1973
13. Mossel D.A. Water and microorganism in food. A synthesis in «Water relations of food». Dockworth, R. B., Ed. Acad. Press, Londres, 347-361. 1976
14. Quast D.G. & Texeira N. Moisture problems of foods in tropical climates. Food Technol., 30:98-105. 1976
15. Leistner L. Food Preservation by combined methods. Food Res. International, 25:151-158. 1992
16. Sofos J.N. Current microbiological considerations in foods preservation. Int. Journ. of Food Microbiology. 19:87-108. 1993

Recibido: 26-02-1996

Aceptado: 13-05-1997