



CYTAL-ALACCTA 2019
Buenos Aires, 20 – 22 noviembre 2019

EFFECTO DE TRATAMIENTOS NO TÉRMICOS (OZONO GASEOSO, ALTA PRESIÓN) EN EL DESARROLLO MICROBIANO Y CALIDAD DE CARNES BOVINAS

Giménez Belén^a, Graiver^a, Natalia, Gianuzzi^a Leda, Zaritzky^{a,b} Noemí

^aCentro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), CONICET, Fac. de Cs Exactas, UNLP. 47 y 116, La Plata (1900), ARGENTINA. ^bDepto. de Ing. Química, Fac. de Ingeniería, UNLP. 47 y 1, La Plata (1900), ARGENTINA

belengimenez@live.com.ar, nataliagraiver@hotmail.com, zaritzkynoemi@gmail.com

Resumen

Dentro de las tecnologías no térmicas que se aplican en un producto alimentario, se encuentran el tratamiento con ozono gaseoso (OG) y las altas presiones hidrostáticas (APH). El OG es un agente antimicrobiano, por otra parte, APH permite controlar el desarrollo de microorganismos alteradores y patógenos. Entre los microorganismos patógenos *Listeria monocytogenes* resulta de interés ya que es capaz de sobrevivir a temperaturas de refrigeración. En este trabajo se analizó el efecto de tratamientos no térmicos (OG y APH) sobre el desarrollo de la flora natural heterótrofa y sobre *Listeria monocytogenes* inoculada en carne bovina y almacenada a 4 y 10°C y se estudió el efecto de dichos tratamientos sobre las características fisicoquímicas y parámetros de calidad (coloración y oxidación lipídica) de las carnes utilizadas. El OG fue aplicado a las muestras cárnicas utilizando concentraciones (276-283 mgO₃/m³) dentro de cámaras diseñadas para tal fin durante distintos tiempos de exposición. En el caso de APH, las muestras previamente se sumergieron (2.5h) en una solución que contenía NaNO₂, ácido ascórbico y NaCl, se envasaron al vacío y se les aplicó el tratamiento de APH en dos niveles (400 y 600MPa). Se optimizó el tratamiento de ozono definiendo el tiempo y concentración gaseosa que producían una disminución en el recuento microbiano de la flora heterótrofa sin afectar significativamente los parámetros de color y la oxidación lipídica. El tratamiento óptimo fueron pulsos de 5 minutos de O₃ (concentración en la cámara de 276mg O₃/m³) con repetición de estos pulsos cada 30 minutos durante de 5 horas. La aplicación de las condiciones óptimas de tratamiento disminuyó los recuentos de *L. monocytogenes*, (inóculo 10³ UFC/ml), por debajo de 2 log UFC/g durante 16 días a 4°C. La aplicación de APH prolongó la vida útil de las muestras cárnicas almacenadas a 4°C por más de 4 semanas al utilizar 400MPa y por más de 6 semanas al utilizar 600MPa sin afectar los parámetros de color. APH fue efectiva para disminuir los recuentos iniciales de *L. monocytogenes* (inóculo 10⁵ y 10⁷ UFC/ml) siendo más eficiente el uso de 600MPa y almacenamiento a 4°C, ya que mantuvo recuentos < 2 log UFC/g durante 30 días. Estos resultados permiten concluir que la aplicación de tratamientos no térmicos es eficiente en la conservación de productos cárnicos.

Palabras clave: carne bovina, ozono gaseoso, alta presión hidrostática, *listeria monocytogenes*, oxidación lipídica



1 Introducción

Dentro de las tecnologías no térmicas que se aplican para mantener la seguridad y calidad de un producto alimentario, se encuentra el tratamiento con ozono gaseoso y las altas presiones hidrostáticas. El ozono es un potente oxidante y agente de desinfección, tiene como ventajas su baja toxicidad, sus propiedades como desinfectante, desodorizante y la escasez de residuos al finalizar el proceso; tiene actividad antimicrobiana que actúa contra una variedad de patógenos transmitidos por los alimentos ya que actúa sobre diferentes constituyentes celulares, desorganizando las membranas y paredes, llevando a la lisis celular. Food and Drug Administration (FDA) reconoció al ozono como GRAS (Generally Recognized As Safe) para su utilización en contacto con alimentos y se aprobó la utilización del ozono como aditivo de alimentos, durante su procesamiento o almacenamiento (Kim *et al.*, 1999) para la preservación de frutas, verduras y carne.

El ozono puede llegar a perjudicar la calidad de las carnes debido a que puede oxidar fácilmente los tejidos musculares, producir decoloraciones indeseables y dar lugar a sabores rancios en los tejidos grasos (Clark y Takacs, 1980).

Por otra parte, la alta presión hidrostática (APH) es un método de conservación utilizado en alimentos que logra alargar su vida útil, permitiendo controlar el desarrollo de microorganismos alteradores y microorganismos patógenos. En carne bovina al aplicar APH a niveles superiores a 300 MPa se afectan los parámetros de color, atenuando significativamente la tonalidad roja característica en la carne; un tratamiento previo con preservadores químicos como el nitrito permite la formación de nitrosomioglobina, proteína más resistente a las altas presiones, manteniendo un color adecuado en la superficie de la carne (Giménez y col, 2015).

Entre los microorganismos patógenos la *Listeria monocytogenes* es capaz de sobrevivir a temperaturas de refrigeración, crecer a 4 °C en pocos días y sobrevivir a altas concentraciones de NaCl (16-20%) (Schöbitz *et al.*, 2009) siendo un serio problema de salud pública.

Los objetivos del trabajo fueron a) analizar el efecto de tratamientos no térmicos (Ozono gaseoso y Alta Presión Hidrostática) sobre el desarrollo de *L. monocytogenes* inoculada en carne bovina y almacenada en condiciones de refrigeración; b) estudiar el efecto de los tratamientos sobre las características fisicoquímicas y parámetros de calidad (coloración, textura y oxidación lipídica) de las carnes utilizadas.



2. Materiales y métodos

2.1 Materia prima: se utilizaron cortes de cuartos traseros (nalga, músculos *adductor femoris* y *semimembranosus*). Los músculos se separaron luego de 48 horas postmortem y se recortó toda la grasa visible. Las materias primas tenían un valor de pH entre 5.4-5.7. Las muestras de carne fueron obtenidas luego en el laboratorio bajo condiciones asépticas, seccionando las mismas en forma circular de 0.3 cm de espesor y 6 cm de diámetro.

2.2 Tratamiento con Ozono gaseoso: el generador de ozono (Dobzono, modelo Ozolab100) produce iones negativos y ozono mediante una tensión eléctrica (llamada "efecto Corona"). Consiste en aplicar un alto voltaje (del orden de kV) entre dos electrodos por los que se hace pasar oxígeno (o aire). Se produce una descarga eléctrica que rompe moléculas de oxígeno formando oxígeno monoatómico. Posteriormente, éste se recombina con el oxígeno molecular para formar la molécula de ozono. Los ensayos de ozonización se llevaron a cabo en cámaras de 3 L de volumen diseñadas utilizando recipientes de vidrio herméticos. Se implementó un sistema de cierre del pasaje de gas en las mangueras conectadas al generador de ozono para controlar el flujo del mismo y mangueras de salida de gas de la cámara para mantener una atmósfera constante dentro de la misma. El ozonizador fue alimentado con aire a un caudal de 2 L/min

2.3 Ensayos de Aplicación de Ozono en muestras de carne: el sistema generador de ozono que se utilizó en todos los ensayos es de tipo semi-continuo, generando ozono durante un tiempo máximo de 10 minutos. Se realizaron ensayos en los cuales las variables fueron: i) concentración de ozono utilizada en la cámara (rango entre 276-286 mg O₃/m³) ii) número y duración de los pulsos de ozono aplicados. Mediante la introducción del ozono se realizó un barrido del aire presente en la cámara. La concentración de ozono se determinó analíticamente mediante una titulación iodométrica. Se suministró un flujo de ozono a una temperatura controlada de 4 °C. Las muestras se suspendieron en forma vertical dentro de la cámara para que el ozono entre en contacto con toda su superficie simulando la forma en que las reses se encuentran en una cámara frigorífica. Se aplicaron pulsos de ozono de 5, 10, 20, 40 minutos durante de 5 horas con intervalos

Tabla 1: Diseño experimental empleado.

Código	C ozono (mg/m ³)	Pulsos de ozono (min)	Nº de pulsos aplicados	Intensidad tratamiento (It)
D5 *	276	5	10	36.66
D10*	283	10	8	58.66
D20*	283	20	6	87.98
D40*	283	40	5	146.64

sin tratamiento de 30 minutos.

Las muestras quedaron 24 horas en contacto con el ozono remanente; la descripción de cada tratamiento se explica en la

Tabla 1.



En cada caso se calculó la intensidad de tratamiento (I_t) de ozono como: $I_t = \int C \cdot V \, dt$, donde C , es la concentración de ozono y V el volumen de la cámara.

2.4 Tratamiento químico previo de inmersión y aplicación del tratamiento de APH: las muestras de carne de las mismas dimensiones que las descritas en el ensayo de ozono, fueron sumergidas durante 2.5 h a un pre-tratamiento químico en una solución compuesta por 0.62g/L NaNO_2 , 8.5g/L ácido ascórbico y 30g/L NaCl con el objeto de disminuir los efectos de decoloración producidos por la alta presión por la desnaturalización de la mioglobina (Gimenez *et al*, 2014). Luego se envasaron al vacío en películas Cryovac BB4L y se sometieron a APH en un equipo Stansted Fluid Power (modelo FPG9400:922, cilíndrico de 2 litros de capacidad, máxima presión de trabajo 900MPa, rango de temperatura: de -20 a 120 °C) en el laboratorio del INTA Castelar. El equipo opera con una velocidad de presurización de 300 MPa/min y se produce una despresurización instantánea. Se utilizaron dos niveles de presión (400 y 600 MPa), el tiempo de proceso a alta presión fue de 5 min y la temperatura de trabajo fue $20^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$.

2.5 Color: se estudiaron las modificaciones en la coloración superficial de las carnes rojas tratadas con ozono y con APH, en comparación con las muestras control (sin tratamiento, carne fresca). Las determinaciones colorimétricas se llevaron a cabo con un colorímetro triestímulo Minolta C400. Se utilizó la escala de color CIE Lab*, mediante la cual el color es descripto por los parámetros de luminosidad L^* , y de cromaticidad a^* y b^* . Se realizó sobre 3 rodajas de carne para cada condición y 6 medidas para cada muestra.

2.6 Oxidación lipídica: se evaluó la oxidación lipídica en las muestras control y en las muestras sometidas a los tratamientos no térmicos (ozono y APH) por duplicado mediante el método del ácido tiobarbitúrico (TBA) el cual reporta las sustancias reactivas al TBA (TBARS) que se expresaron como mg de malonaldehído (MDA)/Kg producto.

2.7 Análisis microbiológico

2.7.1 Recuentos de Flora natural heterótrofa: se estudió el efecto del ozono y las altas presiones sobre la flora natural heterótrofa. Se analizó el desarrollo microbiano en el producto cárnico semanalmente, mediante recuento en placa de microorganismos totales mesófilos aerobios, **M**, (PCA, 30°C , 48 h), psicrótrofos totales aerobios (PCA, 4°C , 7 días), enterobacterias, **E**, (AVRB, 37°C , 24 h), bacterias ácido lácticas, **BAL** (MRS, 30°C , 48 h) y hongos y levaduras, **H y L**, (YGC, 5 días, 30°C).

2.7.2 Proceso de inoculación con *Listeria monocytogenes* y recuentos: se estudió el efecto del tratamiento de ozono (específicamente el ensayo **D5**) y las APH sobre el desarrollo de *L.*



monocytogenes (cepa L26). Para el tratamiento con ozono, se inoculó cada muestra de forma individual con 100 µl de un cultivo de 10^3 UFC/mL de *L. monocytogenes*, se sembró sobre la superficie de la muestra cárnica, se aplicó el tratamiento, luego las muestras se envasaron al vacío y se almacenaron en forma refrigerada en una cámara a 4°C.

En el caso de APH, posteriormente a la etapa de tratamiento químico, las muestras se inocularon individualmente con 100 µl de un cultivo de un cultivo de 10^5 y 10^7 UFC/ml de *L. monocytogenes*, y se sometieron al proceso de APH (2 niveles de presión: 400 y 600 MPa). Al finalizar el proceso fueron almacenadas en cámaras de refrigeración a 4 y 10 °C. Se analizó semanalmente por duplicado el desarrollo microbiano de *L. monocytogenes* en las muestras mediante recuento en placa agar PALCAM. Se sembraron las muestras y se incubaron las placas durante 24-48 h a 37 °C. Se utilizó para los ensayos la carne fresca inoculada como control.

2.8 Análisis Estadístico: los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el software SYSTAT (SYSTAT Inc., 1990, v. 10.0). Las diferencias significativas entre las medias fueron determinadas por el método de la menor diferencia significativa, LSD ($P < 0.05$).

3 Resultados y discusión

3.1 Modelado matemático de la evolución de la concentración de ozono en la cámara de ozonización: se planteó una ecuación que permite predecir la concentración de ozono en función del tiempo $C(t)$ en la cámara de ozonización (1) basada en un balance de materia no estacionario. Se consideró como valor asintótico a la concentración de ozono en la cámara que no difería en más del 10% de la concentración de ozono en la entrada.

Una corriente Q proveniente del ozonizador con una concentración de ozono C_e ($\text{mg O}_3/\text{m}^3$) ingresaba a la cámara de ozonización de volumen V conteniendo inicialmente aire; el balance es:

$$V \frac{dC}{dt} = Q(C_e - C(t)) \quad (1) \quad \text{Integrando resulta: } \ln \frac{C_e - C}{C_e - C_0} = \frac{Q}{V} t \quad (2)$$

donde $C_0=0$ es la concentración inicial de ozono en la cámara. Si se considera mezclado perfecto, los cambios en la concentración de ozono a la salida ($C(t)$) coinciden con lo que ocurre dentro de la cámara. Considerando que la cámara de ozonización tenía: $V=3$ litros; $Q=2.2$ L/h, densidad del ozono= $2.14 \text{ Kg}/\text{m}^3$, se pudo predecir la concentración de ozono en función del tiempo en la cámara de ozonización de acuerdo a la ecuación

$$CO_3 = 283,6 * (1 - \exp(-0.318 t)) \quad (3)$$

Los valores calculados con la ec.3 muestran que luego de 30 segundos la concentración en la cámara fue $86.9 \text{ mg}/\text{m}^3$ y luego de 600 segundos (10 minutos) la concentración llegaba a un

estado estacionario 286 mg O₃/m³.

3.2 Efectos del ozono en el desarrollo microbiano y parámetros de calidad de la carne

Se observó la influencia de la intensidad de tratamiento (It) de ozono sobre los distintos parámetros estudiados y el desarrollo microbiano.

3.2.1 Color: en la Fig. 1 se presentan los resultados de la variación color superficial (ΔL^* , Δa^* , Δb^* , ΔE y relación $[(a^*/b^*)-(a^*/b^*)_0]$ de las carnes tratadas con ozono utilizando los valores de la carne fresca como referencia (L_0^* , a_0^* , b_0^*). Puede observarse que las muestras **D5** tratadas con una concentración de ozono de 276 mg O₃/m³ presentaron los menores valores de Δa^* , correspondiente a la variación de la coloración rojiza respecto a la carne sin tratamiento, indicando que este tratamiento no modifica apreciablemente la coloración de la

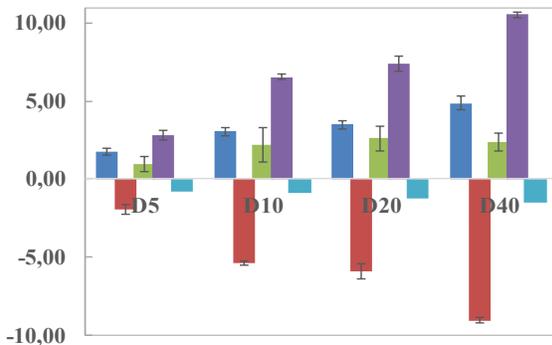


Figura 1: Efecto del ozono sobre los parámetros de color: ΔL^* (■), Δa^* (■), Δb^* (■), ΔE (■) y relación $[(a^*/b^*)-(a^*/b^*)_0]$ (■).

carne. Sin embargo, las muestras **D40** donde la intensidad del tratamiento es mayor, el parámetro a^* se modificó en forma significativa ($p < 0.05$) disminuyendo casi a la mitad respecto del control (23.65 ± 0.43) obteniéndose un valor promedio de a^* de 12.23 ± 0.13 respectivamente; este valor de a^* no es aceptado por el consumidor, y se atribuye a la oxidación de la mioglobina a metamioglobina.

carne. Sin embargo, las muestras **D40** donde la intensidad del tratamiento es mayor, el parámetro a^* se modificó en forma significativa ($p < 0.05$) disminuyendo casi a la mitad respecto del control (23.65 ± 0.43) obteniéndose un valor promedio de a^* de 12.23 ± 0.13 respectivamente; este valor de a^* no es aceptado por el consumidor, y se atribuye a la oxidación de la mioglobina a metamioglobina.

3.2.2 Oxidación lipídica: la acción oxidante que presenta el ozono puede llegar a perjudicar la calidad de las carnes aumentando la rancidez. Los valores obtenidos de rancidez, expresados como mg de malonaldehído /Kg de carne se presentan en la **Tabla 2**. De los resultados obtenidos puede determinarse que no hay una diferencia significativa entre las carnes tratadas con ozono circulando durante 5 minutos (**D5**) (concentración 276 mg/m³) y la carne sin tratamiento. Los tratamientos de ozonización durante el rango entre 10-40 minutos (**D10**, **D20** y **D40**, con una concentración 283 mg O₃/m³), presentaron valores por encima del límite de rancidez de productos cárnicos (1 mg MDA/Kg según Boles y Parrish 1990) alcanzando

Tabla 2: Efecto del tratamiento con ozono sobre la oxidación lipídica en muestras cárnicas.

Tratamiento	Oxidación lipídica (TBARS)
CF	0.7274±0.2052 ^a
D5	0.7381±0.0233 ^a
D10	1.1677±0.0086 ^{a,b}
D20	1.4248±0.0331 ^{b,c}
D40	1.7026±0.1718 ^c

Letras distintas indican resultados que difieren significativamente ($p < 0.05$).

y **D40**, con una concentración 283 mg O₃/m³), presentaron valores por encima del límite de rancidez de productos cárnicos (1 mg MDA/Kg según Boles y Parrish 1990) alcanzando

como mg de malonaldehído /Kg de carne se presentan en la **Tabla 2**. De los resultados obtenidos puede determinarse que no hay una diferencia significativa entre las carnes tratadas con ozono circulando durante 5 minutos (**D5**) (concentración 276 mg/m³) y la carne sin tratamiento. Los tratamientos de ozonización durante el rango entre 10-40 minutos (**D10**, **D20** y **D40**, con una concentración 283 mg O₃/m³), presentaron valores por encima del límite de rancidez de productos cárnicos (1 mg MDA/Kg según Boles y Parrish 1990) alcanzando



valores de 1.7026 mg MDA/kg para 40 minutos de tratamiento, lo cual resulta un valor inaceptable. Por lo expuesto se puede concluir que tiempos excesivos de contacto con una concentración de ozono de 286 mg/m³ resulta perjudicial en la muestra tanto desde el punto de vista de la coloración superficial como desde el punto de oxidación lipídica.

3.2.3 Recuentos de microorganismos heterótrofos: se investigó el efecto del ozono en el recuento inmediatamente posterior a la aplicación del tratamiento. El ANOVA realizado, indicó que los 2 factores estudiados (concentración de ozono dentro de la cámara y la intensidad de tratamiento (It) tuvieron un efecto significativo ($p < 0.05$) en la reducción de los recuentos obtenidos de bacterias mesófilas (M), bacterias ácido-lácticas (BAL), enterobacterias (E) y hongos y levaduras (H y L). En la **Tabla 3** se observa que las reducciones de los recuentos en las carnes

Tabla 3: Recuentos de la flora heterótrofa en las muestras control (CF) y en carne vacuna tratado con 276-286 mgO₃/m³ durante los distintos periodos de tratamiento.

Muestras	M (Log UFC/g)	BAL (Log UFC/g)	E (Log UFC/g)	H y L (Log UFC/g)
CF	3.69±0.05 ^d	2.84±0.08 ^c	2.34±0.18 ^c	<2
D5	3.33±0.14 ^c	2.11±0.06 ^b	<2	<2
D10	3.00±0.07 ^b	2.22±0.13 ^b	<2	<2
D20	2.54±0.05 ^a	<2	<2	<2
D40	2.56±0.08 ^a	<2	<2	<2

Letras diferentes en la misma columna indican diferencias significativas ($p < 0.05$):

reducciones de más de 1 ciclo logarítmico para todas las bacterias ensayadas. Se puede concluir que los efectos más significativos en la reducción de los recuentos microbianos se encontraron en los tratamientos con un mayor tiempo de exposición al ozono (D20 D40,), pero sin embargo esta exposición al ozono afectaba negativamente a los parámetros de color.

3.2.4 Definición del tratamiento óptimo con ozono: debido a que un excesivo tratamiento con ozono afecta negativamente los parámetros de color y la oxidación lipídica, se buscó el tratamiento óptimo en función de las características deseadas en el producto: reducción de microorganismos, baja oxidación lipídica (TBARS <1 mgMDA/g carne) y una variación del color (Δa^* por debajo de 5). Respetando estas condiciones se encontró que tratamientos con ozono utilizando una concentración de aproximadamente 276 mgO₃/m³ con pulsos de 5 minutos de tratamiento cada 30 minutos durante un periodo de 5 horas (D5), lograron mantener las características fisicoquímicas de la carne en valores aceptables y se obtienen reducciones de la carga microbiana cercanas a 1 ciclo logarítmica.

3.2.5 Efecto del tratamiento con ozono sobre *Listeria monocytogenes*: los recuentos

con tratamiento de ozonización fueron mayores a medida que aumentaba la intensidad de tratamiento (It) obteniéndose

reducciones de más de



microbianos de las muestras cárnicas inoculadas sin tratamiento con ozono fueron considerados como control. Estos resultados se presentan en la **Tabla 4**.

La concentración de *L. monocytogenes* en la carne antes del tratamiento con ozono fue 2 log UFC/g. Se observó una disminución de los recuentos en las muestras tratadas, siendo esta disminución de más de 1 ciclo logarítmico con respecto a la muestra sin tratar. Esta condición se mantuvo durante el almacenamiento refrigerado de las muestras inoculadas, lo que podría demostrar que hay un efecto del ozono sobre *L. monocytogenes* que impide su crecimiento

Tabla 4: Efecto del tratamiento con ozono sobre la inactivación de *L. monocytogenes* en muestras cármicassinoculadas y almacenadas a 4°C.

<i>L. monocytogenes</i> (log UFC/g)		
Almacenamiento a 4°C (días)	CF	Carne ozonizada D5
0	2.03±0.07a	<2
4	3.19±0.11	<2
8	3.84±0.07c	<2
12	5.10±0.29c	<2
16	6.70±0.20	<2

Letras distintas indican resultados que difieren significativamente (p<0.05)

normal.

Debe destacarse que la carne fresca inoculada sin tratamiento de ozono, envasada al vacío y almacenada a 4°C presentó un incremento de los recuentos de *L. monocytogenes* llegando a 10⁵ UFC/g luego de 16 días mientras que las tratadas con ozono los recuentos se mantuvieron menores a 10² UFC/g.

3.3 Efecto de altas presiones APH sobre los atributos el color y recuentos microbianos

3.3.1 Color: del análisis de varianza realizado se encontró que la luminosidad L* se vio afectada significativamente por las presiones aplicadas. Las muestras sometidas a 400 MPa (54.15±0.33) presentaron un menor valor de L* que las muestras sometidas a 600 MPa (56.91±0.79). Esto concuerda con Bak *et al.*, (2012) quien informó que el aumento de la presión por encima de 300 MPa conduce a un pequeño aumento en la luminosidad. El parámetro a* presentó una variación con la presión; las muestras tratadas a 400 MPa (20.28±0.19) exhibieron un mayor valor de a* comparadas con las muestras tratadas a 600 MPa (19.20±0.37); esto se debe al efecto de las altas presiones sobre las proteínas sarcoplásmicas. Sin embargo, en todos los casos, los valores obtenidos de a* fueron adecuados para el producto desarrollado (a* > 14, Zamora & Zaritzky 1987).

3.3.2 Efecto de APH sobre Recuento de microorganismos heterótrofos: En carne fresca la flora predominante fue constituida por bacterias ácido-lácticas (BAL) y mesófilas (M) presentando una carga microbiana inicial de 4 log UFC/g y 6 log UFC/g respectivamente. Las muestras sumergidas en las soluciones preservadoras y tratadas tanto a 400 como a 600 MPa mostraron recuentos de bacterias M y BAL < 2 log UFC/g (**Tabla 5**).

Tabla 5: Efecto del tratamiento con APH sobre los recuentos de la flora heterótrofa durante almacenamiento a 4°C

	Semanas 4°C	CF	S1 + 400 MPa	S1 + 600 MPa
M	0	6.00±0.06	<2	<2
	1	6.49±0.15	<2	<2
	2	10.28±0.0	<2	<2
	3	10.32±0.3	<2	<2
	4		3.83±0.15	<2
	5		4.75±0.04	2.22±0.04
	6		5.43±0.05	4.35±0.04
BAL	0	4.17±0.15	<2	<2
	1	6.02±0.17	<2	<2
	2	7.91±0.02	<2	<2
	3	8.57±0.02	<2	<2
	4		2.59±0.06	<2
	5		2.81±0.05	<2
	6		3.16±0.01	2.51±0.06

Letras distintas indican resultados que difieren significativamente (p<0.05)

La aplicación de APH prolongó la vida útil de las muestras cárnicas almacenadas a 4°C por más de 4 semanas al utilizar 400MPa y por más de 6 semanas al utilizar 600MPa. En las muestras sometidas a APH no se observó crecimiento de enterobacterias ni hongos y levaduras durante el almacenamiento.

3.3.3 Efecto del tratamiento de APH sobre el desarrollo de *Listeria monocytogenes*

Para ambas concentraciones de inóculo (10^3 UFC/g y 10^5 UFC/g) se encontró un efecto de las APH sobre el crecimiento de *Listeria monocytogenes* evidenciado por una disminución del recuento inicial después del tratamiento con APH de alrededor de 3 ciclos logarítmicos. Las muestras tratadas con APH en los dos niveles de presión y almacenadas tanto a 4 °C como a 10

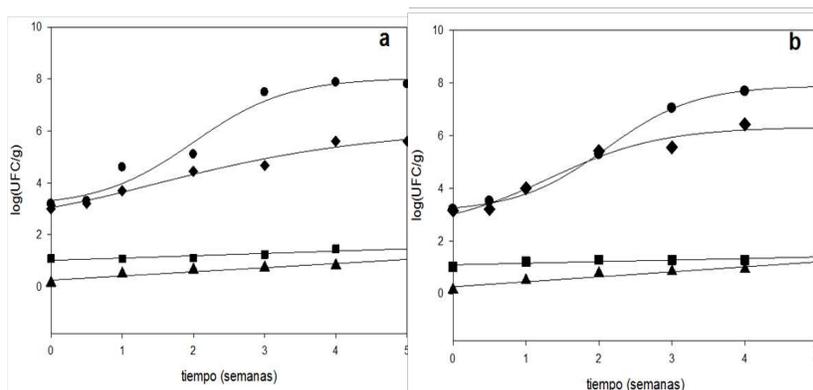


Figura 2. Aplicación del modelo de Gompertz a los recuentos de *Listeria monocytogenes* en carnes almacenadas inoculada en niveles de 10^3 UFC/g y almacenadas a) 4 °C y b) 10 °C ● carne fresca, ◆ carne con solución, ■ 400 MPa y ▲ 600 MPa.

°C, durante las primeras semanas presentaron recuentos por debajo del límite de detección (2 log UFC/g) cuando se inocularon con 10^3 UFC/g (Figura 2), lo cual significa que las altas presiones afectaron a las bacterias, impidiendo así su desarrollo normal. Se observa en las muestras

sometidas a 600 MPa menor crecimiento evidenciando el mayor efecto que producen las altas presiones sobre las bacterias. Las muestras que fueron inoculadas con 10^5 UFC/g presentaron crecimiento luego de la primera semana a 400 MPa mientras que a 600 se encontraban por debajo del límite. Se puede concluir que la aplicación APH (en dos niveles: 400 y 600 MPa) posterior a



un pre-tratamiento químico con soluciones de curado que permiten mantener un color aceptable logran disminuir el recuento inicial de la flora natural de la carne y de *L. monocytogenes* inoculada.

4. Conclusiones

Se diseñó una cámara y modeló matemáticamente mediante un balance de materia no estacionario la evolución de la concentración de ozono dentro de la cámara de ozonización en función del tiempo. Se logró disminuir hasta 1.5 ciclos logarítmicos el recuento de heterótrofos (bacterias ácido-lácticas, mesófilos y enterobacterias) utilizando ozono gaseoso en un rango de concentraciones de 276-286 mg O₃/m³ en las muestras cárnicas. El tratamiento óptimo (D5, pulsos de 5 min cada 30 min durante 5h) permitió la reducción de más de 1 ciclo logarítmico el recuento de *L. monocytogenes* inoculada, afectando su desarrollo durante el almacenamiento.

En lo referente a los estudios con altas presiones se desarrolló un producto cárnico mediante un proceso de inmersión en solución preservadora seguido de un tratamiento de alta presión hidrostática (APH) que mantenía las condiciones aptas para su consumo durante un mayor tiempo que la carne fresca. La utilización de APH como procedimiento de control del desarrollo de *L. monocytogenes* en un producto cárnico fue efectivo y produjo una disminución de los recuentos iniciales después del tratamiento, siendo más eficiente el tratamiento a 600 MPa que a 400 MPa.

5. Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por el Proyecto Bilateral entre Argentina (MINCYT) y China: “Safety improvement and shelf life extension of fresh and cooked beef and mutton products applying non-thermal technologies” coordinado por el Dr. Sergio Vaudagna del INTA. Agradecemos al Dr. Sergio Vaudagna y al INTA de Castelar por permitirnos usar el equipo de APH.

6. Referencias

- Bak, K. H., Lindahl, G., Karlsson, A. H., Lloret, E., Ferrini, G., Arnau, J. y Orlien, V. (2012). High pressure effect on the color of minced cured restructured ham at different levels of drying, pH, and NaCl. *Meat Science*, 90: 690–696.
- Boles J.A. y Parrish F.C. Jr. (1990). Sensory and chemical characteristics of precooked microwave-reheatable pork roasts. *Journal of Food Science* 55: 618-620.
- Clark, D.S. y Takacs, J. (1980). Gases as preservatives. In: *Microbial Ecology of Foods I. Factors Affecting Life and Death of Microorganisms*. J.H.
- Giménez, B., Graiver, N., Califano, A. y Zaritzky, N. (2015). Physicochemical characteristics and quality parameters of a beef product subjected to chemical preservatives and high hydrostatic pressure. *Meat Science*, 100, 179–188.
- Kim, J. G., Yousef, A. y Chism, G. (1999). Use of ozone to inactivate microorganisms on lettuce. *Journal of Food Safety*, 19, 17-33.
- Schöbitz, R., Ciampi L. y Nahuelquin Y. (2009). *Listeria monocytogenes* un peligro latente para la industria alimentaria. *Agro Sur* 37(1): 1-8 DOI:10.4206/agrosur.2009.v 37n1-0.1.
- Zamora, M. C., y Zaritzky, N. E. (1987). Potassium sorbate inhibition of microorganisms owin in refrigerated beef. *Journal of Food Science*, 52, 257.