

Efecto de las altas presiones en varios microorganismos de la carne

Castillo A., L.A.¹
Mészáros, L.²
Kiss, I.F.³

El efecto del tratamiento a altas presiones (HPP) y la nisina fue estudiado en varios microorganismos de la carne de ave y de vacuno.

Palabras claves

Tratamiento a altas presiones, eliminación de microorganismos, microorganismos deteriorantes

Resumen

El efecto del tratamiento a altas presiones (HPP) y la nisina fue estudiado en varios microorganismos de la carne de ave y de vacuno. La presión en un intervalo de 0 a 800 MPa y la nisina a una concentración de 670 IU g⁻¹ se estudio en carne molida envasada al vacío.

En la carne de pollo (con su microflora natural) el recuento total de microorganismos viables se redujo en el

orden de 3 ciclos logarítmicos por una presión de 300 MPa y en 5 ciclos logarítmicos en combinación con la nisina, a la misma presión. El 90 % de la reducción del recuento total se puede caracterizar, para las *Pseudomonas*, por el valor D = 30-39 MPa. En la carne de vacuno, contaminada artificialmente con *Listeria monocytogenes*, después del tratamiento a 200 MPa el valor de D fue 37-38 MPa. El recuento viable total, en carne de vacuno, decrecio 3 ciclos logarítmicos por una presión de 300 MPa. En combinación con la nisina este efecto se incremento 0,5-1 ciclos logarítmicos. El estudio de la eficacia del HPP en combinación con nisina requiere mayor investigación.

- 1 M.Sc. Luis A.G. Castillo Ar. (icastillo@itcr.ac.cr). Funcionario académico. Instituto Tecnológico de Costa Rica. Sede Regional San Carlos.
- 2 M.Sc. L. Meszaros. (huto@omega.kee.hu). Colaborador científico de la Facultad de Ciencias Alimentarias. Departamento de Refrigeración Universidad St Istvan de Budapest- Hungría.
- 3 Dr. I. F. Kiss. (kissif@omega.kee.hu). Catedrático de la Facultad de Ciencias Alimentarias. Departamento de Refrigeración. Universidad St Istvan de Budapest-República de Hungría H1118 Budapest. Villanyi ut 29-43 <http://www.food.kee.hu/english.php>.

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del tratamiento HPP solo como en combinación con la nisina sobre Listeria monocytogenes, Pseudomonas, el recuento total de organismos viables y, además, cómo la nisina incrementa el efecto del HPP.

Introducción

Es bien conocido por la literatura que los microorganismos vegetativos son susceptibles al tratamiento a altas presiones (HPP). Este es efectivo para inactivar o reducir microorganismos vegetativos causantes del deterioro de los alimentos como de los patógenos vegetativos, desde el punto de vista de la seguridad alimentaria (Hoover *et al.*, 1989, Smelt, 1998, Knorr, 1993). Un enfoque para mejorar el efecto de los métodos de conservación debe surgir el combinar los tratamientos antimicrobianos para reducir la susceptibilidad de los microorganismos (Patterson y Kilpatrick 1998; Capellas *et al.* 2000).

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto del tratamiento HPP sólo como en combinación con la nisina sobre *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas*, el recuento total de organismos viables y, además, cómo la nisina incrementa el efecto del HPP.

Métodos y materiales

La carne de pollo, con su flora microbiana natural, fue deshuesada y molida. La carne de vacuno (*musculus psoas maior*) fue utilizada 24 horas después de la matanza. La carga microbiana fue de 10^3 - 10^4 CFU g^{-1} . La carne fue molida y una parte se inoculó con una suspensión de una cepa de *Listeria monocytogenes* OÉTI 493 KR (10^6 - 10^7 CFU g^{-1}) preparada 24 horas antes de su uso.

Las carnes se envasaron al vacío en bolsas (PE-PA-PE) multibarrera WIPAK.

El preparado NISAPLIN (Aplin & Barrett Ltd., U.K., 1.0×10^6 IU nisina g^{-1}) fue empleado en los experimentos; fue disuelto en 50 % de alcohol etílico, luego centrifugado (MLW T-24) durante 2

minutos a 15×10^3 U min^{-1} y filtrado con una unidad MILLEX®-GV 0,22 mm (MILLIPORE), obteniéndose de esta forma una solución de nisina con una concentración de 670 IU g^{-1} . Esta solución fue preparada y mantenida a 4 °C con 24 horas de antelación.

Las muestras de carne molida de pollo y de vacuno se mantuvieron a 20-23 °C y a 4 °C durante 60 minutos máximo, entre la adición de nisina y el tratamiento HPP.

El tratamiento a alta presión se realizó con el FOOD LAB 900 (STANSTED,UK), ubicado en la Universidad St. István de Budapest, en el Departamento de Refrigeración. El HPP se llevó a cabo en un intervalo de presiones de 100-800 MPa, el tiempo de tratamiento fue de 20 minutos y la temperatura se mantuvo entre 0 y 40 °C, durante los tratamientos.

Las muestras fueron almacenadas en refrigeración a 4 °C, durante su estudio. Las determinaciones microbiológicas de las muestras, tanto inoculadas como no inoculadas, se llevaron a cabo en función del HPP, del HPP en combinación con nisina y en función del tiempo del almacenamiento.

Una muestra de 10 g de carne molida fue homogenizada en 90 mL de diluyente de recuperación máxima (0,1% peptona, 0,85% NaCl) con un Stomacher. De esta suspensión base se prepararon series de diluciones decimales. Para el recuento total de organismos viables, en general, se usó el método de recuento por medio de la siembra en espiral de las placas (técnica Spiral Plater) y en el caso de recuentos de cifras bajas de microorganismos viables, el método del número más probable (MPN). El recuento viable fue determinado en Nutrient Agar (MERCK, 1.05450) y el número de pseudomonas en Pseudomonas Agar Base (OXOID, CM559) ambos se incubaron a 30 °C durante 48 horas. El conteo de *Listeria monocytogenes* tanto en PALCAM-

Listeria-Selective agar base (MERCK, 1.11755) como en Nutrient Agar se incubó a 30 °C por 48 horas.

El efecto de los diferentes tratamientos sobre los microorganismos fue evaluado por los cambios en las células viables. Los promedios, la desviación estándar y

las ecuaciones de regresión fueron calculados con base en los datos; las curvas de supervivencia fueron ajustadas, en los casos de conteos viables de *Pseudomonas* y de *Listeria monocytogenes*.

Resultados

El recuento total de organismos viables en la carne molida de pollo decreció en el orden de 1 ciclo logarítmico a 200 MPa y esta reducción alcanzó más de 3 ciclos logarítmicos de magnitud a 300 MPa. En combinación con la nisina la reducción fue mayor en 1.5–2.0 ciclos logarítmicos (Fig. 1).

Las pseudomonas son altamente susceptibles al HPP. La reducción de éstas fue del orden de 5 ciclos logarítmicos a 300 MPa, mientras que en combinación con la nisina, ésta no influyó significativamente en la reducción (Fig. 2). Los cambios en las fracciones de sobrevivientes no pudieron ser detectados en función del tiempo de almacenamiento.

El efecto del tratamiento hidrostático, en un intervalo de 0-500 MPa, se estudió sobre *Listeria monocytogenes* en la carne molida de vacuno.

A presiones mayores de los 250 MPa, el recuento viable total disminuyó drásticamente y a una presión de 500 MPa el descenso fue del orden de los 6 ciclos logarítmicos.

En combinación con la nisina (670 IU g⁻¹) fueron calculados dos diferentes resultados: entre el intervalo de presión 0-250 MPa dependiendo de la temperatura de almacenamiento de las muestras y, entre la adición de nisina y el tratamiento HPP. La supervivencia en el recuento viable de muestras (tratadas a alta presión y en combinación con nisina) que se almacenaron a 4 °C antes del tratamiento hidrostático no presentaron diferencia,

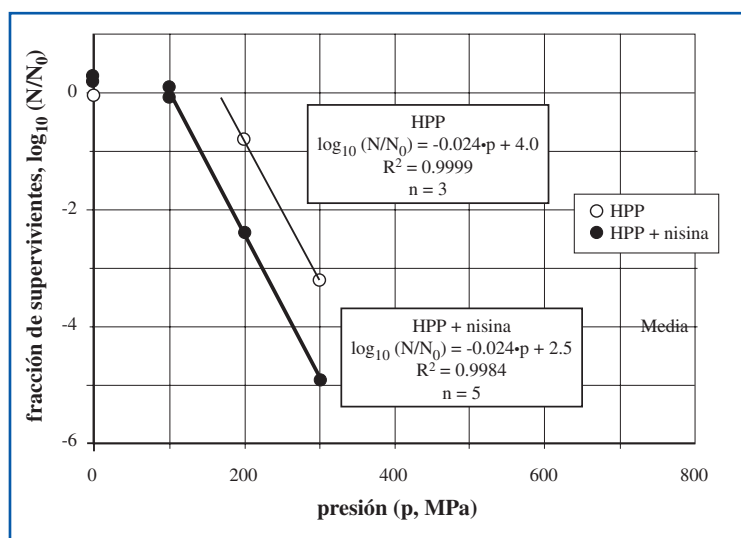


Figura 1
Fracción de supervivientes del recuento total en carne de pollo molida en función del HPP y la nisina

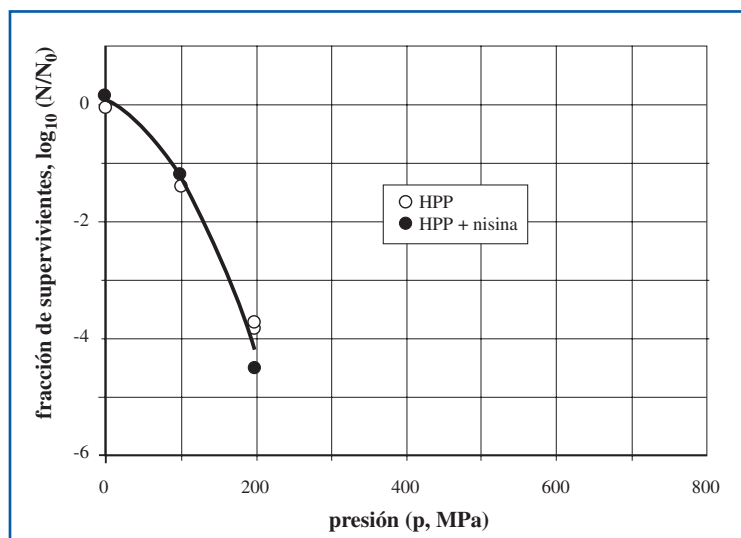


Figura 2
Fracción de supervivientes de pseudomonas en carne de pollo molida en función del HPP y la nisina

pero en aquellas muestras conteniendo nisina, las cuales se almacenaron a 20-24 °C, el recuento viable fue 0.5-1.0 ciclos logarítmicos menor que las muestras sin nisina, incluyendo también las no tratadas (Fig. 3).

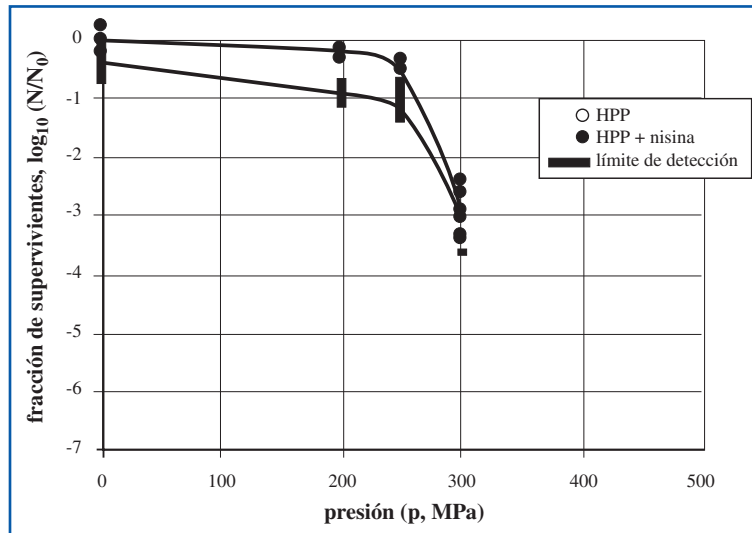


Figura 3.
Fracción de supervivientes de *Listeria monocytogenes* en carne molida de vacuno en función del HPP y nisina a temperatura ambiente

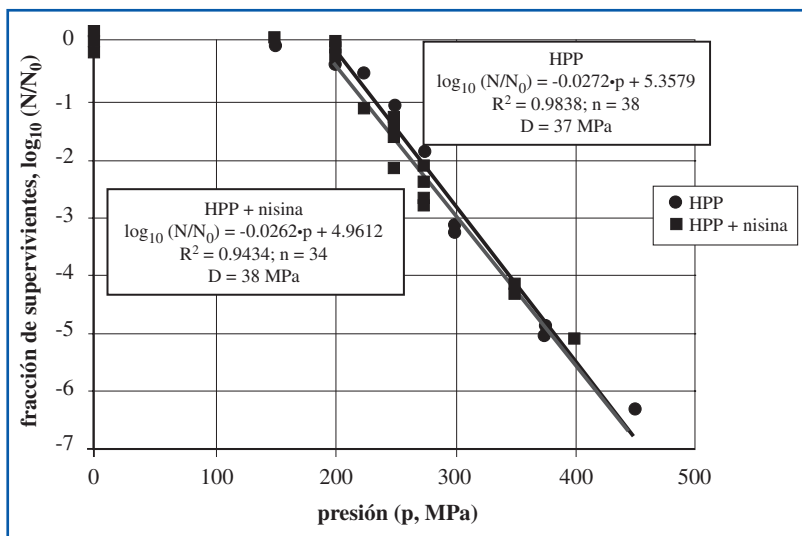


Figura 4
Fracción de supervivientes de *Listeria monocytogenes* en carne molida de vacuno en función del HPP y la nisina bajo refrigeración

A presiones arriba de los 250 MPa, las fracciones de sobrevivientes no se diferencian de los dos tratamientos. En ambos casos, la reducción fue del orden de 6 ciclos logarítmicos. La pendiente de las ecuaciones de regresión fueron similares entre las presiones de 200-500 MPa; el valor de D₁₀ sin nisina fue de 37 MPa, mientras que, en presencia de ésta, el valor D₁₀ fue 38 MPa (Fig. 4).

Conclusiones

El recuento viable total en carne de pollo se redujo progresivamente tres ciclos logarítmicos por una presión de 300 MPa; este efecto fue incrementado, a la misma presión, en el orden de 1.5 ciclos logarítmicos en combinación con la nisina. El recuento de pseudomonas decreció cuatro ciclos logarítmicos tanto a 200 MPa por sí solo como en combinación con la nisina. El comportamiento de la células vivas, pseudomonas y el recuento total de organismos viables fueron muy similares a los hallados por Shigehisa *et al.* 1991; Carlez *et al.* 1993, 1994. Los microorganismos Gram negativos son más susceptibles al tratamiento hidrostático que los Gram positivos; por lo tanto, la reducción del número de pseudomonas causantes del deterioro es muy efectiva al aplicarse altas presiones. El tratamiento HPP es un método de descontaminación eficaz para prolongar el tiempo de conservación y para eliminar algunos microorganismos peligrosos.

El recuento viable de *Listeria monocytogenes* en función del HPP apenas cambió hasta los 250 MPa. En presencia de nisina el efecto se incrementó un máximo de 1 ciclo logarítmico. Luego de esta presión, la fracción de supervivientes cayó rápidamente y su comportamiento no se vio influenciado por la nisina. Los valores D₁₀ de *Listeria monocytogenes*

El recuento viable de Listeria monocytogenes en función del HPP apenas cambió hasta los 250 MPa. En presencia de nisina el efecto se incrementó un máximo de 1 ciclo logarítmico.

en el rango \log_{10} de fracciones de supervivientes fue de 37 MPa, y 38 MPa con y sin nisina, respectivamente; prácticamente sin diferencia significativa. Otros autores (Styles *et al.* 1991; Lanciotti *et al.* 1996) hallaron que el medio ejerce un efecto protector en los microorganismos y el tratamiento HPP hace susceptible a los microorganismos a la nisina.

La presente investigación se realizó en el marco del FAIR-CT96-1148, con asistencia del Comité Nacional Húngaro de Desarrollo Tecnológico (OMFB No. 0061/99)

Agradecimientos

Los autores desean expresar su agradecimiento, por su amable ayuda, al Sr. Steve Lodge, APLIN & BARRETT Ltd., U.K., por la asistencia con la nisina; a la Sra. Dra. Réka Kiss, del Instituto Nacional de Nutrición e Higiene Alimentaria (OÉTI) de Budapest, por la asistencia con las cepas de *Listeria monocytogenes*, así como también a la Escuela de Ciencias y Letras de la Sede San Carlos (SSC), del Instituto Tecnológico de Costa Rica (ITCR).

Referencias

- Capellas, M., Mur, M.M., Gervilla, R., Yuste, J. and Guamis, B. (2000): Effect of high pressure combined with mild heat or nisin on inoculated bacteria and mesophiles of goat's milk fresh cheese. *Food Microbiol.* 17, 633-641.
- Carlez, A., Rosec, J.P., Richard, N. and Cheftel, J.C. (1993): High pressure inactivation of *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas fluorescens* and *Listeria innocua* in inoculated minced beef muscle. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 26, 357-363.
- Carlez, A., Cheftel, J.C., Rosec, J.P. and Richard, N. (1994): Bacterial growth during chilled storage of pressure treated meat. *Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 27, 48-54.
- Hoover, D., Metrick, C., Papineau, A.M.,

Farkas, D. and Knorr, D. (1989): Biological effects of high hydrostatic pressure on food microorganisms. *Food Technol.* 43(3), 99-107.

Knorr, D. (1993): Effects of high hydrostatic pressure on food safety and quality. *Food Technol.* 47(6), 156-161.

Lanciotti, R., Gardini, F., Sinigaglia, M. and Guerzoni, M.E. (1996): Effects of growth conditions on the resistance of some pathogenic and spoilage species to high pressure homogenization. *Letters in Appl. Microbiol.* 22, 165-168.

Patterson, M.F. and Kilpatrick, D.F. (1998): The combined effect of high hydrostatic pressure and mild heat on inactivation of pathogens in milk and poultry. *J. Food Protection*, 61, 432-436.

Shigehisa, T., Ohmori, T., Saito, A., Taji, S. and Hayashi R. (1991): Effects of high hydrostatic pressure on characteristics of pork slurries and inactivation of microorganisms associated with meat and meat products. *Int. J. of Microbiol.* 12, 207-216.

Smelt, J.P.P. (1998): Recent advances in the microbiology of high pressure processing. *Trends in Food Sci. and Technol.* 9, 152-158.

Styles, M.F., Hoover, D. and Farkas, D. (1991): Response of *Listeria monocytogenes* and *Vibrio parahaemolyticus* to high hydrostatic pressure. *J. of Food Sci.* 56(5), 1004-1407.