

VIII JORNADA DE DIFUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN Y EXTENSIÓN – FCV-UNL

RESUMEN EXTENDIDO

APLICACIÓN DE LUZ ULTRAVIOLETA-C Y ADITIVOS NATURALES PARA EXTENDER LA VIDA ÚTIL DE LA CARNE BOVINA

Fernández Blanco M ^{1*}, Olivera DF ^{1,2}, Coll Cárdenas FJ ¹

¹ Cátedra de Biofísica. Facultad de Ciencias Veterinarias. UNLP.

² Centro de investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos – CONICET

* Correspondencia: Fernández Blanco M. E-mail: mfblanco@fcv.unlp.edu.ar

Editado por: R. Sobrero, C. Baravalle y V. Matiller

RESUMEN.

La carne es un producto que, debido a sus características intrínsecas, permite el desarrollo de una gran variedad de microorganismos a nivel de su superficie, los cuales pueden generar productos de desecho a partir del metabolismo de los nutrientes disponibles induciendo alteraciones principalmente en su apariencia, olor y sabor. Por lo tanto, cuanto mayor sea la carga microbiana de un alimento, mayor será la magnitud de las alteraciones y, en consecuencia, tendrá una menor vida útil. El objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la aplicación conjunta de la luz UV-C y los aditivos naturales aceite esencial de romero y ácido láctico sobre la vida útil de la carne bovina refrigerada. Los ensayos experimentales se llevaron a cabo partir de muestras de carne bovina obtenidas del músculo Longissimus dorsi (pH = 5.8) colocadas en placas de Petri estériles individuales irradiadas con luz UV-C durante 5 minutos y luego rociadas con 1 ml de una solución de aceite esencial de romero y ácido láctico (1:1). Las muestras no tratadas fueron consideradas Control. Todas las muestras fueron envasadas en películas de polietileno y almacenadas en condiciones de refrigeración a 0, 4 y 8 °C. La aplicación combinada de luz UV-C y aditivos naturales permitió obtener un producto con una mayor vida útil microbiológica y sensorial en condiciones de refrigeración. Por lo tanto, estas tecnologías representan una alternativa para proteger la salud pública.

Palabras clave: aceites esenciales, calidad, inocuidad.

APPLICATION OF ULTRAVIOLET-C LIGHT AND NATURAL ADDITIVES TO EXTEND THE SHELF LIFE OF BEEF.

SUMMARY.

Meat is a product that, due to its intrinsic characteristics, allows the development of a great variety of microorganisms at the surface, which can generate waste products from the metabolism of available nutrients inducing alterations mainly in appearance, odor, and taste. Therefore, the higher the microbial load of food, the greater the magnitude of the alterations and consequently, it will have a shorter shelf life. The objective of this work was to evaluate the effect of joint application of UV-C-light and natural additives, rosemary essential oil and lactic acid, on refrigerated beef shelf life. Experimental trials were carried out from samples of beef obtained from *Longissimus dorsi* muscle (pH = 5.8) placed in individual sterile Petri plates irradiated with UV-C light for 5 minutes and then sprayed with 1 ml of a solution of rosemary essential oil and lactic acid (1:1). Untreated samples were considered as Control. All samples were packaged with polyethylene films and stored in refrigeration conditions to 0, 4 and 8 °C. The results obtained made it possible to determine the microbiological and sensory shelf life. The combined application of UV-C light and natural additives allowed to obtain a product with a longer microbiological and sensory shelf life for the temperatures commonly used in commercial refrigeration, thus guaranteeing its quality and safety to protect public health

Keywords: essential oils, quality, safety.

La vida útil se define como "el momento durante el cual el producto alimenticio: a) se mantiene seguro desde el punto de vista de su inocuidad; b) mantiene las características sensoriales, químicas, físicas y microbiológicas deseadas; c) cumple con lo declarado en su etiqueta sobre su valor nutricional, cuando se almacene en las condiciones recomendadas" (IFST, 1993). En particular, la carne, debido a sus características intrínsecas, permite el desarrollo de una gran variedad de microorganismos a nivel de su superficie, los cuales tienen la capacidad de generar productos de desecho a partir del metabolismo de los nutrientes disponibles induciendo alteraciones principalmente del aspecto, olor y sabor. Por lo tanto, cuanto mayor sea la carga microbiana de este alimento, mayor será la magnitud de las alteraciones y, en consecuencia, tendrá una menor vida útil.

Entre los métodos utilizados para la conservación de la carne, la refrigeración es fundamental para mantener la higiene, inocuidad, vida útil, apariencia y calidad nutricional (Cassens, 1994; Zhou *et al.*, 2010). Sin embargo, debe tenerse en cuenta que, durante la conservación en condiciones de refrigeración, pueden encontrarse microorganismos en la superficie de la carne, capaces de crecer a bajas temperaturas (Coll Cárdenas, 2005), por lo cual se deberá considerar una adecuada elección de métodos de conservación que garanticen la seguridad microbiana y fisicoquímica manteniendo a su vez, las cualidades nutricionales y sensoriales (Abdullahi *et al.*, 2016). Al respecto, el concepto de obstáculos (tecnología de barreras o combinación de técnicas) se ha convertido en una tecnología que simultáneamente reduce las pérdidas de calidad tanto nutricional como sensorial y mejora la seguridad de los productos alimenticios (Rhaman, 2015), permitiendo reducir las altas intensidades de los tratamientos aplicados (Leistner, 1985). En este sentido, el uso de diferentes métodos tales como irradiación con luz ultravioleta-C (UV-C), temperaturas de enfriamiento, disminución del pH y aditivos naturales como aceites esenciales, son algunas de las tecnologías no térmicas que se pueden considerar para extender la vida útil microbiológica, que cuando operan juntos tendrán una mayor actividad que al hacerlo por separado (Fernández Blanco *et al.*, 2021).

En primer lugar, la luz UV-C es radiación electromagnética no ionizante que tiene la capacidad de reducir la carga microbiana presente tanto en superficies inertes como en la superficie de los alimentos sin dejar residuos tóxicos. De acuerdo con Haughton *et al.* (2011), esta radiación es un poderoso agente bactericida que, al ser absorbida por las proteínas y ácidos nucleicos, afecta al material genético de los microorganismos, induciendo cambios en la multiplicación y viabilidad celular.

Por su parte, los aceites esenciales (AEs) obtenidos a partir de plantas pueden emplearse para inhibir el crecimiento de microorganismos en alimentos

(Kačániová *et al.*, 2017), dificultando el desarrollo microbiano mediante mecanismos de acción muy variados que dependen de la composición química de cada aceite en particular. La industria alimentaria ha mostrado una fuerte tendencia hacia el uso de antimicrobianos de origen vegetal, en respuesta a las preferencias de los consumidores por productos naturales, de manera de poder garantizar la seguridad alimentaria, reemplazando los aditivos sintéticos tradicionales (Mendonca *et al.*, 2018). En ese sentido, los AEs son usualmente reconocidos como seguros (GRAS) (Kim *et al.*, 2013; Vinceković *et al.*, 2017). Su efecto antimicrobiano puede atribuirse a su capacidad para atravesar las membranas bacterianas e inhibir las funciones celulares (Fisher y Phillips, 2009; Guinoiseau *et al.*, 2010; Bajpai *et al.*, 2012). Existe una gran variedad de AEs que pueden utilizarse en la conservación de la carne, entre los cuales se encuentra el de romero (*Rosmarinus officinalis* L), utilizado en el presente trabajo.

Otro aditivo de origen natural ampliamente utilizado a nivel industrial como agente bacteriostático y bactericida es el ácido láctico, el cual contribuye a extender la vida útil de los alimentos ejerciendo el control microbiano principalmente a través de la reducción del pH. Cabe destacar que puede aplicarse en productos alimenticios porque es GRAS (21 CFR, 172.515) (Mani-López *et al.*, 2012). Una de las limitaciones de la aplicación de los ácidos orgánicos como antimicrobianos es que en altas concentraciones podrían causar cambios sensoriales indeseables. Por este motivo, los tratamientos combinados podrían lograr el efecto antibacteriano deseado en concentraciones lo suficientemente bajas como para minimizar los cambios indeseables en el sabor (Fernández Blanco *et al.*, 2021).

En función de lo expuesto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de la luz UV-C y los aditivos naturales, aceite esencial de romero y ácido láctico, en forma conjunta sobre la vida útil de la carne bovina refrigerada.

Los ensayos experimentales se llevaron a cabo a partir de muestras circulares de carne bovina, de 0.05 m de diámetro y 0.005 m de espesor, obtenidas a partir del músculo *Longissimus dorsi* (pH = 5.8) colocadas en placas de Petri estériles individuales (n = 30). Parte de estas muestras (n = 15), fueron irradiadas con luz UV-C durante 5 minutos, recibiendo una dosis total de 5567 J m⁻² determinada mediante un radiómetro digital (Cole-Parmer, USA) y posteriormente, cada una fue rociada con 1 ml de una solución de aceite esencial de romero y ácido láctico (1:1). Se consideraron muestras Control, las que no recibieron tratamiento. Tanto las muestras Tratadas como las Control fueron envasadas en bolsas individuales de polietileno de baja densidad al oxígeno y se almacenaron a 0, 4 y 8 °C.

A diferentes tiempos de almacenamiento se realizaron los recuentos microbiológicos de las diferentes muestras refrigeradas, para lo cual, las superficies de las carnes (Tratadas y Control) se hisoparon individualmente, sembrándose por duplicado en agar Cetrimide (medio de cultivo selectivo para *Pseudomonas* spp.) e incubando en estufa a 35-37 °C durante 24-48 h. Se determinó el número de unidades formadoras de colonias (UCF cm⁻²) utilizando un cuentacolonia Ionomex y los resultados obtenidos se modelaron matemáticamente determinándose la vida útil microbiológica.

Por otra parte, se determinó el color superficial de las muestras utilizando un sistema de visión computacional (SVC) (Goñi y Salvadori, 2017). El SVC permitió transformar el color de imágenes digitales (formato RGB), al espacio de color CIEL*a*b* (L*: luminosidad; a*: enrojecimiento; b*: amarillez). Además, a partir de los parámetros mencionados (L*, a* y b*), se calculó la variación total de color (ΔE), parámetro utilizado como descriptor del color, a partir de la siguiente ecuación:

$$\Delta E = \sqrt{((L^* - L_0^*)^2 + (a^* - a_0^*)^2 + (b^* - b_0^*)^2)}$$

Donde: L₀*, a₀* y b₀* = lecturas en el tiempo cero, y L*, a* y b* representaron las lecturas individuales luego del almacenamiento a distintos tiempos.

Los ensayos fueron realizados por triplicado.

Asimismo, dichas imágenes fueron evaluadas por un panel de consumidores a fin de obtener información sobre su aceptabilidad. Estas imágenes se presentaron sin descripción consultándose cuáles eran aceptables.

Todas las determinaciones se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza (ANOVA) con niveles significancia de 0.05.

La cinética del crecimiento bacteriano de las muestras Tratadas y Control se presentan en la Figura 1. Se consideró como fin de la vida útil microbiológica al tiempo en que las bacterias del género *Pseudomonas* spp. alcanzaron un desarrollo de 10⁷ UFC cm⁻², en ausencia de microorganismos patógenos (Coll Cárdenas, 2005). Se determinó que las muestras Control presentaron una vida útil de 5, 14 y más de 15 días, almacenadas a temperaturas de refrigeración de 8, 4 y 0 °C, respectivamente. Mientras que, para las muestras Tratadas, se logró un aumento importante en estos tiempos, con valores de 8, más de 16 y 20 días para las mencionadas temperaturas.

Al evaluar el color superficial de las muestras, se observó una disminución de los tonos de rojo (a*), con el tiempo de almacenamiento, para las tres temperaturas estudiadas. En las muestras almacenadas a 0 °C, la variación de a* por día de almacenamiento fue de 2.60 % en las muestras Control, mientras que en las Tratadas fue de 1.13 %. En el caso de las conservadas a

4 °C, esta disminución resultó de 2.45 % y 1.30 %, respectivamente. Por último, en las muestras almacenadas a 8 °C, se observaron las mayores diferencias entre ambos grupos, siendo la variación de a* de 8.13 % para las Control y 3.73 % para las Tratadas. Podemos ver que la disminución de los tonos de rojo resultó menor en las muestras Tratadas en comparación con las muestras Control para todas las condiciones de almacenamiento, demostrándose de esta manera el efecto antioxidante del tratamiento aplicado, ya que las pérdidas de color son atribuidas al cambio en la forma química del pigmento oximioglobina (O₂Mb), de color rojo, a metamioglobina (MMb), de color pardo. Asimismo, estos resultados verifican que la velocidad de degradación de a* es mayor con el aumento de la temperatura de almacenamiento.

Mediante la evaluación sensorial de las muestras se pudo cuantificar el límite de color superficial aceptable por el consumidor, el cual fue ΔE = 8. A partir de este valor y de las cinéticas de cambio de color para cada temperatura (Figura 2), la vida útil sensorial resultó de 3, 6 y 10 días para las muestras Control, y 3, 8 y 14 días para las muestras Tratadas a 8, 4 y 0°C, respectivamente, verificándose así, la influencia de la opinión del consumidor en la vida útil del producto (Figuras 2 y 3).

El uso de combinación de agentes antimicrobianos proporciona un amplio rango de actividad, lo que da como resultado un aumento de la acción contra microorganismos patógenos o del deterioro, permitiendo un mejor control de los microorganismos en los alimentos comparado con el uso de un método de conservación individual (Santiesteban-Lopez *et al.*, 2007; Garcia-Garcia *et al.*, 2011). Estos conceptos apoyan los resultados del presente trabajo.

Varios estudios han probado la efectividad del uso de métodos combinados como obstáculos para prevenir el desarrollo de microorganismos contaminantes, sabiendo que la aplicación de manera individual falla en proveer una adecuada conservación (Tassou *et al.* 2000). Diversos investigadores (Huq *et al.*, 2015, Sirocchi *et al.*, 2017, Yeh *et al.*, 2018, Talero García, 2019, Ishaq *et al.*, 2021) han determinado una mayor acción de los AEs cuando se utilizan de manera conjunta con otros agentes, obteniendo efectos sinérgicos en la mayoría de los casos, sin alterar la calidad de los diferentes alimentos, al igual que en nuestro estudio.

Por lo expuesto, podemos concluir que la aplicación combinada de luz UV-C y aditivos naturales permitió obtener un producto con una mayor vida útil microbiológica y sensorial para las temperaturas comúnmente empleadas en refrigeración comercial, garantizando por tanto su calidad e inocuidad con el fin de proteger la salud pública.

Agradecimientos

El presente trabajo pudo realizarse gracias al financiamiento de la Universidad Nacional de La Plata: Proyecto 11/V240 y Beca Doctoral de la Médica Veterinaria Mariana Fernández Blanco.

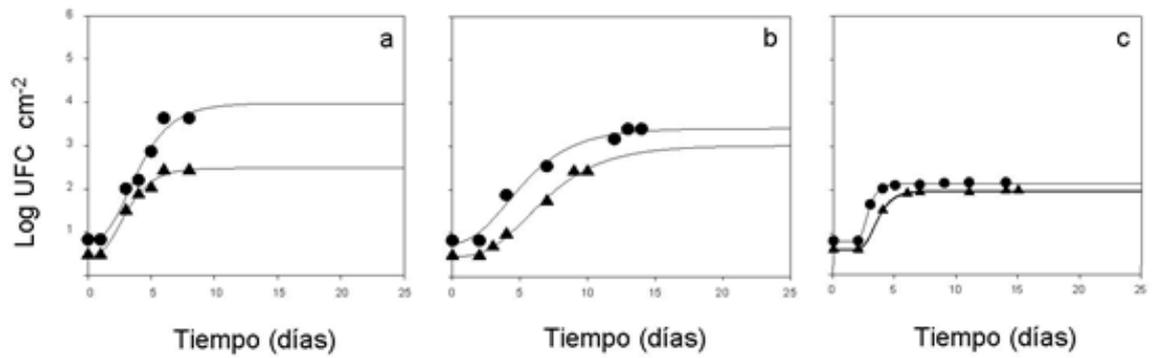


Figura 1. Desarrollo microbiano de *Pseudomonas* spp. en el músculo *Longissimus dorsi* en muestras control (●) y tratadas con la combinación de luz UV-C y solución de aceite esencial de romero y ácido láctico (▲), durante el almacenamiento bajo condiciones de refrigeración a 8 °C (a), 4 °C (b) y 0 °C (c).

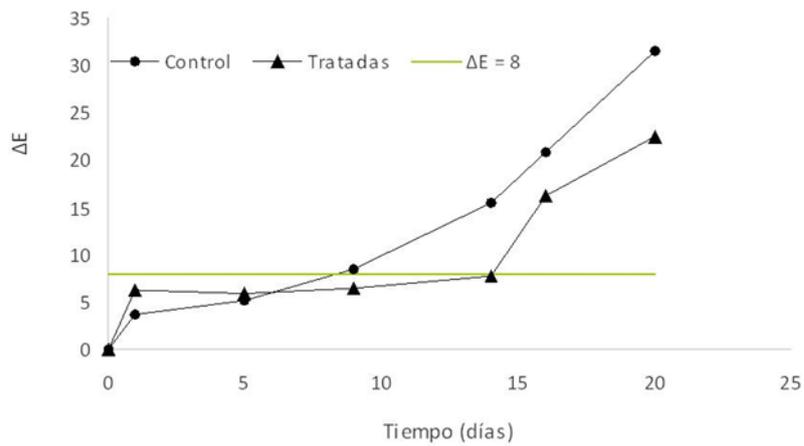


Figura 2. Evolución de la variación total de color (ΔE) en muestras de *L. dorsi*, almacenadas a 0 °C.

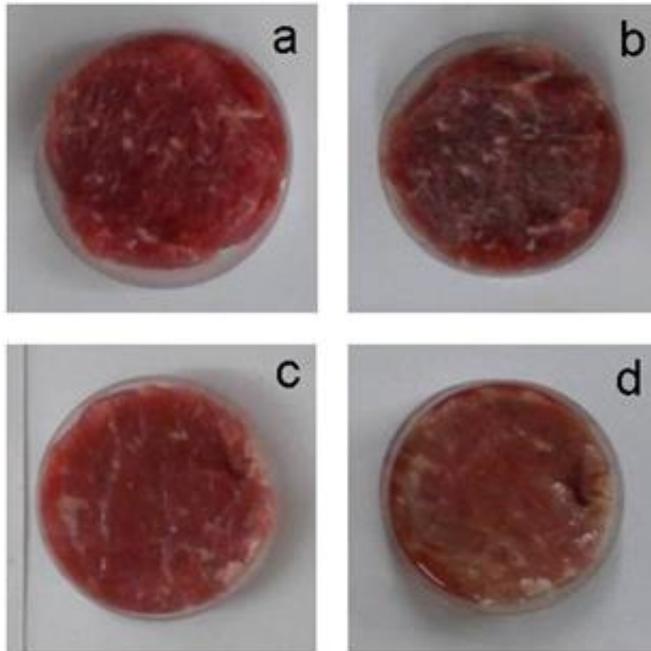


Figura 3. Muestras de *L. dorsis* almacenadas a 0 °C. a) Control, día 0; b) Control, día 10; c) Tratada, día 0; d) Tratada, día 14.

Bibliografía

Abdullahi N, Ariahe CC, Abu OJ. 2016. Effect of chemical hurdles on sensory attributes of kilishi. *Ann. Food Sci. Technol.*, 17: 452-457.

Bajpai VK, Baek K-H, Kang SC. 2012. Control of Salmonella in foods by using essential oils: A review. *Food Res. Int.*, 45: 722-734.

Cassens RG. 1994. *Meat Preservation: Preventing Losses and Assuring Safety*. 1ra Edición. Food and Nutrition Press, Inc. Trumbull, Connecticut, USA. 133 pp.

Coll Cárdenas FJ. 2005. *Modelado matemático del desarrollo microbiano en carnes bovinas*. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Veterinarias, Universidad Nacional de La Plata.

Fernández Blanco M, Amasino AJ, Pena IC, Laporte GM, de la Sota PE, Olivera DF, Coll Cárdenas FJ. 2021. Inhibition of microbial growth in bovine meats surface by combined physical agents and natural additives. En: Cortez Vieira MM, Pastrana L, Aguilera J (eds.). *Sustainable Innovation in Food Product Design from Springer Food Engineering Series* (En prensa).

Fisher K, Phillips C. 2009. The mechanism of action of a citrus oil blend against *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*. *Journal of Applied Microbiology*, 106: 1343-1349.

García-García R, López-Malo A, Palou E. 2011. Bactericidal action of binary and ternary mixtures of carvacrol, thymol, and eugenol against *Listeria innocua*. *J. Food Sci.*, 76: 95-100.

Goñi SM, Salvadori VO. 2017. Color measurement: comparison of colorimeter vs. computer vision system. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 11 (2): 538-547.

Guinoiseau E, Luciani A, Rossi PG, Quilichini Y, Ternengo S, Bradesi P, Berti L. 2010. Cellular effects induced by *Inula graveolens* and *Santolina corsica* essential oils on *Staphylococcus aureus*. *Eur. J. Clin Microbiol. Infect Dis*, 29: 873-879.

Haughton P, Lyng J, Cronin D, Morgan D, Fanning S, Whyte P. 2011. Efficacy of UV light treatment for the microbiological decontamination of chicken, associated packaging, and contact surfaces. *J. Food Prot.*, 74 (4): 565-572 (8).

Huq T, Vu KD, Riedl B, Bouchard J, Lacroix M. 2015. Synergistic effect of gamma (γ) irradiation and microencapsulated antimicrobials against *Listeria monocytogenes* on ready-to-eat (RTE) meat. *Food Microbiology*, 46: 507-514.

Institute of Food Science and Technology (IFST). 1993. Shelf life of foods - Guidelines for its determination and prediction. London, UK. 85 pp.

Ishaq A, Syed QA, Ebner PD, Ubaid H, Rahman, MS. 2021. Multiple hurdle technology to improve microbial safety, quality, and oxidative stability of refrigerated raw beef. *LWT - Food Sci. Technol.*, 138 (12):110529

Kačániová M, Terentjeva M, Vukovic N, Puchalski C, Roychoudhury S, Kunová S, Klůga A, Tokár M, Kluz M, Ivanišová E. 2017. The antioxidant and antimicrobial activity of essential oils against *Pseudomonas* spp. isolated from fish. *Saudi Pharm. J.*, 25 (8): 1108-1116.

Kim S-J, Cho AR, Han J. 2013. Antioxidant and antimicrobial activities of leafy green vegetable extracts and their applications to meat product preservation. *Food Control*, 29 (1): 112-120.

Leistner L. 1985. Hurdle technology applied to meat products of the shelf stable product and intermediate moisture food types (pp. 309-329). En: Simatos D, Multon JL (eds.). *Properties of Water in Foods*. Springer, Holanda.

Mendonca A, Jackson-Davis A, Moutiq R, Thomas-Popo E. 2018. Use of natural antimicrobials of plant origin to improve the microbiological safety of foods (pp. 249-272). En: Ricke SC, Atungulu GG, Rainwater CE, Hong Park S (eds.). *Food and Feed Safety Systems and Analysis*. Elsevier, Amsterdam.

Rahman MS. 2015. Hurdle technology in food preservation (pp. 17-33). En: Siddiqui MW, Rhaman MS (eds.). *Minimally Processed Foods. Technologies for Safety, Quality, and Convenience*. Springer. Suiza.

Santiesteban-Lopez A, Palou E, López-Malo A. 2007. Susceptibility of foodborne bacteria to binary combinations of antimicrobials at selected aw and pH. *J. Appl. Microbiol*, 102: 486-497.

Sirocchi V, Devlieghere F, Peelman N, Sagratini G, Maggi F, Vittori S, Ragaert P. 2017. Effect of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil combined with different packaging conditions to extend the shelf life of refrigerated beef meat. *Food Chem.*, 221: 1069-1076.

Talero García MC. 2019. Utilización de aceites esenciales en combinación con ácido láctico para extender la vida útil de carnes bovinas. Tesis de Maestría en Tecnología e Higiene de los Alimentos. Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata.

Tassou CC, Koutsoumanis K, Nychas GJE. 2000. Inhibition of *Salmonella enteritidis* and *Staphylococcus aureus* in nutrient broth by mint essential oil. *Food Res. Int.*, 33: 273-280.

Vinceković M, Viskić M, Jurić S, Giacometti J, Bursać Kovačević D, Putnik P, Režek Jambrak A. 2017. Innovative technologies for encapsulation of Mediterranean plants extracts. *Trends in Food Sci. Technol.*, 69: 1-12.

Yeh Y, de Moura FH, Van Den Broek K, Souza de Mello A. 2018. Effect of ultraviolet light, organic acids, and bacteriophage on *Salmonella* populations in ground beef. *Meat Sci.*, 139: 44-48.

Zhou GH, Xu XL, Liu Y. 2010. Preservation technologies for fresh meat – A review. *Meat Sci.*, 86 (1): 119-128.