



Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria



Ministerio de
Agricultura, Ganadería y Pesca
Presidencia de la Nación

Estudio del efecto combinado de altas presiones hidrostáticas (APH) y la adición de lactato de sodio en la calidad de carne vacuna curada

Autores:

Yanina Barrio^{1,2}, Romina Contarino², Martín Palladino³, Claudio Sanow³, Ana María Sancho³, Gabriela Grigioni^{1,3}, Marcelo Masana³, Sergio R. Vaudagna^{1,2,3}

RESUMEN

La congelación previa a los tratamientos APH, de carne vacuna fresca, minimizaría la decoloración observada en carnes pigmentadas presurizadas. Sin embargo, este pre-tratamiento reduciría la efectividad de las APH sobre la inactivación de los microorganismos. En este sentido, el objetivo de este estudio fue evaluar el efecto combinado de la adición de lactato de sodio (agente antimicrobiano) y APH sobre las propiedades fisicoquímicas y la calidad higiénico-sanitaria de carne vacuna curada (*carpaccio*). Para ello, se aplicó un diseño factorial con concentración de lactato de sodio (0, 1 y 3%) y nivel de presión (0, 400 y 600MPa) como factores principales. Muestras de *carpaccio* congeladas (-40°C) se presurizaron durante 5 min. a 5°C. Se obtuvieron valores significativamente mayores de pH, esfuerzo y trabajo de corte en muestras presurizadas, con independencia del nivel de presión. La humedad expresable incrementó significativamente al aplicar los tratamientos con APH, mientras que disminuyó con el agregado de lactato de sodio. La adición de lactato y la congelación previa, contrarrestaron el efecto de APH sobre los parámetros cromáticos. A su vez, se obtuvieron menores recuentos de la microflora endógena al incrementar la concentración de lactato en la etapa de curado. La letalidad microbiana fue dependiente del nivel de presión aplicado. Se observó una alta resistencia de las cepas nativas de *Escherichia coli* O157:H7 a los tratamientos con APH.

ABSTRACT

Freezing process previous to HHP treatment could minimize the discoloration observed in fresh beef meat. However, this pre-treatment may reduce the effectiveness of HHP in the microorganism's inactivation. In this way, the objective of this study was to

¹ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), Argentina.
yanina.barrio@conicet.gov.ar

² Departamento de Biotecnología y Tecnología Alimentaria, Facultad de Ingeniería y Ciencias exactas, Universidad Argentina de la Empresa, Argentina (UADE), Argentina.

³ Instituto Tecnología de Alimentos, Centro de Investigación en Agroindustria, Instituto nacional de tecnología Agropecuaria (INTA), Argentina.

evaluate the combined effect of sodium lactate (antimicrobial agent) addition and HHP on the physicochemical properties and microbial quality of cured beef meat (*carpaccio*). A factorial randomized design was applied with sodium lactate (0, 1 and 3%) and pressure (0, 400 and 600MPa) as main factors. Frozen (-40°C) *carpaccio* samples were pressurized for 5 min. at 5°C. Significantly higher values of pH, shear force and work of shearing were observed in pressurized samples, being they independent of pressure level. HHP treatment increased expressible moisture while lactate addition decreased it significantly. Lactate addition and freezing counteract the HHP effect upon chromatic parameters. Therefore, higher lactate concentration in the curing stage induced lower counts of microorganisms. For all treatments, microbial lethality was dependent of pressure level. However, it was observed a high resistance of native strains *Escherichia coli* O157:H7 to HHP treatments.

INTRODUCCIÓN

La tecnología APH alcanzó mayor desarrollo industrial que otras tecnologías no térmicas de preservación y consiste en aplicar a un alimento envasado, una presión constante entre 100 y 600MPa (en equipos industriales) por tiempos cortos (<10min) y temperatura ambiente o de refrigeración. En el caso de equipos de laboratorio se pueden alcanzar presiones mas altas (hasta 900-1200MPa) y temperaturas en el rango de -40°C a 110°C. En general, los tratamientos con APH a temperaturas moderadas o de refrigeración permiten inactivar microorganismos vegetativos y enzimas, sin modificar significativamente atributos sensoriales y propiedades nutricionales. Esta tecnología ha sido aplicada con éxito en el procesamiento de productos cárnicos curados cocidos o secos y productos cárnicos cocidos listos para consumir. Sin embargo, no ha tenido el mismo desarrollo en carnes rojas frescas y frescas marinadas por la decoloración que se produce en el rango de presiones necesarias para inactivar microorganismos patógenos y alteradores (>300MPa) (Carlez *et al.*, 1995). De acuerdo a resultados previos (Szerman *et al.*, 2011), tratamientos APH a temperatura de refrigeración sobre muestras previamente congeladas, permitieron minimizar el efecto de la presión sobre la luminosidad y la reducción del parámetro a^* (redness) pero no presentaron la misma eficacia en relación a la reducción de microorganismos. En consecuencia, es necesario evaluar el efecto de APH en combinación con otros factores de preservación. En este sentido, se ha estudiado la combinación de APH con agentes antimicrobianos particularmente aquellos de origen natural. Diferentes trabajos han expuesto que agentes antimicrobianos como lactatos y bacteriocinas tendrían un efecto sinérgico con tratamientos APH a temperatura ambiente (Patterson *et al.*, 2007). Por otra parte, otro aspecto a estudiar en relación a la incorporación de lactato, es su capacidad de estabilizar el color de carnes pigmentadas. Estudios recientes lo describen como un importante estabilizador del color, capaz de reducir la decoloración producida en la superficie de piezas cárnicas durante su almacenamiento (Kim *et al.*, 2006).

MATERIALES Y MÉTODOS

Preparación y procesamiento de las muestras. Se utilizaron 54 músculos *Semitendinosus* bovino (pesos entre 1.500-1.800g y pH 5,4-5,7) adquiridos en

frigorífico con un tiempo de despostado de 48h post-faena. Del total de músculos, se distribuyeron 18 piezas para cada una de las 3 formulaciones a estudiar. Dichas formulaciones fueron (concentración del aditivo indicada como porcentaje en peso en el músculo): cloruro de sodio (1,2%), tripolifosfato de sodio (0,1%), citrato de sodio (0,05%), nitrito de sodio (0,015%), isoascorbato de sodio (0,05%) y lactato de sodio (0, 1 o 3%). Los músculos fueron sometidos a un tratamiento de *tumbling* intermitente (2min-5rpm y 8min de reposo) durante 60 min. bajo condiciones de vacío (15mmHg) y refrigeración ($1\pm 1^{\circ}\text{C}$). Luego del tratamiento mecánico, 6 músculos de cada formulación fueron inoculados con un pool de cepas de *E. coli* O157:H7 (toxigénicas, aisladas del reservorio bovino de Argentina), *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spp.* (Colección ITA) con un nivel de inóculo de $7\log_{10}\text{UFC/g}$. Todos los músculos se envasaron al vacío en bolsas Cryovac BB4L (Sealed Air, Argentina) y se mantuvieron en cámara de refrigeración durante 12 días. Los músculos inoculados fueron analizados en los días 1, 6 y 12 de almacenamiento. Luego del almacenamiento de 12 días, los músculos no inoculados se congelaron y conservaron en ultrafreezer a -40°C . Las piezas congeladas se cortaron en fetas de 1,5-2mm que se envasaron al vacío en grupos de 5 unidades. A su vez, algunas fetas fueron inoculadas con un pool de cepas de *E. coli* O157:H7 (ídem descripto arriba). Luego, todas las muestras fueron congeladas a -40°C . Los tratamientos APH consistieron en la aplicación de dos niveles de presión, 400 y 600MPa, durante 5 min., a una temperatura de procesamiento de 5°C .

Análisis de las muestras. Para todos los tratamientos, en el *carpaccio* se determinó: humedad expresable, esfuerzo y trabajo de corte (celda de Kramer), pH, parámetros cromáticos (CIEL*a*b*), recuento de *E. coli* O157:H7 (en muestras inoculadas, utilizando diferentes medios para evaluar efecto letal e injuria) y microflora endógena (microorganismos aerobios viables a 30°C , psicrótrofos a 10°C y bacterias ácido-lácticas).

Análisis estadístico. Se planteó un diseño completamente aleatorizado con arreglo factorial, donde los factores fueron la concentración de lactato de sodio en el producto (0, 1 y 3%) y el nivel de presión aplicado (0, 400 y 600MPa). Un ANOVA permitió evaluar el efecto significativo ($p<0.05$) de los factores y su interacción en los parámetros determinados. Finalmente, se aplicó un test de Tukey para establecer diferencias significativas ($p<0.05$) entre tratamientos.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis microbiológico. Durante la etapa de curado, se analizó la evolución de cepas inoculadas de *E. coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella spp.* y de la microflora endógena. No se observó desarrollo ni decrecimiento durante los 12 días de almacenamiento para ninguno de los microorganismos inoculados y en ninguna de las formulaciones. A su vez, se observó que al aumentar la concentración de lactato de sodio en el *carpaccio*, se obtuvieron menores recuentos para microorganismos aerobios viables a 30°C , psicrótrofos a 10°C y bacterias ácido-lácticas. Este efecto puede observarse en la Figura 1, comparando los recuentos obtenidos en las muestras con 0, 1 y 3% de lactato de sodio para el nivel 0MPa de presión. Con respecto al tratamiento APH, para todas las combinaciones de presión y lactato, el aumento del nivel de presión incrementó la letalidad de los microorganismos endógenos (Figura 1) y de *E. coli* O157:H7 (Figura 2). En este caso se observó un

máximo de $2\log_{10}$ reducciones decimales para el tratamiento más severo (600MPa, Figura 2). Este resultado indicaría una apreciable resistencia del coctel de cepas nativas de *E. coli* O157:H7 a los tratamientos estudiados. En la mayoría de las combinaciones, los recuentos de *E. coli* O157:H7 fueron mas altos en el medio general (TSAYP) que en los selectivos (SMAC y ID) (Figura 2). Esto demuestra que los medios SMAC y ID no soportaron todo el desarrollo, lo que indicaría la presencia de células injuriadas. El agregado de lactato de sodio no tuvo un efecto apreciable sobre la letalidad.

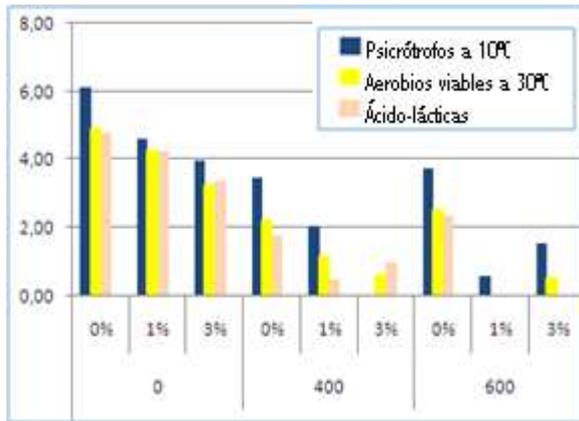


Figura 1. Recuento (log UFC/g) de psicrótrofos a 10°C, aerobios viables a 30°C y bacterias ácido - lácticas en muestras de carpaccio a diferentes niveles de presión y lactato de sodio.

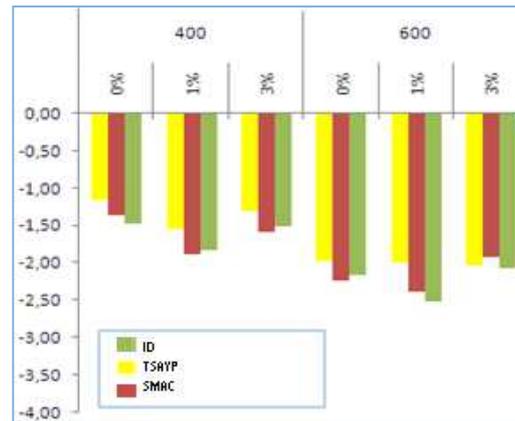


Figura 2. Reducciones decimales *Escherichia coli* O157H7 en medios selectivos (ID y SMAC) y general (TSAYP) en muestras de carpaccio a diferentes niveles de presión y lactato de sodio.

Análisis físico-químico. Valores significativamente mayores ($p < 0,05$) de pH, esfuerzo y trabajo de corte se observaron en las muestras tratadas con APH, con independencia del nivel de presión aplicado (Tabla 1).

Tabla 1. Humedad expresable (HE), esfuerzo de corte (F), trabajo de corte (W) y pH de muestra de *carpaccio* a diferentes niveles de presión y concentración de lactato de sodio.

Lactato (%)	Presión (MPa)	HE (%)	F (N/g)	W (J/g)	pH
0	0	21.64±3.41 b,x	16.45±1.83 b	0.035±0.005 a	5.93±0.02 b
	400	35.75±3.01 a,x	29.14±3.87 a	0.067±0.017 b	6.07±0.05 a
	600	34.43±2.96 a,x	30.41±3.25 a	0.068±0.009 b	6.07±0.08 a
1	0	18.29±1.63 b,y	19.94±3.58 b	0.045±0.006 a	5.95±0.04 b
	400	28.41±4.03 a,y	25.04±4.09 a	0.060±0.014 b	6.05±0.09 a
	600	28.44±1.75 a,y	25.84±3.16 a	0.060±0.008 b	6.08±0.02 a
3	0	16.09±2.61 b,y	19.56±3.28 b	0.047±0.012 a	5.97±0.09 a
	400	24.23±0.51 a,y	29.12±2.45 a	0.070±0.008 b	6.04±0.05 b
	600	28.34±4.56 a,y	28.57±3.14 a	0.065±0.006 b	6.09±0.02 b

a,b Letras diferentes indican diferencias significativas (test de Tukey, $p < 0,05$) respecto del efecto del factor presión.
x,y Letras diferentes indican diferencias significativas (test de Tukey, $p < 0,05$) respecto del efecto del factor concentración de lactato de sodio.

La adición de lactato y los tratamientos APH mostraron un efecto opuesto en la humedad expresable; APH la aumentó significativamente ($p < 0,05$), mientras que la adición de lactato la redujo significativamente ($p < 0,05$) (Tabla 1). La desnaturalización

y agregación de proteínas miofibrilares a presiones superiores a 400MPa produciría una menor retención de agua del tejido (aumento de la humedad expresable) y un aumento del esfuerzo y trabajo de corte (Vaudagna *et al.* 2012). En relación a la adición de lactato de sodio, este aditivo puede ligar agua, lo que reduce el nivel de agua libre en el producto cárnico. La interacción de los factores presión y lactato fue significativa ($p < 0,05$) en los parámetros cromáticos, con excepción del parámetro b^* (Tabla 2). Comparando todos los tratamientos, tanto el parámetro L^* como el a^* solo difirieron significativamente en el tratamiento con 3% de lactato y sin presurizar. En este sentido, se ha observado una disminución de L^* y aumento de a^* con el agregado de lactato, respecto de muestras de carne sin la incorporación de este aditivo (Mancini & Ramanathan, 2008). Estudios realizados sobre los mecanismos relacionados a la estabilización del color sugieren que el agregado de lactato promueve la estabilidad redox a través de interacciones directas con la mioglobina e indirectas con la enzima lactato deshidrogenasa. Con respecto a la presurización, la congelación previa permitiría minimizar la desnaturalización irreversible de la mioglobina pudiendo recobrar su conformación nativa luego del descongelamiento (Vaudagna *et al.*, 2012).

Tabla 2. Parámetros cromáticos (CIEL*a*b*) de muestra de *carpaccio* a diferentes niveles de presión y concentración de lactato de sodio.

Lactato (%)	Presión (MPa)	L^*	a^*	b^*
0	0	39.18±0.53 AB	14.20±0.23 BCD	13.91±0.69 b
	400	39.43±2.51 AB	14.50±0.67 BCD	13.67±0.67 ab
	600	42.67±0.99 A	14.90±0.84 ABCD	14.46±0.40 a
1	0	37.61±2.54 BC	12.99±1.88 D	13.02±0.38 b
	400	41.76±1.63 AB	13.39±0.63 CD	13.96±0.66 ab
	600	40.16±1.52 AB	15.39±0.75 ABC	14.48±0.40 a
3	0	33.62±2.33 C	16.57±0.18 A	13.46±0.81 b
	400	39.77±3.01 AB	14.51±0.76 BCD	13.79±0.83 ab
	600	39.52±1.54 AB	15.44±0.25 AB	13.81±0.64 a

a,b Letras diferentes indican diferencias significativas (test de Tukey, $p < 0,05$) respecto del efecto del factor presión. A,B,C,D Letras diferentes indican diferencias significativas (test de Tukey, $p < 0,05$) respecto del efecto de la interacción de los factores.

CONCLUSIONES

La adición de lactato de sodio y la congelación contrarrestaron el efecto de APH en los parámetros cromáticos. Los tratamientos combinados de lactato de sodio y APH redujeron la microflora endógena, pero se observó una alta resistencia de las cepas nativas de *E. coli* O157:H7 a estos tratamientos.

BIBLIOGRAFÍA

- Carlez, A., Veciana-Nogues, T., & Cheftel, J.C. (1995). Changes in colour and myoglobin of minced beef meat due to high pressure processing. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 28(5), 528–538.
- Kim, Y. H., Hunt, M. C., Mancini, R. a, Seyfert, M., Loughin, T. M., Kropf, D. H., & Smith, J. S. (2006). Mechanism for lactate-color stabilization in injection-enhanced beef. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(20), 7856-62.
- Patterson, M. F. (2005). Microbiology of pressure-treated foods. *Journal of applied microbiology*, 98(6), 1400-9.

- Vaudagna S.R., Gonzalez, C.B., Guignon, B., Aparicio, C., Otero, L. and Sanz P.D. (2012) The effects of high hydrostatic pressure at subzero temperature on the quality of ready-to-eat cured beef *carpaccio*. *Meat Science* (2012). doi:10.1016/j.meatsci.2012.06.002
- Szerman, N., Barrio, Y., Schroeder, B., Martinez, P., Sancho, A. M., Sanow, C., & Vaudagna, S. R. (2011). Effect of high hydrostatic pressure treatments on physicochemical properties, microbial quality and sensory attributes of beef *carpaccio*. *Procedia Food Science*, 1, 854-861.