

# OBTENCIÓN DE UN ENVASE ACTIVO ANTIMICROBIANO, PARA EL CONTROL DE PATÓGENOS Y CONTAMINANTES EN PRODUCTOS CÁRNICOS LISTOS PARA EL CONSUMO

M. Blanco Massani<sup>(i)</sup>, V. Molina<sup>(i)</sup>, P. Eisenberg<sup>(i)</sup>, V. Renaud<sup>(ii)</sup>, M. Sánchez<sup>(iii)</sup>, G. Vignolo<sup>(iii)</sup>

(i) INTI Plásticos, (ii) INTI Carnes, (iii) CERELA-CONICET

blanco@inti.gob.ar

## **OBJETIVO**

### **Objetivos Específicos**

- Activar una película plástica con las bacteriocinas producidos por *L. curvatus* CRL705.
- Caracterizar la película luego de la activación.
- Determinar la eficiencia inhibitoria frente a microorganismos indicadores en salchichas como modelo de alimento cárnico listo para el consumo.

## **DESCRIPCIÓN**

### **Introducción**

La industria de alimentos busca garantizar que el producto alimenticio sea seguro durante su distribución, manteniendo las propiedades iniciales del alimento recién obtenido. Durante la cadena de distribución, desde el fabricante al consumidor, los alimentos necesitan estar protegidos del deterioro físico, químico y microbiológico. Entre las estrategias diseñadas para la extensión de la vida útil y/o la preservación de la calidad higiénico-sanitaria de los alimentos, la introducción del concepto de envase activo contribuyó significativamente al mejoramiento de la calidad y aceptabilidad de los mismos. Un envase activo es aquel que desarrolla alguna función adicional a la de proporcionar una barrera inerte frente a las condiciones externas; así por ejemplo un envase activo antimicrobiano es aquel capaz de inhibir el deterioro y reducir la cantidad de patógenos que pudieran estar presentes en alimentos. Por otra parte, la capacidad de las bacterias lácticas (BL) para producir péptidos antimicrobianos, así como su aplicación en alimentos, salud humana y animal está ampliamente difundida en la bibliografía. En particular, *Lactobacillus curvatus* CRL705 aislado de salames artesanales argentinos, produce al menos dos bacteriocinas, lactocina 705 y lactocina AL705, que han demostrado habilidad para inhibir patógenos y contaminantes en sistemas y productos cárnicos.

### **Materiales y métodos**

#### **Microorganismos**

*Lactobacillus curvatus* CRL705, productor de lactocina 705 y lactocina AL705 y *Lactobacillus plantarum* CRL691, cepa sensible a lactocina 705, fueron aislados de embutidos artesanales argentinos (Vignolo y col. 1993). *Listeria innocua* 7, cepa indicadora de lactocina AL705,

fue suministrada por la Unité de Recherches Laitières et Génétique Appliquée, INRA (Francia) (Blanco Massani y col. 2008).

#### **Películas plásticas**

Se utilizaron películas plásticas multicapa T60XXB y T73XXB con cara interna de PEBDL (Sealed Air, Argentina), que son usadas comercialmente como fondo y tapa para envases de salchichas respectivamente.

#### **Obtención de las bacteriocinas producidas por *L. curvatus* CRL705**

Se obtuvo una solución acuosa de bacteriocinas concentradas (SABC) precipitando con sulfato amonio un cultivo de *L. curvatus* CRL705 (Blanco Massani y col. 2008).

#### **Obtención de las películas plásticas activas**

La película plástica T60XXB se puso en contacto (1 hora a 30°C) con la SABC (Blanco Massani y col. 2008).

#### **Cuantificación de la actividad antimicrobiana**

Se determinó la actividad de las bacteriocinas en solución (UA/ml) por el método de difusión en agar (Pongtharangkul y col. 2004). La actividad en la película plástica (área de inhibición relativa) se evaluó por contacto con las cepas sensibles en agar semisólido (Blanco Massani y col. 2012).

#### **Caracterización de las películas**

Se utilizó una máquina de ensayos universales (Instron, modelo 1125) para estudiar las propiedades mecánicas de la película activa y un control sin bacteriocinas: (i) tensión y porcentaje de deformación a la rotura (ASTM D638-07); (ii) fuerza de sellado (ASTM F 88/F88M-09); (iii) permeabilidad al vapor de agua (Norma ASTM-E96-05).

#### **Estabilidad antimicrobiana de la película**

Se evaluó la influencia de la temperatura (30, 10 y 5 °C) y el tiempo (7, 14, 32 y 45 días) en la actividad antimicrobiana de la película (Blanco Massani y col. 2012).

#### **Determinación de la eficiencia de los materiales activos en un modelo alimentario (salchichas) a escala piloto.**

##### **Elaboración de salchichas tipo Viena**

Se elaboraron salchichas tipo Viena cocidas en la planta piloto de producción de embutidos (INTI-Carnes). El pelado se llevó a cabo en forma manual, las salchichas se envasaron y re-pasteurizaron durante 10 min a 80°C.

##### **Obtención envases activos**

Cada par de películas (T60XXB y T73XXB) se activó y se termo-selló en una cabina de flujo laminar. Se llevaron a cabo controles negativos utilizando agua en lugar de la SABC. Los envases se almacenaron a 5°C hasta su uso.

### Inoculación de las salchichas

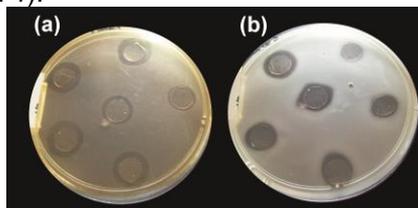
Las salchichas se inocularon con *Listeria innocua* 7 ( $10^4$  UFC/g) y *L. plantarum* CRL691 ( $10^4$  UFC/g). Se colocaron en los envases activos y en envases controles sin activar. Los paquetes se termo-sellaron al vacío y se almacenaron (45 días, 5 °C).

### Análisis microbiológico

Inmediatamente después de la inoculación y luego de 4, 13, 19, 29, 34 y 45 días, los paquetes se abrieron asépticamente y se realizaron recuentos de microorganismos.

## RESULTADOS

La película T60XXB activada con SABC produjo inhibición del crecimiento (zonas oscuras) de *L. plantarum* CRL691 y *L. innocua* 7 (Fig. 1).



**Figura 1:** Actividad antimicrobiana en el plástico frente a (a) *L. plantarum* CRL691 (lactocina 705) y (b) *L. innocua* 7 (lactocina AL705) luego de la activación.

La película activa mantuvo las propiedades mecánicas, de sellado y de barrera; atributos que la cualifican para su uso en envases para productos cárnicos (Tabla1). Estos resultados son extrapolables a la película T73XXB, dado que la activación se produce por adsorción en la cara de PEBDL, sin afectar al resto de la estructura de la película multicapa.

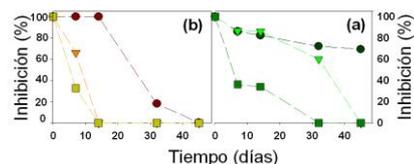
**Tabla 1:** Propiedades de la película activa y un control sin activar

Muestra	Tensión a la rotura (MPa)	Deformación % a la rotura	Permeabilidad vapor de H <sub>2</sub> O (mol/ Pa m s x10 <sup>-15</sup> )	Fuerza de sellado (N m <sup>-1</sup> )
Película activa	49±3 <sup>a</sup>	377 ± 19 <sup>b</sup>	2± 1 <sup>c</sup>	2477 ± 142 <sup>d</sup>
Control	48±3 <sup>a</sup>	372 ± 13 <sup>b</sup>	2± 1 <sup>c</sup>	2420 ± 221 <sup>d</sup>

<sup>a-c</sup> Valores seguidos por letras iguales en la misma columna no presentan diferencias significativas (P ≥0.05)

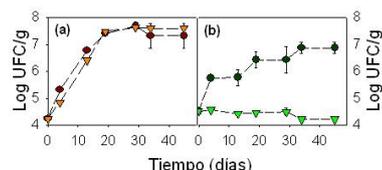
La película activa mostró diferentes actividades inhibitorias cuando se almacenó a 5, 10 y 30°C durante 45 días (Fig. 2). Cuando se analizó la actividad de lactocina 705 en la película, se obtuvieron inhibiciones del 32, 66 y 100% luego de 7 días de almacenamiento a 30, 10 y 5°C, respectivamente (Fig. 2a). Luego de 14 días no se detectó actividad de lactocina 705 en la película almacenada a 30 y 10°C. Durante el

mismo período, la película almacenada a 5°C retuvo 100% de actividad, decreciendo luego al 18 % (día 32 de almacenamiento). Lactocina AL705 adsorbida en la película mostró efectividad inhibitoria durante períodos de tiempo más largos para las tres temperaturas evaluadas (Fig. 2b). A 30°C, la inhibición en la película disminuyó hasta el 33% (día 14), mientras que a 10°C, se observó una inhibición del 60% en el día 32. La película almacenada a 5°C retuvo una actividad inhibitoria del 69% al final del experimento (45 días) (Fig. 2b).



**Figura 2:** Actividad antimicrobiana de (a) 705 y (b) AL705 en la película almacenada a 30°C(■), 10°C(▼) y 5°C(●).

El envase activo produjo efecto bacteriostático (45 días a 5 °C) en salchichas inoculadas con *L. innocua* 7, mientras que *L. plantarum* CRL691 fue levemente inhibida (Fig. 3).



**Figura 3.** Crecimiento de (a) *L. plantarum* CRL691 y (b) *L. innocua* 7 en función del tiempo (45 a 5°C) en paquetes activos (▼) y controles (●).

## CONCLUSIONES

Las propiedades de la película plástica no se vieron afectadas por la activación con lactocina 705 y AL705. La película activa mostró estabilidad antimicrobiana cuando se almacenó a 5 °C. Se observó actividad anti-*Listeria* en salchichas inoculadas con *L. innocua* 7 cuando éstas fueron colocadas en los envases activos obtenidos, mientras que la inhibición de *L. plantarum* CRL691 se vio dificultada. Si bien las lactocinas 705 y AL705 aún no son aceptadas como aditivos alimentarios, la investigación de éstas como bio-preservantes resulta en un gran aporte para su potencial aprobación.

Asimismo, con el objetivo de mejorar la capacidad inhibitoria del envase obtenido, se propone para una siguiente etapa la combinación de las tecnologías de atmósfera modificada y envase activo, para ser aplicadas en carnes y productos cárnicos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Pongtharangkul & Demirci (2004). *Appl Microbiol Biotechnol*, 65, 268-272.  
 Vignolo et al. (1993). *J Appl Bacteriol*, 75, 344-349.  
 Blanco Massani et. al (2012) *J Sci of Food and Agric*, 92, 1318-1323  
 Blanco Massani et. al. (2008). *Food Addit and Contam*, 11,1424-1430.