

**Efectos de la exposición de luz ultravioleta
(UVC) y ácido acético en la carga microbiana y
cambios fisicoquímicos en carne de res**

Héctor David Garnica Vargas

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2017

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

Efectos de la exposición de luz ultravioleta (UVC) y ácido acético en la carga microbiana y cambios fisicoquímicos en carne de res

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Héctor David Garnica Vargas

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2017

Efectos de la exposición de luz ultravioleta (UVC) y ácido acético en la carga microbiana y cambios fisicoquímicos en carne de res

Héctor David Garnica Vargas

Resumen. La tendencia de las personas en el consumo de productos más naturales, con menos aditivos, le exige a la industria producir alimentos con etiquetas limpias y entrar a nuevos nichos de mercado. La industria cárnica está teniendo la necesidad del uso de nuevas tecnologías en el procesamiento de sus productos para poder adaptarse a la tendencia actual. En el presente trabajo se evaluó el uso de luz ultravioleta fija, luz ultravioleta intermitente y ácido acético en pedazos de bistec de res para determinar los efectos que esta pueda tener en la carga microbiana de coliformes totales y de *Escherichia coli*. Pedazos de bistecs de res (*Longissimus dorsi*) fueron inoculados con *Escherichia coli* ATCC 25922, y fueron sometidos a tres tratamientos antimicrobianos: luz ultravioleta fija, luz ultravioleta intermitente, y una solución de ácido acético al 2.5%. Los datos microbiológicos y físico químicos fueron evaluados mediante un análisis de varianza (ANDEVA), separación de medias Tukey ($P < 0.05$), y un análisis de Chi Cuadrado para el análisis sensorial. La exposición de luz ultravioleta fija e intermitente en el día 0 tiene un efecto antimicrobiano para coliformes totales. La aplicación de ácido acético tiene un efecto antimicrobiano en *Escherichia coli* para el día 4. Panelistas no capacitados encontraron diferencias entre los bistecs sometidos al tratamiento de ácido acético al 2.5% y el control. La luz ultravioleta no tiene efecto antimicrobiano para *Escherichia coli* pero puede ser utilizada como tratamiento antimicrobiano para coliformes totales, generando una disminución en el pH del día 4, sin afectar color y sin diferencias de percepción sensorial.

Palabras clave: Antimicrobiano, coliformes totales, *Escherichia coli*

Abstract. The tendency of the people to consume natural products with less additives, requires the industry to produce food with clean labels and enter to new niche markets. The meat industry is having the necessity of the use of new technologies in the prosecution of their products to adapt to the actual tendency. In the present work it was evaluated the use of continuous ultraviolet light, intermittent ultraviolet light, and acetic acid in beef stakes to determine the effects that these could have in the microbial charge of total coliforms and *Escherichia coli*. Pieces of beef steaks (*Longissimus dorsi*) were inoculated with *Escherichia coli* ATCC 25922, and were subjected to three antimicrobial treatments: continuous ultraviolet light, intermittent ultraviolet light and a solution of acetic acid 2.5%. Microbial data and physical chemical were evaluated by a variance analysis (ANOVA), Tukey test ($P < 0.05$), and a Chi Square analysis for the sensorial analysis. The exposure of continuous and intermittent ultraviolet light in day 0 has an antimicrobial effect for coliforms. The application of acetic acid has an antimicrobial effect for *Escherichia coli* in day 4. No capacitated panelists found differences between steaks subjected to the treatment of acetic acid and the control. The ultraviolet light does not have an antimicrobial effect for *Escherichia coli*, but it can be used as an antimicrobial treatment to total coliforms, causing a reduce of the pH at day 4, without affect the color and without differences in the sensorial analysis.

Key words: Antimicrobial, total coliforms, *Escherichia coli*

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	iv
Índice de Cuadros, Figura y Anexos.....	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y METODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	7
4. CONCLUSIONES.....	13
5. RECOMENDACIONES.....	14
6. LITERATURA CITADA.....	15
7. ANEXOS.....	18

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURA Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Intervenciones antimicrobianas realizadas a bistecs de res según los diferentes tratamientos.....	4
2. Recuento de coliformes totales (Log UFC/cm ²) en trozos de carne inoculados con <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 y tratados con luz UV y solución de ácido acético, almacenados a 4 °C durante 6 días.....	7
3. Recuento de <i>Escherichia coli</i> en (Log UFC/cm ²) en trozos de carne inoculados y tratados con luz ultravioleta y solución de ácido acético, almacenados a 4 °C durante 6 días.....	8
4. Medición de pH en trozos de carne expuestos a tratamientos antimicrobianos de luz ultravioleta y solución de ácido acético, almacenados a 4 °C durante 6 días...	9
5. Resultados de luminosidad (L*) en pedazos de carne tratados con luz UV y solución de ácido acético, almacenados a 4 °C durante 6 días.....	10
6. Resultados de valor a* en pedazos de carne tratados con luz UV y solución de ácido acético, almacenados a 4 °C durante 6 días.....	11
7. Resultados de valor b* en pedazos de carne tratados con luz UV y solución de ácido acético, almacenados a 4 °C durante 6 días.....	11
Figura	Página
1. Resultados de análisis discriminativo en porcentaje de los panelistas que encontraron igualdad entre tratamientos antimicrobianos y control	12
Anexos	Página
1. Cambios de carga de bacterias Gram negativas en carne de res tratada con luz ultravioleta.	18
2. Reducciones logarítmicas (UFC/g) de <i>E. coli</i>	18
3. Representación de escala de color L*a*b*	19
4. Boleta de evaluación sensorial usada por los panelistas no capacitados.....	19

1. INTRODUCCIÓN

El Codex Alimentarius define la carne como “todas las partes de un animal que han sido dictaminadas como inocuas y aptas para el consumo humano o se destinan para este fin” (Codex Alimentarius 2005). Nutricionalmente la carne de res tiene un efecto positivo en la salud humana, dado a la alta calidad de proteínas, por contener los aminoácidos esenciales y por poseer una elevada biodisponibilidad de vitaminas y minerales. Se estima que en el mundo más de 2,000 millones de personas sufren carencias de vitaminas y minerales fundamentales, en particular vitamina A, yodo, hierro y zinc. Dichas carencias se producen cuando las personas tienen un acceso limitado de alimentos ricos en micronutrientes como carne, pescado, frutas y hortalizas (FAO 2014).

Entre 2007 y 2016, el consumo mundial de carne de bovino creció a una tasa promedio anual de 0.1%. El consumo de carne de res en Honduras es de 24,000 toneladas por año (Index Mundi, 2015). El USDA (United States Department of Agriculture por sus siglas en Ingles), indica que, durante 2017, el consumo mundial de carne de bovino incrementara a una tasa anual de 1.1%, para ubicarse en 59.4 millones de toneladas (Sosa 2017).

Un brote de enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) se define como un incidente en el que dos o más personas presentan una enfermedad semejante después de la ingestión de un mismo alimento, y los análisis epidemiológicos apuntan al alimento como el origen de la enfermedad. Los brotes pueden involucrar números diferenciados de casos (OMS 2016). La carne es la responsable de mayoría de enfermedades causadas por bacterias patógenas como *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* spp., *Campylobacter* spp. y *Yersinia Enterocolitica* (FAO 2007). La carne fresca sin procesos de intervención microbiana tiene peligro de contaminación en la superficie, por lo cual la industria cárnica utiliza varias intervenciones post cosecha para reducir el riesgo y carga microbiológica de ciertos microorganismos. El ácido peracético es utilizado especialmente en instalaciones de manejo de alimentos a nivel industrial, ya que actúa a baja temperatura y pH y a que el producto de su degradación (ácido acético) apenas necesita ser enjuagado; además de sus propiedades fuertemente oxidantes, contribuyendo a reducir la contaminación ambiental (Davidson y Harrison 2002).

Las etiquetas más limpias y naturales se han convertido en una herramienta popular para atraer mercados, nichos y clientes más interesados en la salud (Alvarado 2016). Con la creciente preocupación por la falta de una definición de "natural", la etiqueta limpia se ha movido más allá de ser una tendencia y ahora es considerada como estándar en la industria alimentaria (INI 2015). La industria cárnica ha tenido que implementar tecnología y técnicas que impidan el desarrollo de microorganismos, sin afectar la calidad del producto, lo cual es difícil ya que la mayoría de procesos involucran tratamientos térmicos o aditivos

que generan cambios en la matriz cárnica. Sin embargo, se ha empezado a trabajar con tecnología menos destructivas, más eficientes y baratas (Domínguez *et al.* 2012). Dentro de estas tecnologías, la luz ultravioleta es elegida por tratarse de un proceso que no altera las propiedades organolépticas de los productos y reduce el uso de sustancias químicas. Se emplea para la preservación de alimentos líquidos y sólidos, pero en estos últimos su aplicación es efectiva a nivel superficial.

La luz ultravioleta germicida (UVC) es utilizada en procesos de desinfección de superficies en la industria alimentaria, utiliza esta tecnología en la superficie de alimentos como frutas, verduras y carnes (Gutiérrez *et al.* 2012). Se utiliza el espectro de luz UVC que va desde los 200-280 nm, con una longitud de onda óptima de 254 nm, la cual se emplea en procesos de desinfección de aire, agua y superficie (Domínguez y Parzaense 2012). En la industria alimenticia se utiliza pulsos de luz ultravioleta intermitentes la cual es una aplicación de esta mediante pulsos interrumpidos, y luz ultravioleta fija, la cual es la aplicación de esta luz ininterrumpidamente. El mecanismo de acción de la luz UV en los microorganismos es debido a que causa daño en el ADN, formando uniones cruzadas de tiamina y citosina (Tortora *et al.* 2007).

Objetivos del estudio:

- Caracterizar los cambios de pH y color que causa la aplicación de luz ultravioleta fija y luz ultravioleta intermitente, en bistecs de carne de res para diferentes días de almacenamiento (0, 4 y 6).
- Evaluar la carga microbiana de coliformes totales y *Escherichia coli* en filetes de carne de res sometidos a aplicaciones de luz UVC.
- Determinar si hay diferencias entre las aplicaciones de luz ultravioleta fija y luz ultravioleta intermitente en comparación del método actual más usado (ácido acético).
- Evaluar si hay diferencias en la percepción sensorial de las personas a los tratamientos antimicrobianos de luz ultravioleta y solución de ácido acético.

2. MATERIALES Y METODOS

Ubicación.

El estudio fue realizado en dos de los laboratorios del Departamento de Agroindustria Alimentaria de la Escuela Agrícola Panamericana (EAP), Zamorano, Valle del Yeguaré, km 30 carretera a Tegucigalpa, Departamento de Francisco Morazán, Honduras. La carne inoculada con *Escherichia coli* fue manipulada y analizada únicamente en el Laboratorio de Microbiología de Alimentos de Zamorano (LMAZ); los análisis fisicoquímicos se realizaron con carne sin inocular en el Laboratorio de Análisis de Alimentos de Zamorano (LAAZ). La carne fue obtenida de la Planta de Cárnicos de la EAP.

El experimento se dividió en tres partes, siendo el análisis microbiológico, análisis de color (AN 1018.00) y pH (AOAC 981.12), y un panel sensorial. Estas fases fueron divididas debido a que no se hizo inoculación en la carne para los análisis físicos químicos, ni tampoco para el panel sensorial. Para el análisis microbiológico se realizó una inoculación de *Escherichia coli*.

Materiales.

Todos los ingredientes necesarios fueron obtenidos de los laboratorios y planta de cárnicos de Zamorano. Se utilizó aproximadamente 9 kg de carne la cual fue extraída del músculo (*Longissimus dorsi*) o comúnmente llamado lomo fino, al cual antes de extraer los bistecs se le removió el epimisio. Seguidamente esta fue cortada en forma de corte mariposa, lo cual permite exponer a la superficie el interior del músculo. Estos cortes fueron empacados en bolsas individuales y llevados al Laboratorio de Microbiología de Alimentos de Zamorano (LMAZ) en una hielera, con hielo para mantener la temperatura a menos de 4 °C. En el LMAZ se realizaron los análisis utilizando diferentes medios de cultivo y soluciones estériles para formar las diluciones decimales, incluyendo, Agar Cuenta estándar (ACE) para la cuantificación de inóculo inicial de *Escherichia coli* ATCC 25922, Agar Billis Rojo Violeta (ABRV) y Agar Billis Rojo Violeta con MUG (ABRV-MUG) para la cuantificación de coliformes totales y *Escherichia coli*, caldo soya tripticasa para la incubación del inóculo inicial, y buffer fosfato para realizar las diluciones decimales.

La lámpara de luz ultravioleta utilizada, de marca OSRAM, modelo (15W – G13) tiene una potencia nominal de 15 W y una potencia fotométrica de 4 W con una longitud de onda dominante de 254 nm. Las dimensiones de la lámpara son de 26 mm de diámetro y 48 mm de largo.

Preparación del inóculo.

Fue realizado transfiriendo una colonia de *Escherichia coli* ATCC 25922 de un Agar Cuenta Estándar (ACE) inclinado, hacia un tubo de Caldo Soya Tripticasa (CST). Se homogenizó en el vortex durante siete segundos y luego este fue incubado durante 24 h a 35 °C. El inóculo alcanzó concentraciones entre 10^7 y 10^8 UFC/ml.

Los bistecs de carne fueron cortados en tres pedazos cada uno, para obtener pedazos de dimensiones aproximadamente de 7 cm × 4.5 cm y grosor de 2 cm. Seguidamente se hizo la inoculación. Se extrajo 0.1 ml del Caldo Soya Tripticasa (CST) con una micropipeta y se descargó en cada uno de los diferentes trozos de carne, este se esparció en la superficie de la carne con una pinza estéril hasta que todo el inóculo quedara de manera homogénea en la carne.

Para los estudios se utilizó un potenciómetro marca Orion para medir el pH (AOAC 981.12) y un colorímetro Hunter L*a*b* (AN 1018.00)

Tratamientos. Se evaluaron cuatro diferentes tratamientos, siendo estos un (control) que fue un bistec de carne al cual no se le aplicó ninguna intervención antimicrobiana. Exposición a luz ultravioleta de manera constante / fija (UVF), exposición de luz ultravioleta de manera intermitente (UVI), y un tratamiento en donde se hizo una aplicación de una solución de ácido acético al 2.5%. Esta solución fue realizada mezclando 500 ml de agua destilada con 12.51 ml de ácido acético al 99.85% de concentración, así como se muestra en la ecuación 1, en donde C_1 : concentración 1, V_1 : volumen 1, C_2 : concentración 2, V_2 : Volumen 2. La aplicación de solución de ácido acético sobre los bistecs de res fue de 0.11 ml / cm² (Cuadro 1).

$$C_1 V_1 = C_2 V_2 \quad [1]$$

Cuadro 1. Intervenciones antimicrobianas realizadas a bistecs de res según los diferentes tratamientos.

Tratamiento	Intervenciones
CONTROL POSITIVO	Ninguna
UVI	Exposición de luz uv intermitente durante 4.2 min
UVF	Exposición a luz uv fija durante 4.2 min
ÁCIDO ACÉTICO	Adición de 0.11 ml / cm ² de solución de ácido acético

Cada uno de estos pedazos se colocó en una bandeja de poliestireno, correspondiente al día de almacenamiento en que serían analizadas (0, 4 y 6). Las bandejas con los pedazos de carne a ser tratados con luz ultravioleta fija (UVF) y luz ultravioleta intermitente (UVI) fueron cubiertas con plástico PVC antes de la aplicación de la luz. Los tratamientos de luz ultravioleta fija (UVF) y luz ultravioleta intermitente (UVI) fueron sometidos a una irradiación de 4.2 minutos alcanzando 1008 J/m² en donde según Ozer (2005) se logra una reducción de 1.09 Log₁₀ para *Escherichia coli* O157:H7.

La radiación emitida se mide en watts (W) y la intensidad de la radiación se mide en W/m². Para una desinfección eficaz es importante conocer la dosis de radiación necesaria para reducir la carga del microorganismo, la cual es el producto entre la intensidad de la radiación (I), expresada como energía por unidad de área y el tiempo de residencia o contacto con la luz UV (t) en segundos. La dosis (D) se mide en J/m² (1 joule = 1 Watt x segundo) (Domínguez y Parzanese 2012).

La aplicación del tratamiento con ácido acético se realizó a partir de 500 ml al 2.5% de ácido acético en un atomizador del laboratorio de microbiología se realizó la aplicación de 0.11 ml/cm² en la carne. Esto se realizó individualmente a cada trozo uno de los trozos de carne y luego se sellaron las bandejas del día 4 y 6 para ser guardadas en refrigeración a 4 °C.

La ecuación 2 indica como la dosis (D) es calculada según la irradiación emitida por la lámpara y el tiempo de exposición.

$$D \text{ (J/m}^2\text{)} = I \text{ (W/m}^2\text{)} \times t \text{ (s)} \quad [2]$$

Tomando en cuenta la literatura citada y la irradiación (potencia fotométrica) de la lámpara utilizada en el estudio:

$$\begin{aligned} 1008 \text{ J/m}^2 &= 4 \text{ W/m}^2 \times t \\ (1008 \text{ J/m}^2) / (4 \text{ W/m}^2) &= 252 \text{ segundos} \end{aligned} \quad [3]$$

Análisis microbiológico.

Luego de hacer las aplicaciones de luz ultravioleta y ácido acético se procedió a analizar las muestras del día 0. Se extrajeron con un sacabocados de un área de 10.75 cm² los trozos de carne y fueron introducidos en una bolsa plástica a la cual se le añadió 90 ml de buffer fosfato, se introdujo al stomacher para homogenizar la muestra y así se obtuvo la dilución 10⁻¹. Tomando 1 ml de la dilución 10⁻¹ y traspasándolo a tubos de dilución con buffer fosfato se llegó hasta la dilución 10⁻⁵, de los cuales se platearon las diluciones (10⁻¹ 10⁻³ y 10⁻⁵) en los cuales se extrajo 1 ml de cada dilución y descargándolo en su plato respectivo se procedió a hacer vaciado en placa con el medio ABRV (15ml / plato). Una vez que el medio ABRV se había solidificado se aplicó una segunda capa de ABRV-MUG (5 ml/plato) para evitar el crecimiento excesivo de las unidades formadoras de colonias (UFC) y también debido a que la adición de la segunda capa de ABRV-MUG junto con la enzima D-Glucoronidasa causa una fluorescencia (Acharya 2013). Todos los platos fueron incubados durante 24 h a 35 °C para hacer el conteo y expresar los resultados el Log UFC/cm². Lo mencionado anteriormente se realizó para el muestreo microbiológico de los análisis en el día 4 y 6.

En la fase microbiológica se utilizó un control positivo, el cual fue inoculado con 0.1 ml de *Escherichia coli* y no fue expuesto a ningún tratamiento antimicrobiano. También se utilizó un control negativo en el cual no se inoculó ni se le hizo aplicación de agentes antimicrobianos.

Análisis fisicoquímico.

Se determinó pH y color, las muestras fueron llevadas al laboratorio de análisis de alimentos de Zamorano (LAAZ) en donde se realizó una verificación del potenciómetro antes de cada análisis y se procedió a medir el pH (AOAC 2015) respectivamente para cada día de almacenamiento (0, 4 y 6) tomando el pH de la muestra de carne en tres distintos lugares de cada bistec. Esta fase del experimento tuvo un control, en donde no se aplicó ninguno de los tratamientos antimicrobiales.

Para el análisis de color de la carne se hizo una calibración siguiendo el protocolo de calibración del equipo en donde se calibra con dos distintos platos de lectura y luego se analiza un “estándar” para corroborar una calibración adecuada. Se cortó un trozo de carne de tamaño adecuado para cubrir por completo el lente de lectura del colorímetro Hunter L*a*b* (AN 1018.00), antes de hacer las lecturas de cada muestra de los tratamientos y el control se hizo cuatro lecturas de color por cada pedazo de los distintos tratamientos para así sacar un promedio de cada una de las variables de color L, a* y b* (Hunter Lab 2013).

Análisis sensorial.

Se realizó un análisis sensorial discriminativo, con un total de 102 panelistas no capacitados, todos estudiantes de la Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano. En donde se utilizó una prueba sensorial dúo trio (ABX), en el cual se les solicitó indicar si percibían alguna muestra igual al control, o indicar si no percibían ninguna similitud. Los resultados fueron analizados estadísticamente mediante una prueba de Chi Cuadrado ($P < 0.05$).

Diseño experimental y análisis estadístico.

Se utilizó un diseño de Bloques Completos al Azar (BCA) con medidas repetidas en el tiempo, en donde se evaluaron cuatro tratamientos con tres repeticiones. Se evaluaron tres medidas repetidas en el tiempo siendo estas el día 0, 4 y 6 para cada una de las repeticiones. Los tratamientos se evaluaron por medio de un análisis de varianza (ANDEVA), con una separación de medias TUKEY ($P < 0.05$) para así determinar si hubo diferencias significativas entre los tratamientos, y entre las medidas repetidas en el tiempo y también la interacción que estos pudieran tener entre ambos, así como también los bloques. Los datos fueron analizados con el programa “Sistema de Análisis Estadístico” versión 9.4 (SAS 2012).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Coliformes.

En el Cuadro 2, el tratamiento de ácido acético y el tratamiento de luz ultravioleta intermitente (UVI) no tienen diferencias significativas en los diferentes días de almacenamiento (0, 4 y 6), sin embargo, sí se ve una tendencia a incrementar los valores de Log UFC/cm² según aumentan los días de almacenamiento. El control positivo que no tuvo ninguna intervención antimicrobiana y luz ultravioleta fija (UVF) presentan un incremento estadísticamente significativo en la carga microbiana de coliformes según los diferentes días de almacenamiento.

Cuadro 2. Recuento de coliformes totales (Log UFC/cm²) en trozos de carne inoculados con *Escherichia coli* ATCC 25922 y tratados con luz UV y solución de ácido acético, almacenados a 4 °C durante 6 días.

Tratamiento	Log coliformes UFC / cm ²		
	Día 0	Día 4	Día 6
CONTROL POS	6.95 ± 0.13 ^{A a}	7.58 ± 0.16 ^{A ab}	8.11 ± 0.18 ^{A b}
ÁCIDO ACÉTICO	6.69 ± 0.16 ^{AB a}	6.78 ± 0.68 ^{B a}	7.44 ± 0.98 ^{A a}
UVF	6.65 ± 0.10 ^{B a}	7.56 ± 0.03 ^{A b}	8.29 ± 0.08 ^{A c}
UVI	6.62 ± 0.04 ^{B a}	7.67 ± 0.20 ^{A a}	7.60 ± 0.57 ^{A a}
Coefficiente de variacion (%)	1.59	3.61	5.75

CONTROL POS: pedazo inoculado sin aplicación de tratamiento antimicrobiano.

UVF: tratamiento de luz ultravioleta fija.

UVI: tratamiento de luz ultravioleta intermitente.

a-b: letras diferentes indican diferencia significativa entre días (P<0.05).

A-B: letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (P<0.05).

La diferencia estadística de la carga microbiana de coliformes puede atribuirse a la desviación estándar alta entre bloques, ya que en los tratamientos de ácido acético, luz ultravioleta fija e intermitente se presenta la misma carga para todos los tratamientos en el día 6. La presencia de coliformes puede indicar la calidad de un pedazo de carne fresco, y una carga alta de coliformes en carne puede atribuirse a procesos post cosecha insatisfactorios. El tratamiento de ácido acético presenta cargas de coliformes estadísticamente iguales al control positivo en el día 0, sin embargo, la disminución de coliformes que genera en el día 4 puede atribuirse al modo de acción en que soluciones ácidas afectan a las bacterias. En donde las bacterias agotan su energía disponible para estar sacando los iones H⁺. Es importante mencionar que hubo un control negativo, el cual no

se inoculó ni se le realizó ningún tratamiento antimicrobiano, éste presentó concentraciones en Log UFC/cm² más bajas que los demás tratamientos en el día 0 y 4, no obstante, el control negativo presentó valores más altos que todos los demás tratamientos en el día 6 (8.51 ± 0.67 Log UFC/cm²). Esto se puede atribuir a que al no haber sido tratado con algún antimicrobiano, existió una mayor facilidad de crecimiento en la carga microbiana de coliformes en este control negativo.

Escherichia coli. En el Cuadro 3 se observa que no existe una interacción entre tratamientos y días (P = 0.059) Ninguno de los tratamientos de luz ultravioleta, sin importar si fuera de una aplicación fija o intermitente generó algún efecto en la carga microbiana de *E.coli*. El tratamiento de ácido acético, similar al Cuadro 2, presenta una disminución en la carga de *Escherichia coli* para el día 4 comparado con el control, y puede atribuirse a el modo de acción del ácido acético, el cual puede tomar algún tiempo. Según Ozer (2005), indica que no se logra reducir la carga microbiana de *Escherichia coli* O157:H7 en más de 1.02 Log. El tratamiento de luz UVI es el único tratamiento antimicrobiano que no presenta un incremento estadísticamente significativo del día 4 al 6. Según Milosevic (2011) con diferentes cantidades de irradiación y tiempo de exposición el rango de reducción de *E. coli* ATCC 25922, la misma cepa utilizada en este experimento, el rango de reducción es de 0.466 – 0.919.

Cuadro 3. Recuento de *Escherichia coli* en (Log UFC/cm²) en trozos de carne inoculados y tratados con luz ultravioleta y solución de ácido acético, almacenados a 4 °C durante 6 días.

Tratamiento	Log <i>Escherichia coli</i> UFC / cm ²		
	Día 0	Día 4	Día 6
CONTROL POS	6.05 ± 0.13 ^{A a}	6.17 ± 0.16 ^{A a}	7.15 ± 0.18 ^{A b}
UVF	5.94 ± 0.12 ^{A a}	6.06 ± 0.09 ^{AB a}	6.74 ± 0.36 ^{A b}
UVI	5.87 ± 0.06 ^{A a}	6.05 ± 0.09 ^{AB a}	6.29 ± 0.76 ^{A a}
ÁCIDO ACÉTICO	5.86 ± 0.09 ^{A a}	5.99 ± 0.09 ^{B a}	6.65 ± 0.15 ^{A b}
Coefficiente de variación (%)	1.68	1.77	5.40

CONTROL POS: pedazo inoculado sin aplicación de tratamiento antimicrobiano.

UVF: tratamiento de luz ultravioleta fija.

UVI: tratamiento de luz ultravioleta intermitente.

a-b: letras diferentes indican diferencia significativa entre días (P<0.05).

A-B: letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (P<0.05).

pH. Existe una interacción entre los días y tratamientos (P = 0.013). En el Cuadro 4 se puede ver que todos los tratamientos disminuyen el pH con el tiempo, cambiando del día 0 al 4, pero solo el pH del control disminuye del día 4 al 6, lo que explica que existe interacción entre los tratamientos y el tiempo. El cambio del pH del control durante el día 4 y 6 puede atribuirse a que al no tener ningún tratamiento antimicrobiano y presentando una flora inicial de coliformes en el día 0, exista una acidificación subsecuente por el

crecimiento de la flora inicial según el transcurso del tiempo en los diferentes días de almacenamiento.

Cuadro 4. Medición de pH en trozos de carne expuestos a tratamientos antimicrobianos de luz ultravioleta y solución de ácido acético, almacenados a 4 °C durante 6 días.

Tratamientos	pH		
	Día 0	Día 4	Día 6
CONTROL	5.66 ± 0.03 ^{A a}	5.28 ± 0.02 ^{A b}	5.24 ± 0.02 ^{A c}
UVF	5.65 ± 0.03 ^{A a}	5.25 ± 0.03 ^{B b}	5.23 ± 0.01 ^{A b}
UVI	5.64 ± 0.02 ^{A a}	5.24 ± 0.01 ^{BC b}	5.23 ± 0.01 ^{A b}
ÁCIDO ACÉTICO	5.50 ± 0.06 ^{B a}	5.22 ± 0.01 ^{C b}	5.19 ± 0.01 ^{B b}
Coeficiente. de variación (%)	0.62	0.33	0.23

CONTROL: pedazo de carne sin ser expuesto a ningún antimicrobial

UVF: tratamiento de luz ultravioleta fija.

UVI: tratamiento de luz ultravioleta intermitente.

a-b: letras diferentes indican diferencia significativa entre días (P<0.05).

A-B: letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (P<0.05).

El tratamiento de ácido acético presentó una reducción significativa del pH a comparación del control en los diferentes días de almacenamiento (0, 4 y 6) lo cual no es deseable debido a que esto aparte de acidificar el sabor de la carne puede generar pérdidas de retención de agua y jugosidad en la carne. Con esto se demuestra que la aplicación de luz UVC puede tener en raras ocasiones una disminución del pH de la carne así como también lo indica (Dominguez y Parzanese 2012).

Los efectos foto químicos que causa la luz ultravioleta pueden afectar el pH de la carne en algún día de almacenamiento, siendo el día 4 en este caso. Estos datos son consistentes según (Kim *et al.* 2015) en donde de igual manera el pH de la carne según sus tratamientos de luz UV inician en 5.6 y en los días posteriores llegan a rangos de 5.2 – 5.3 de pH. Revisando el Cuadro 2 y Cuadro 3, la disminución de pH más notable del día 0 al 4 se puede relacionar al alto incremento en la carga microbiana de coliformes y *Escherichia coli* durante esos días de almacenamiento, mientras que del día 4 al 6 la carga microbiana no aumenta en más de 1 Log UFC/cm², por lo cual la disminución del pH no excede de 0.04.

Valor de color L*.

Usando el valor L* se puede determinar lo claro u oscuro del color de una muestra (AMSA 2012) por lo cual es importante no alterar este factor al usar tratamientos antimicrobiales en la carne.

No hay cambios del valor L* en los diferentes tratamientos aplicados según el (Cuadro 5), Esto es beneficioso debido a que el color de la carne es el atributo más importante en el momento de la compra por el consumidor y es de suma importancia no afectar este en los procesos industriales que se le da a la carne (IPCVA 2013). No existe diferencia estadística en el valor de (L*) de la carne según los días de almacenamiento para los tratamientos antimicrobianos. Únicamente en el control se observa una diferencia entre el día 0 y el 4 en donde el valor aumenta, sin embargo, el día 6 de almacenamiento es igual al día 0 y día 4. El estudio de la inactivación microbiana en carnes junto con su efecto deteriorador de la calidad no ha sido ampliamente estudiado. Sin embargo, estudios demuestran que la aplicación de luz UV en carne de res y de pollo no tiene efectos deterioradores en cuanto a color y rancidez oxidativa (Koutchma y Forney 2009). En el caso de los valores que tienen una tendencia a subir como en el día 4, estos presentan una tonalidad más oscura, lo cual no es deseable.

Cuadro 5. Resultados de luminosidad (L*) en pedazos de carne tratados con luz UV y solución de ácido acético, almacenados a 4 °C durante 6 días.

TRATAMIENTOS	Color L*		
	Día 0	Día 4	Día 6
CONTROL	31.78 ± 5.66 ^{A a}	35.11 ± 5.42 ^{A b}	33.43 ± 4.32 ^{A ab}
UVF	32.19 ± 6.29 ^{A a}	33.48 ± 6.16 ^{A a}	33.04 ± 4.64 ^{A a}
UVI	32.71 ± 4.55 ^{A a}	35.29 ± 4.45 ^{A a}	35.64 ± 5.96 ^{A a}
ÁCIDO ACÉTICO	33.17 ± 7.69 ^{A a}	34.53 ± 3.36 ^{A a}	32.68 ± 2.71 ^{A a}
Coefficiente de variación (%)	18.63	14	13.082

CONTROL: pedazo de carne sin ser expuesto a ningún antimicrobiano

UVF: tratamiento de luz ultravioleta fija.

UVI: tratamiento de luz ultravioleta intermitente.

a-b: letras diferentes indican diferencia significativa entre días (P<0.05).

A-B: letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (P<0.05).

Escala L*: 0 a 100

Valor de color a*.

No se detecta interacción entre tratamientos y días (P = 0.98). El valor a* es de gran importancia en las carnes debido a que ésta le confiere el espectro del rojo al color de la carne y por lo tanto el consumidor lo puede asociar con frescura del producto (Huí *et al.* 2001). Esto influye de gran manera debido a que mientras exista una mayor tonalidad de a* el cliente asumirá mayor frescura en la carne al poseer el típico color de la oximioglobina. Ninguno de los tratamientos altero el cambio en el valor a* respecto al control (Cuadro 6), así como también no existen cambios en a* en los diferentes días de almacenamiento. Koutchma y Forney (2009) reportan resultados similares al no cambiar el valor a* en carne de res durante diferentes días de almacenamiento manteniendo la cadena de frío.

Esto es deseable debido a que si se genera una alteración a este valor de color (a*) existiera un efecto negativo debido a que no percibiera la sensación en frescura en la carne. La presencia de mioglobina en la carne está directamente relacionada con valores de a*

presentes producto (King *et al.* 2010). Los coeficientes de variación tienen un valor bastante alto, por lo cual no hubo un buen ajuste en cuanto a este análisis de color. El valor más alto encontrado en el coeficiente de variación fue de 34.81%, mientras en realidad este no debería superar 10%.

Cuadro 6. Resultados de valor a* en pedazos de carne tratados con luz UV y solución de ácido acético, almacenados a 4 °C durante 6 días.

TRATAMIENTOS	Color a*		
	Día 0	Día 4	Día 6
CONTROL	18.25 ± 4.08 ^{A a}	21.78 ± 3.95 ^{A a}	16.66 ± 6.95 ^{A a}
UVF	19.04 ± 4.47 ^{A a}	21.83 ± 3.26 ^{A a}	17.75 ± 4.02 ^{A a}
UVI	18.01 ± 3.70 ^{A a}	20.39 ± 3.02 ^{A a}	15.21 ± 6.02 ^{A a}
ÁCIDO ACÉTICO	17.01 ± 3.44 ^{A a}	17.90 ± 5.20 ^{A a}	15.98 ± 5.85 ^{A a}
Coefficiente de variación (%)	21.70	18.84	34.81

CONTROL: pedazo de carne sin ser expuesto a ningún antimicrobial

UVF: tratamiento de luz ultravioleta fija.

UVI: tratamiento de luz ultravioleta intermitente.

a-b: letras diferentes indican diferencia significativa entre días (P<0.05).

A-B: letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (P<0.05).

Escala a*: -60 a 60

Valor de color b*: La escala de color b* indica amarillo/azul en alguna matriz, un valor mayor en b* indica amarillo y un valor menor en b* representa azul.

Cuadro 7. Resultados de valor b* en pedazos de carne tratados con luz UV y solución de ácido acético, almacenados a 4 °C durante 6 días.

TRATAMIENTOS	Color b*		
	Día 0	Día 4	Día 6
CONTROL	15.77 ± 3.30 ^{A a}	17.30 ± 0.68 ^{Aa}	17.25 ± 0.56 ^{A a}
UVF	16.44 ± 2.70 ^{A a}	17.28 ± 0.79 ^{A a}	16.41 ± 0.36 ^{A a}
UVI	15.44 ± 2.68 ^{A a}	17.70 ± 1.02 ^{A a}	15.35 ± 1.30 ^{A a}
ÁCIDO ACÉTICO	15.64 ± 2.38 ^{A a}	16.73 ± 1.45 ^{A a}	14.97 ± 2.28 ^{A a}
Coefficiente de variación (%)	17.41	5.71	7.03

CONTROL: pedazo de carne sin ser expuesto a ningún antimicrobial

UVF: tratamiento de luz ultravioleta fija.

UVI: tratamiento de luz ultravioleta intermitente.

a-b: letras diferentes indican diferencia significativa entre días (P<0.05).

A-B: letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos (P<0.05).

Escala b*: -60 a 60

El comportamiento del color b^* a través del tiempo no está influenciado entre los diferentes tratamientos. En el (Cuadro 7), se demuestra que no existe diferencia entre ningún valor de la tonalidad b^* ni entre los tratamientos antimicrobianos ni entre los diferentes días de almacenamiento. La aplicación de luz UV como reporta (Kim, *et al.* 2015) no generan un cambio en el valor b^* en carne de res.

Análisis sensorial.

Los resultados de la evaluación sensorial discriminativa demuestran que el tratamiento de luz ultravioleta fija y luz ultravioleta intermitente son iguales al control de carne que no fue sometido a ningún tratamiento antimicrobiano (Figura 1). Resultados similares fueron obtenidos por (Kim *et al.* 2015). Las muestra sometida a la solución de ácido acético (2.5%) presentan una diferencia significativa al control en cuanto a la percepción de los panelistas ($P < 0.05$), únicamente 9.8% de los panelistas encontraron igualdad entre el tratamiento de ácido acético hacia el control. (Semler *et al.* 2013) presenta resultados en análisis sensorial de carne rociada con distintas soluciones antimicrobianas de ácidos que generan una percepción diferente por parte de los panelistas. El 17.6 de los panelistas no encontraron igualdad entre ninguna de las muestras sometidas a los tratamientos antimicrobianos hacia el control.

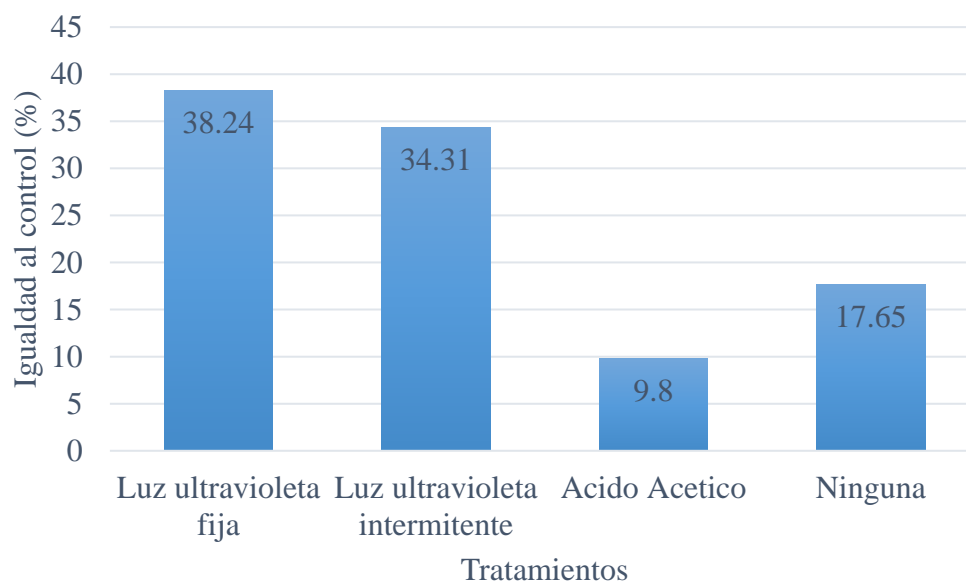


Figura 1. Resultados de análisis discriminativo en porcentaje de los panelistas que encontraron igualdad entre tratamientos antimicrobianos y control

4. CONCLUSIONES

- La aplicación de luz ultravioleta fija e intermitente a bistecs de carne de res no alteran el valor de pH de estos, tampoco genera un cambio en el color de la carne en los días de almacenamiento.
- La luz ultravioleta fija e intermitente genera una reducción en la carga microbiana de coliformes en el día 0 que no existe ya en el día 4 y 6. No hubo reducción en la carga microbiana de *Escherichia coli* en ninguno de los tratamientos de luz ultravioleta, ni tampoco según los días de almacenamiento.
- La aplicación de ácido acético tiene un efecto antimicrobiano diferente en el tiempo, comparado con la aplicación de luz ultravioleta fija e intermitente. Los tratamientos antimicrobianos de luz ultravioleta (fija e intermitente) generan una acidificación menor en la carne en comparación al ácido acético.
- La exposición de carne a luz ultravioleta no cambia la percepción del consumidor y la adición de ácido acético en carne genera cambios permisibles sensorialmente.

5. RECOMENDACIONES

- Aumentar la energía de luz UVC irradiada a la carne con el fin de reducir carga microbiana, específicamente a *Escherichia coli*.
- Medir los cambios de temperatura que puede haber en los bistecs de res durante la aplicación de la luz UVC ya que la energía aplicada pudiera hacer cambios térmicos en la matriz cárnica.
- Utilizar lámparas de luz UVC con diferentes longitudes de onda a la usada en este experimento (254 nm) para determinar si existe algún cambio en la reducción microbiana que ésta puede generar en la carga de coliformes y *Escherichia coli*.
- Analizar posibles reactivaciones por parte de los microorganismos utilizados en el estudio a la irradiación de luz UVC.
- Hacer un análisis proximal en la carne a la cual se le aplican los diferentes tratamientos antimicrobianos.
- Realizar el experimento con grupos de animales homogéneos en edad y tomar en cuenta los efectos pre – mortem, y post – mortem.
- Analizar cómo otro tipo de material de empaque puede influenciar en la efectividad antimicrobiana de la luz ultravioleta en carne de res.

6. LITERATURA CITADA

Acharya T. 2013. MUG (Beta-Glucoronidase) test for rapid identification of *E. coli* [Consultado 2017 Sep 5]. Disponible: <http://microbeonline.com/mug-test-b-glucuronidase-test-for-rapid-identification-of-e-coli/>

Alvarado C. 2016. Consejos para etiquetado natural y “etiquetas limpias” – tecnologías de alimentos. CarneTec. [Consultado 2017 Sep 22]. <http://www.carnetec.com/Industry/TechnicalArticles/Details/61639>

AMSA. 2012. Meat Color Measurement Guidelines. [Consultado 2017 Sep 13]. <http://www.meatscience.org/docs/defaultsource/publicationsresources/HotTopics/download-the-ebook-format-pdf-of-the-meat-color-measurement-guidelines.pdf?sfvrsn=0>

AN 1018.00. Hunter Lab. 2013. Measurement methods. [Consultado 2017 Sep 9]. <https://www.hunterlab.com/measurement-methods.html>

AOAC International. 2015. AOAC Method analysis (981.12-1982). [Consultado 2017 Sep 13] http://www.aoacofficialmethod.org/index.php?main_page=product_info&cPath=1&products_id=1159

Codex Alimentarius. 2005. FAO/OMS. Código de prácticas de higiene para la carne. Codex Stan 58-2005.

Davidson P, Harrison H. 2002. Resistance and Adaptation to Food Antimicrobials, Sanitizers, and Other Process Controls. [Consultado 2017 Jul 13]. https://www.researchgate.net/publication/237373178_Resistance_and_Adaptation_to_Food_Antimicrobials_Sanitizers_and_Other_Process_Controls

Domínguez L, Parzanese M. 2012. Luz ultravioleta en la conservación de alimentos. [Consultado 2017 Jul 7] <http://copal.org.ar/wp-content/uploads/2015/06/luzultravioleta.pdf>

FAO. 2007. Buenas prácticas para la industria de la carne. [Consultado 2017 Ago 27]. Disponible: <http://www.fao.org/3/a-y5454s/y5454s01.pdf>

FAO. 2014. División de Producción y Sanidad Animal. [Consultado 2017 Ago 27]. Disponible en <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/background.html>

Gutiérrez A, Paul E, López A. 2012. Equipos para tratamiento de alimentos con irradiación, México. Temas selectos de ingeniería de alimentos 6 – 2. [Consultado 2017 Jul 7] <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-62Antonio-Gutierrez-et-al-2012.pdf>

Hui YH. 2001. Meat science and applications. New York: Marcel Dekker. ISBN: 9780824705480.

Index Mundi. 2015. Honduras Beef and Veal Meat Production by Year (en línea). [Consultado 2017 Ago 27] Disponible en <http://www.indexmundi.com/agriculture/?country=hn&commodity=beef-and-vealmeat&graph=production>

INI (Innova Market Insights). 2015. Industria alimentaria - La etiqueta limpia va más allá de una tendencia. [Consultado 2017 Sep 22] Disponible en <http://www.industriaalimenticia.com/articulos/87876-la-etiqueta-limpia-va-mas-alla-de-una-tendencia>

IPCVA. 2013. Calidad Organoleptica de la carne vacuna [Consultado 2017 Sep 4] <http://www.ipcva.com.ar/vertext.php?id=100>.

Kim H.J, Lee Y.J, Eun J.B. 2015. Effects of ultraviolet radiation on the physicochemical characteristics of Korean native cattle (Hanwoo) beef. Korean Journal for Food Science of Animal Resources. 34(6):815-821. ISSN 2234-344X

King D.A, Shackelford S.D, Kuehn L.A, Kemp CM, Rodriguez AB, Thallman RM, Wheeler TL. 2010. Contribution of genetic influences to animal-to-animal variation in myoglobin content and beef lean color stability. J Anim Sci. 88(3):1160–1167. eng. doi:10.2527/jas.2009-2544

Koutchma TN, Forney LJ, Moraru CI. 2009. Ultraviolet light in food technology: Principles and applications / Tatiana N. Koutchma, Larry J. Forney, and Carmen I. Moraru. Boca Raton: CRC Press (Contemporary food engineering): 278 p. ISBN: 9781420059502.

Milosevic D, Solaja M. 2011. The survival of *Escherichia coli* upon exposure to irradiation with non-coherent. [Consultado 2017 Jul 17] (<http://vri.cz/docs/vetmed/56-10-520.pdf>)

OMS (Organización Mundial de la Salud). 2016. Enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) – inocuidad de alimentos – HACCP. [Consultado 2017 Jul 10] http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10836%3A2015enfermedades-transmitidas-por-alimentos&catid=7678%3Ahaccp&Itemid=41432&lang=es

Ozer N. 2005. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 and *Listeria monocytogenes* inoculated on raw salmon fillets by pulsed UV-light treatment. BMC Reaserch Notes 8(235) [Consultado 2017 Ago 28] <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.13652621.2005.01071.x>

Semler E, Chao D, Hosch J, Senaratne S, Varnold K. 2013. Color and Sensory Properties of Beef Steaks Treated with Antimicrobial Sprays. Nebraska beef cattle reports 750.

[Consultado 2017 Sep 15]
<http://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1766&context=animalscinbcr>

Sosa M. 2017. Carne de Bovino 2017. Mexico. 26 p. [Consultado 2017 Jul 10]
https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/200639/Panorama_Agroalimentario_Carne_de_bovino_2017_1.pdf

Tortora G, Funke B, Case C. 2007. Introducción a la Microbiología. 9ª edición. España. Editorial Medica Panamericana. 963 p. ISBN: 9789500607407
<https://books.google.hn/books?id=Nxb3iETuwpIC&printsec=frontcover#v=onepage&q&f=false>

7. ANEXOS

Anexo 1. Cambios de carga de bacterias Gram – negativas en carne de res tratada con luz ultravioleta.

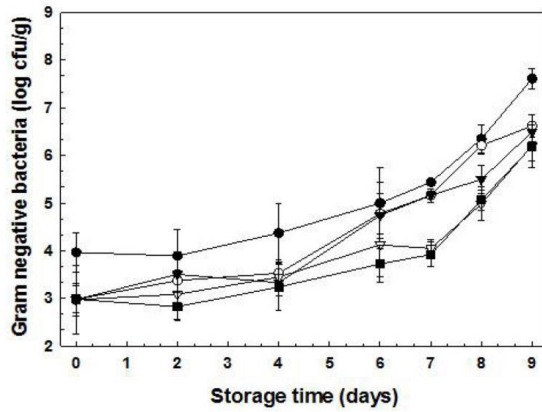


Fig. 4. Changes in Gram-negative bacteria of Korean native beef treated with UV irradiation for various times during storage at 4°C. ● - ● Control, ○ - ○ 5 min, ▼ - ▼ 10 min, ▽ - ▽ 15 min, ■ - ■ 20 min. Error bars show the standard error of the mean.

(Kim *et al.* 2015)

Anexo 2. Reducciones logarítmicas (UFC/g) de *E. coli*

Table 1. Log reduction in population^a of *E. coli* O157:H7 on muscle and skin side of salmon fillets with pulsed UV-light at different distance from the UV strobe

Time (s)	Number of pulses	Log reduction (CFU g ⁻¹) ^{b,c}					
		3 cm		5 cm		8 cm	
		Muscle	Skin	Muscle	Skin	Muscle	Skin
15	45	0.31 A	0.52 A	a 0.53 A	a 0.66 A	a 0.17 A	b 0.36 A
30	90	-	-	a 0.86 A	a 0.85 A	a 0.25 B	a,b 0.81 A
45	135	-	-	-	-	a 0.24 B	a 0.91 A
60	180	-	-	-	-	a 0.30 B	a 1.09 A

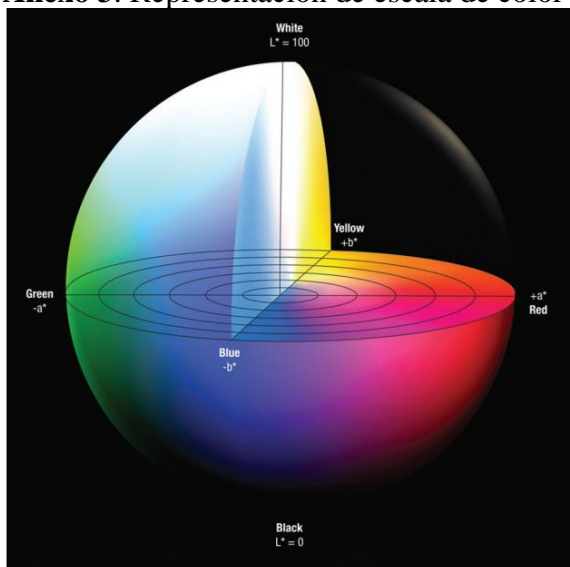
^aInitial *E. coli* O157:H7 population was c. 6 log₁₀ CFU g⁻¹.

^bWithin the same row, values not followed by the same capital letter are significantly different ($P < 0.05$).

^cWithin the same column, values not preceded by the same lower-case letter are significantly different ($P < 0.05$).

(Ozer 2005)

Anexo 3. Representación de escala de color L*a*b*



(AMSA 2012)

Anexo 4. Boleta de evaluación sensorial usada por los panelistas no capacitados.

Hoja de Evaluación Sensorial

Prueba discriminativa de carne de res

Código: _____

Fecha: _____

Instrucciones:

- Frente a usted hay tres muestras marcadas con A, B y X respectivamente, evalúe las muestras siguiendo el orden dado (A-B-X), por favor circule A o B, si es que encuentra alguna de estas muestras igual a la muestra X. Si no encuentra similitud por favor escriba NINGUNA en la línea encima de la X
- Por favor indique el porqué de su respuesta en la sección de observaciones
- Limpie su paladar comiendo un pedazo de galleta salada y agua antes de cada muestra a evaluar

A

B

_____ X

OBSERVACIONES:
