

**UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA
FACULTAD DE VETERINARIA**

**EFFECTO DE TRES TRATAMIENTOS SOBRE LA VIDA ÚTIL DE CARNE
PICADA ENVASADA AL VACÍO**

por

Sofía María TRABAL LÓPEZ

**TESIS DE GRADO presentada como
uno de los requisitos para obtener el
título de Doctor en Ciencias
Veterinarias
Orientación: Higiene, Inspección-
Control y Tecnología de los
Alimentos**

MODALIDAD: Ensayo Experimental

**URUGUAY
2019**

1. PÁGINA DE APROBACIÓN

Tesis de grado aprobada por:

Presidente de mesa:

Dr. Jorge Fernández

Segundo miembro (Tutor):

Dra. Cristina López (Tutor)

Tercer miembro:

Dr. Tomás Eastman

Cuarto miembro:

Dra. Florencia Iglesias (Co-tutor)

Quinto miembro:

Dr. Ariel Aldrovandi (Co-tutor)

Fecha:

20/12/2019

Autor:

Sofía Trabal

2. AGRADECIMIENTOS

Quería agradecerle al Frigorífico Tacuarembó S.A. por haberme apoyado en la realización de este proyecto, sobre todo a la DCV Cecilia Acosta, a la DCV Florencia Iglesias (Co-tutora) y al QF Carlín Levratto, por haber creído en mi propuesta y por el espacio brindado durante el desarrollo del proyecto.

Por otro lado, agradezco a mi Tutora Cristina López y a mi Co-tutor Ariel Aldrovandi, por su apoyo, por los conocimientos brindados y por su paciencia.

Agradezco, además al personal de Control de Calidad del Frigorífico Tacuarembó S.A., en especial a Secilia Alegre, Lucía Martínez quienes me brindaron apoyo y su tiempo durante el desarrollo del estudio.

Quiero agradecerles especialmente a mis padres Federico y Mora, quienes siempre confiaron en mí y me apoyaron en todos los ámbitos de la vida. A Alfonso, mi hermano, por formar parte de mi vida e impulsarme en todo. A mis amigos, Sofía y Federico por sus consejos y siempre ser incondicionales.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
1. PÁGINA DE APROBACIÓN.....	2
2. AGRADECIMIENTOS.....	3
3. LISTA DE TABLAS.....	5
4. LISTA DE FIGURAS.....	6
5. RESUMEN.....	7
6. SUMMARY.....	8
7. INTRODUCCIÓN.....	9
8. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	11
8.1. Generalidades de la Carne.....	11
9.1.1. Definición de Carne.....	11
9.1.2. Composición química de la Carne.....	11
9.2. Microbiología de la Carne.....	14
9.2.1. Contaminación de la Carne.....	14
9.2.2. Alteración de la Carne.....	14
9.3. Factores que afectan el desarrollo bacteriano.....	17
9.3.1. Temperatura.....	19
9.3.2. Humedad.....	20
9.3.3. Disponibilidad de Oxígeno.....	20
9.3.4. pH.....	22
9.3.5. Aw.....	24
9.3.6. Potencial Redox.....	24
9. MATERIALES Y MÉTODOS.....	26
10.1. Diseño Experimental.....	26
10.2. Análisis.....	27
10.2.1. Recuento de Aerobios Mesófilos Totales.....	27
10.2.2. Recuento de Enterobacterias.....	27
10.2.3. Medición de pH.....	27
10.3. Análisis de Datos.....	27
11. RESULTADOS.....	28
11.1. Producto envasado al Vacío (Tratamiento Control).....	28
11.2. Producto envasado al Vacío con agregado de Ácido Láctico al 3,3%.....	29
11.3. Producto envasado al Vacío con agregado de Lactato de Sodio.....	30
11.4. Producto envasado al Vacío con agregado de Cultivo B-LC-48.....	31
11.5. Análisis de las variables en cada tiempo de medida.....	32
11.5.1. Aerobios Mesófilos Totales.....	32
11.5.2. Enterobacterias.....	32
11.5.3. pH.....	33
11.6. Estudio durante el tiempo de almacenamiento.....	34
12. DISCUSIÓN.....	35
13. CONCLUSIONES.....	37
14. RECOMENDACIONES.....	38
15. BIBLIOGRAFÍA.....	39

3. LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Composición del músculo.....	13
Tabla 2. Géneros de bacterias comúnmente encontradas en carne almacenada en diferentes condiciones.....	16
Tabla 3. Métodos de Conservación.....	18
Tabla 4. Estudio del efecto de los tratamientos sobre los aerobios mesófilos totales en cada tiempo de medida.....	32
Tabla 5. Estudio del efecto de los tratamientos sobre las enterobacterias en cada tiempo de medida.....	32
Tabla 6. Estudio del efecto de los tratamientos sobre el pH en cada tiempo de medida.....	33

4. LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Evolución de las variables estudiadas a lo largo del ensayo. Recuento bacteriano de Aerobios mesófilos totales, Enterobacterias y pH en los 27 días, expresado en logaritmo decimal en las muestras al vacío.....	28
Figura 2. Evolución de las variables estudiadas a lo largo del ensayo. Recuento bacteriano de Aerobios mesófilos totales, Enterobacterias y pH en los 30 días, expresado en logaritmo decimal en las muestras con agregado de ácido láctico.....	29
Figura 3. Evolución de las variables estudiadas a lo largo del ensayo. Recuento bacteriano de Aerobios mesófilos totales, Enterobacterias y pH en los 30 días, expresado en logaritmo decimal en las muestras con agregado de lactato de sodio.....	30
Figura 4. Evolución de las variables estudiadas a lo largo del ensayo. Recuento bacteriano de Aerobios mesófilos totales, Enterobacterias y pH en los 27 días, expresado en logaritmo decimal en las muestras con agregado de Cultivo B-LC-48.....	31
Figura 5. Evolución de los valores de aerobios mesófilos totales para los distintos tratamientos. Envasado al Vacío, Envasado al Vacío con agregado de Ácido Láctico, Envasado al Vacío con agregado de Lactato de Sodio y Envasado al Vacío con agregado de Cultivo B-LC-48	34

5. RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo la evaluación microbiológica y medición de pH de la carne picada fresca de vacuno y estudio de vida útil en cuatro tratamientos diferentes. Los mismos fueron; carne picada envasada al vacío como tratamiento control, un segundo tratamiento con agregado de cultivo láctico (*Lactobacillus curvatus*), otro con agregado de ácido láctico (0,5 %) y un cuarto tratamiento con agregado de lactato de sodio (3,3%). Se realizó la detección y cuantificación de Aerobios mesófilos totales, enterobacterias y pH durante un período de 30 días. Se utilizaron un total de 96 muestras de carne picada envasadas al vacío con los distintos tratamientos y se mantuvieron almacenadas bajo condiciones de refrigeración (0 a 4°C). Los análisis mencionados fueron llevados a cabo en el Laboratorio Microbiológico de la empresa, en los días 12, 15, 18, 20, 22, 25, 27 y 30. Se transformaron los recuentos obtenidos a logaritmo decimal para luego realizar la estadística descriptiva de los mismos. La carga inicial de la carne previo al envasado mostro valores bajos de mesófilos aerobios totales. En dos de los tratamientos; el tratamiento control y el tratamiento con agregado de cultivo láctico, hacia el final del estudio, se observó en las variables estudiadas un valor que superó al límite establecido por el Decreto N°215/006. En cambio, en los tratamientos con agregado de ácido láctico (0,5%) y lactato de sodio (3,3%) se observó un menor crecimiento con respecto a los otros dos tratamientos hacia el final del estudio.

6. SUMMARY

The present work aimed at the microbiological evaluation and pH measurement of fresh minced beef and the study of useful life in four different treatments. They were; minced meat vacuum packed as a control treatment, a second treatment with lactic culture (*Lactobacillus curvatus*) aggregate, another with lactic acid aggregate (0.5%) and a fourth treatment with sodium lactate aggregate (3.3%). Detection and quantification of total mesophilic aerobes, enterobacteria and pH was performed over a period of 30 days. A total of 96 samples of minced meat vacuum packed with the different treatments were used and kept stored under refrigeration conditions (0 to 4 ° C). The aforementioned analyses were carried out in the company's microbiological laboratory, on days 12, 15, 18, 20, 22, 25, 27 and 30. The counts obtained were transformed into decimal logarithm and then the descriptive statistics of the same. The initial loading of the meat prior to packaging showed low values of total aerobic mesophiles. In two of the treatments, the control treatment and the treatment with lactic culture aggregate, towards the end of the study, a value that exceeded the limit established by Decree N°215 / 006 was observed in the studied variables. In contrast, in the treatments with lactic acid aggregate (0.5%) and sodium lactate (3.3%), a lower growth was observed with respect to the other two treatments towards the end of the study.

7. INTRODUCCIÓN

La carne picada es un producto de consumo popular para la población uruguaya, y se ha convertido en un componente cada vez más utilizado debido a su versatilidad como ingrediente (Bove y Cerruti, 2008).

En el año 2010, el Instituto Nacional de Carnes publicó un estudio sobre las preferencias de cortes, en el que se observó que la carne picada pasó del tercer lugar de preferencia en 2005, al primer lugar en 2010 en las cuatro zonas en las que se dividió el país. Según este estudio las frecuencias relativas de consumo de la carne picada oscilaron entre el 75 y 98% (INAC, 2010). En el año 2015 al igual que en la canasta del 2010 la carne picada sigue posicionándose en el primer lugar de consumo (INAC, 2015).

Debido al aumento de consumo que se ha dado a lo largo de los años, las empresas alimentarias han lanzado nuevos productos al mercado y la competencia se ha vuelto más intensa. Para competir con mayor eficacia y como resultado de un rol más activo de los consumidores, se ha cambiado la orientación de las empresas focalizándose más en las necesidades, los deseos y las preferencias de los consumidores. Por lo antes mencionado y para mejorar las utilidades, las empresas alimentarias han buscado maximizar el período en el que los productos se mantienen en condiciones de aptitud para el consumo (saludables y agradables) en presentaciones que resulten convenientes para los consumidores y que sean fáciles de comercializar.

La vida útil es el tiempo máximo que los alimentos mantienen sus cualidades sensoriales, microbiológicas, nutritivas y de inocuidad alimentaria, por encima de un nivel considerado aceptable por los consumidores. Hoy en día crece la tendencia de preferir aquellos alimentos que los consumidores perciben como frescos (Dey, 2007).

Debido a la gran cantidad de agua y a su abundancia de nutrientes, la carne es conocida como uno de los alimentos más perecederos. Por ello, algunos microorganismos, pueden contribuir a la descomposición a pesar de encontrarse bajo buenas condiciones de conservación. Esto hace que la microbiología de la carne en descomposición sea muy compleja y el deterioro muy difícil de prevenir (Ercolini y col., 2006).

El proceso de deterioro puede ser considerado como un fenómeno que acompaña los cambios de sustratos disponibles durante la proliferación de bacterias que consiste en una asociación microbiológica de la carne. La prevalencia de ciertos microorganismos depende de factores persistentes durante el procesamiento, transporte y almacenamiento (Nychas y col, 2008).

Existen factores intrínsecos como el pH, a_w , composición, tipo y extensión de la contaminación inicial y factores extrínsecos como temperatura y el ambiente del envase. Dentro de estas, la temperatura es considerada como el factor más importante para prevenir un deterioro rápido (Nychas y col, 2008).

El deterioro de los alimentos es un evento complejo que combina efectos biológicos y químicos que interactúan, generando un producto inaceptable para el consumo humano. Las causas microbiológicas, son las de mayor importancia

ya que la carne, proporciona un microambiente ideal para el crecimiento de los microorganismos y presentan pocas barreras naturales para que estos no se desarrollen. Basándose en este conocimiento es posible planificar y optimizar las estrategias para extender la vida útil (Casaburi y col., 2015; Stoops y col., 2015).

Este producto es un medio rico para el crecimiento de algunos microorganismos que producen su alteración, de allí radica la importancia de ciertos factores de conservación, tales como la temperatura y el medio ambiente que se genera dentro del envase como modo de frenar el deterioro y determinar la vida útil del producto (Casaburi y col., 2015).

Desde que la carne es procesada, luego distribuida, y vendida por los minoristas, a menudo lejos del procesador primario, éste debe emplear métodos, para asegurar la preservación de la carne. Tales métodos deben ser capaces de inhibir o atenuar el crecimiento tanto de los organismos patógenos como los alteradores. Además de prolongar la vida útil y mantener la calidad, las técnicas de preservación empleadas deben conservar las características de los productos crudos tanto como sea posible (Signorini, 2007).

El envasado al vacío es tal vez el método más común de proteger al alimento y es utilizado extensamente por la industria cárnica. La extensión de la vida útil de las carnes envasadas al vacío radica en los cambios que se producen en las concentraciones de O₂ y CO₂ dentro del envase, generándose una selección microbiana (Greer y Jones, 1991).

A esto, se le agrega que a pesar de cumplir de forma estricta las Buenas Prácticas de Higiene, no se garantiza la ausencia de bacterias no deseadas o niveles lo suficientemente bajos para compensar las deficiencias en la cadena de frío (Koutsoumanis y Angelidis, 2007).

De allí radica la importancia de buscar otras formas más eficaces para aumentar la vida útil de los productos. Según Price y Schweigert (1994) combinando materiales y/o tratamientos, es posible producir una estructura que tenga propiedades que no se puedan obtener con un único material y/o tratamiento.

Existen varios estudios que dejan en clara evidencia que la temperatura de almacenamiento combinado con distintos tipos de envasados, así como también, la aplicación de distintos tratamientos tales como la utilización de antimicrobianos inducen a la selección de la microbiota alterante (Dolugeraki y col., 2012).

Este trabajo fue realizado considerando todos estos aspectos previamente mencionados, el cual evalúa si efectivamente el envasado al vacío, en conjunto con otros tratamientos aplicados directamente sobre la carne, aumenta la vida útil que presenta la carne únicamente envasada al vacío.

8. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

8.1. Generalidades de la Carne

8.1.1. Definición de Carne

Según el Reglamento Bromatológico Nacional (Decreto N° 315/994) la carne es la parte muscular comestible de bovinos, ovinos, caprinos, suinos, equinos, aves y conejos, declarada apta para la alimentación humana por la inspección veterinaria oficial, antes y después de la faena, constituida por todos los tejidos que rodean el esqueleto, incluyendo su cobertura grasa, tendones, vasos nerviosos, aponeurosis, ligamentos, cartílagos y todos aquellos tejidos no separados durante la operación de faena. Además, se considera carne el diafragma, no así el corazón, el esófago, la lengua y los músculos del aparato hioideo. El término carne por extensión se aplica también a los productos de caza, aves o mamíferos, que se comercializan tradicionalmente para la alimentación humana.

8.1.2. Composición química de la Carne

La carne se encuentra formada por cuatro grandes componentes, agua, proteínas, grasa y carbohidratos, y otros compuestos menores como las vitaminas, enzimas, pigmentos y compuestos aromáticos. Las proporciones de todos estos constituyentes le dan a la carne su particular estructura, textura, olor, color y valor nutritivo. Por lo tanto, debido a su naturaleza, la carne presenta un progresivo deterioro desde la faena hasta el consumo (Lambert y col., 1991).

El agua es el mayor constituyente de la carne. El músculo esquelético tiene una composición de 75% de agua en el peso del músculo vivo, que puede tener una variación *postmortem* de entre 65 a 85%.

Dentro del músculo, es el componente principal del líquido extracelular y dentro de la célula muscular es el principal componente del citoplasma, que tiene una gran importancia en la termorregulación, como medio para diferentes procesos celulares y como transporte de nutrientes dentro de la célula, entre células y entre el músculo y el sistema vascular (Toldrá, 2010).

El segundo componente más abundante son las proteínas con un promedio de 18,5%, pudiendo variar de entre 16 a 22% (Toldrá, 2010).

La grasa tiene un promedio de 3% en el peso del músculo, pero el rango puede variar de entre 1 a 13%. Es un componente muy variable, que puede variar de acuerdo a distintos factores, tales como, la edad, el estado nutricional y el tipo de músculo. En el músculo esquelético, los lípidos juegan un papel como reserva de energía, parte de la estructura de las membranas y muchos otros procesos (Toldrá, 2010).

Los lípidos de depósito, en su mayoría, se localizan entre los haces musculares. Este depósito corresponde a la grasa intramuscular y es conocido como "marmoreado", que cumple un rol fundamental en la terneza y jugosidad entre otros, como por ejemplo las reacciones químicas que se pueden producir en ellas, como la oxidación que causa la rancidez de las grasas y el deterioro de la carne (Wood y col., 2008).

Los carbohidratos componen un pequeño porcentaje dentro del tejido muscular, con un promedio de 1% en el total del peso muscular y un rango de entre 0,5 a 1,5%, dentro de los carbohidratos el componente principal es el glucógeno. El glucógeno se encuentra en mayor porcentaje en carnes de animales en buen estado. Este es de gran importancia en la calidad de la carne, debido a que es utilizado para producir ácido láctico y así disminuir el pH de la misma (Toldrá, 2010).

En el músculo también se encuentran numerosas sustancias solubles no proteicas, que incluyen sustancias como la creatinina, la creatina, fosfatos, ATP, ADP, aminoácidos libres y péptidos entre otros (Toldrá, 2010).

Tabla 1. Composición del músculo

Agua			75%
Proteínas			19%
	Miofibrilares	miosina, tropomiosina, troponinas, α , β y γ actininas, Actina	11,50%
	Sarcoplásmicas	mioglobina, hemoglobina y otras proteínas inespecíficas extracelulares	5,50%
	Tejido Conectivo y Organelos	colágeno, elastina, mitocondriales (incluyendo citocromo C y enzimas insolubles)	2,00%
Lípidos			2,50%
Carbohidratos			1,20%
		ácido láctico, glucosa-6-fosfato, glucógeno, glucosa e intermediarios glucolíticos	
Sustancias solubles no proteicas			2,30%
	Nitrogenadas	creatinina, inosina de monofosfato, di- y trifosfopiridin nucleótidos, aminoácidos, carnosina, anserina	1,65%
	Inorgánicas	fósforo soluble total, potasio, sodio, magnesio, calcio, zinc y trazas de metales	0,65%
Vitaminas		Varias vitaminas lipo e hidrosolubles	

Tabla adaptada de Lawrie y Ledward, 2006

8.2. Microbiología de la Carne

8.2.1. Contaminación de la Carne

Previo al sacrificio, los tejidos internos de un animal sano se consideran estériles (Jay y col., 2005).

Las barreras de protección contra la contaminación bacteriana, tales como la piel y mecanismos antimicrobianos de defensa (lisozima y péptidos antimicrobianos) de los animales vivos, son destruidas durante la faena, y la carne resultante queda expuesta a niveles en aumento de contaminación (Doyle y Beuchar, 2007).

Existen dos grandes fuentes de contaminación, endógena, cuando es producida por infección en el animal vivo o exógena, cuando la alteración es producida luego del sacrificio. La alteración de la carne por microorganismos proveniente de la vía exógena es la más frecuente (Lawrie y Ledward, 2006).

Durante el proceso de sacrificio en los establecimientos de faena, las principales fuentes de contaminación microbiana en las canales incluyen: el propio animal (piel, tracto gastrointestinal y respiratorio), los trabajadores, el equipo y los utensilios, el aire y el agua. Por lo tanto, el nivel de contaminación en las canales en cada etapa, dependerá en su gran mayoría de las prácticas higiénicas empleadas durante el proceso de obtención (Nychas y Drosinos, 2000).

La temperatura y otras condiciones de almacenamiento y del transporte puede también influenciar el grado de deterioro (Nychas y col., 2008).

8.2.2. Alteración de la Carne

La microbiota inicial de la carne luego de la faena, está compuesta principalmente por microorganismos mesófilos que no pueden crecer a temperaturas de enfriado y temperaturas de almacenamiento. Durante el enfriado, existe un cambio en la composición microbiana inicial, pasando a dominar los microorganismos psicrótrofos que son capaces de producir sabores, olores y lograr una apariencia indeseada. La carga inicial en la carne roja es normalmente de entre 10^2 a 10^5 CFU/cm², donde solo un 10% de la población microbiana podrá continuar su crecimiento a temperaturas de refrigeración (Cervený y col., 2009).

La carne puede ser deteriorada por una gran cantidad de microorganismos, incluyendo bacterias Gram positivas y Gram negativas, levaduras y mohos, siendo las Gram negativas las predominantes luego del sacrificio (Jay y col., 2005).

Dentro de los microorganismos Gram positivos que se presentan en mayor porcentaje, se puede encontrar, *Micrococcus spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Bacillus spp.*, *Lactobacillus spp.* y *Brochothrix spp.* (Cervený y col., 2009).

En cuanto a los Gram negativos se encuentran las *Pseudomonas* que pueden colonizar velozmente a la carne, *Flavobacterium* que presenta ciertos géneros psicrótrofos que se podrían encontrar a temperatura de refrigeración y géneros de la familia *Enterobacteriaceae* entre los que encontraremos *Klebsiella sp.*,

Proteus, *E. coli*, *Enterobacter*, también *Acinetobacter*, *Moraxella* y *Aeromonas* (Cárdenas y col., 2001 y Cárdenas y Gianuzzi, 2005).

El deterioro microbiológico también puede ser clasificado de forma aerobia o anaerobia, dependiendo de las condiciones de almacenamiento y disponibilidad de oxígeno, predominarán unos u otros. Si se encuentra bajo condiciones aerobias los microorganismos pueden alterar la carne modificando su color, olor y aspecto, debido al enranciamiento de las grasas, cambio en los pigmentos y destrucción de vitaminas (Hernández-Macedo y col., 2011).

La flora predominante en aerobiosis a temperaturas de refrigeración está compuesta mayoritariamente por *Pseudomonas spp.*, *Moraxella spp.*, *Psychrobacter spp.*, y *Acinetobacter spp.*, también es frecuente encontrar miembros de la familia *Enterobacteriaceae* (ICMSF,1998).

En anaerobiosis, el microorganismo asociado por excelencia a la carne es el *Brochothrix thermosphacta*. La capacidad de *B. thermosphacta* de crecer tanto en ambientes aerobios como anaerobios lo hace un importante deteriorante, debido mayormente a su capacidad de producir olores indeseados (Pin y col., 2002).

Tabla 2. Géneros de bacterias comúnmente encontradas en carne almacenada en diferentes condiciones.

Gram positivas	Condiciones de almacenamiento		Gram negativas	Condiciones de almacenamiento	
	Aire	Vacío		Aire	Vacío
<i>Bacillus</i>	+	+	<i>Achromobacter</i>	+	
<i>Brochotrix</i>	+	+	<i>Acinetobacter</i>	+	+
<i>Carnobacterium</i>	+	+	<i>Aeromonas</i>	+	+
<i>Corynebacterium</i>	+		<i>Alcaligenes</i>	+	+
<i>Clostridium</i>		+	<i>Alteromonas</i>	+	+
<i>Enterococcus</i>	+		<i>Campylobacter</i>	+	
<i>Kocuria</i>	+		<i>Chromobacterium</i>	+	
<i>Kurthia</i>	+		<i>Citrobacter</i>	+	
<i>Lactobacillus</i>	+	+	<i>Enterobacter</i>	+	
<i>Lactococcus</i>	+		<i>Escherichia</i>	+	
<i>Leuconostoc</i>	+	+	<i>Flavobacterium</i>	+	
<i>Listeria</i>	+		<i>Hafnia</i>	+	+
<i>Microbacterium</i>	+	+	<i>Klebsiella</i>	+	
<i>Micrococcus</i>	+		<i>Kluyvera</i>	+	
<i>Paenibacillus</i>	+		<i>Moraxella</i>	+	
<i>Staphylococcus</i>	+	+	<i>Pantoea</i>	+	+
<i>Streptococcus</i>	+		<i>Proteus</i>	+	
<i>Weissella</i>	+	+	<i>Providencia</i>	+	+
			<i>Pseudomonas</i>	+	+
			<i>Serratia</i>	+	+
			<i>Shewanella</i>	+	
			<i>Vibrio</i>	+	
			<i>Yersinia</i>	+	+

Tabla adaptada de Casaburi y col., 2015

8.3. Factores que afectan el desarrollo bacteriano

El crecimiento microbiano está gobernado por la acción simultánea de diversos factores físicos y químicos limitantes. La capacidad de sobrevivir e iniciar el crecimiento de cada tipo de microorganismo, tanto los alteradores como los causantes de enfermedades alimenticias está influenciada por la acción conjunta de factores extrínsecos, como pH, temperatura, aw; intrínsecos (propios del alimento) y los propios del microorganismo (Cárdenas y Gianuzzi, 2005).

Los procedimientos utilizados para la preservación de la carne apuntan principalmente a destruir o por lo menos inhibir los microorganismos patógenos y aquellos que producen deterioro, algunos métodos, sin embargo, tratan de minimizar los cambios producidos tales como el color y cambios oxidativos. A pesar de que el deterioro puede producirse en ausencia de microorganismos como, por ejemplo, proteólisis, lipólisis y oxidación, el crecimiento de los microorganismos son el factor más importante a la hora de mantener la calidad del alimento. La pérdida de control sobre estos procedimientos puede llevar a que el producto sea más susceptible al deterioro microbiano y terminar en una pérdida de la calidad del alimento (Lawrie y Ledward, 2006).

La vida útil de un alimento depende sobre todo del tiempo de exposición al proceso de conservación, de la intensidad de éste (temperatura y tiempo de calentamiento, grado de deshidratación, concentración de sal común y de sales curantes, intensidad de ahumado, etc.) y de la sensibilidad de los gérmenes. Los microorganismos más lábiles se destruyen enseguida, mientras que los más resistentes únicamente ven reducidos su metabolismo y sus procesos de reproducción. Estos últimos reanudan plenamente su desarrollo una vez que cesa el efecto inhibitor y se reinstauran unas condiciones favorables para su desarrollo (Prandl y col., 1994).

Generalmente se distinguen dos clases principales de procedimientos de conservación de la canal: los físicos y los químicos. En la industria cárnica nos interesan los siguientes:

Tabla 3. Métodos de Conservación

Métodos Físicos

Frío	Refrigeración Congelación
Calor	Pasteurización Esterilización
Desecación	Deshidratación parcial Liofilización
Irradiación	Rayos UV Radiación ionizante (rayos γ, de electrones y roentgen)

Métodos Químicos

Salado	Sal común
Curado	Nitritos + Fermentación Curado con nitritos
Ahumado	Aplicación indirecta (humo condensado o extractos) Ácido acético, ácido láctico

Acidificación

Conservación química

Tabla adaptada de Prandl y col., 1994

La conservación de los productos cárnicos se realiza siempre, exceptuando la esterilización por calor o por irradiación, combinando uno o varios métodos físicos con uno o varios métodos químicos (Prandl y col, 1994).

La microbiota que se desarrolla durante el almacenamiento, que puede causar deterioro, puede ser predicha en base al conocimiento acerca de qué tipo de alimento, la naturaleza del sustrato y el tipo de preservación tales como la temperatura, la atmósfera, aW y el pH utilizado en la manufactura del producto (Kornacki, 2010). Debido a esto, es fundamental poder conocer y controlar cada uno de los factores que influyen el crecimiento bacteriano, con el objetivo de lograr las mejores condiciones posibles para retrasar el deterioro de los alimentos.

Los factores que afectan el crecimiento bacteriano ya descritos anteriormente son:

- Extrínsecos:
 - Temperatura
 - Humedad
 - Disponibilidad de oxígeno
- Intrínsecos:
 - pH
 - aW
 - Potencial Redox

8.3.1. Temperatura

La temperatura se considera el factor más importante que influencia el deterioro, así como también la inocuidad de la carne (Koutsoumanis & Taoukis, 2005).

Existen algunos microorganismos que pueden crecer por debajo de 0°C y por encima de 65°C, pero en su mayoría los microorganismos se ven favorecidos por temperaturas más intermedias.

Es fundamental clasificar los microorganismos que participan del deterioro dentro de tres grandes grupos, psicrófilas que su temperatura óptima se encuentra entre -2°C a 7°C, mesófilas entre 10°C a 40°C y termófilas entre 43 a 66°C.

Las temperaturas por debajo o por encima del rango óptimo del crecimiento bacteriano tienen un efecto inhibitorio en su crecimiento, ya que produce un enlentecimiento sobre el crecimiento microbiano causante del deterioro, frenando también los procesos enzimáticos y químicos. Si se refiere a la carne fresca, la refrigeración, incluyendo temperaturas de almacenamiento por encima o por debajo del punto de congelación, ha sido tradicionalmente uno de los métodos más comunes de preservación (Heldman y Hartel, 1998; Dassatti, 2008; Zhou y col., 2010).

Los principales factores que influyen la vida útil de la carne almacenada bajo refrigeración son; la humedad durante el almacenamiento y la presencia o ausencia de envolturas protectoras. La carga microbiana inicial ejerce un marcado efecto en la vida útil de la carne fresca y productos procesados, sin embargo, el reducir el mínimo la contaminación interior durante todas las fases subsiguientes de la manipulación, procesado, envasado y almacenamiento sigue siendo fundamental mantener las temperaturas de almacenamiento a 3°C o menos (Forrest y col., 1979).

La acción del frío tiene como objetivo extender la vida útil del alimento y se debe a que al disminuir la temperatura limita el desarrollo de los microorganismos; hasta que se alcanza la temperatura mínima de crecimiento por debajo de la cual se paraliza totalmente el desarrollo de los mismos (Heldman y Hartel, 1998).

Según estudios realizados por Martin y col. (2013) el almacenamiento de carne picada en un envase tradicional a una temperatura de 2,3° C durante 28 días resultó en un deterioro más rápido que aquella carne picada envasada a -1.7°C. Se concluyó que menor temperatura resultó en una reducción importante en el crecimiento bacteriano.

Las temperaturas de enfriamiento ocasionan la selección de una flora que todavía es capaz de multiplicarse en tales condiciones, constituida por los psicrotrofos a medida que los mesófilos disminuyen progresivamente.

Los microorganismos principalmente presentes son la asociación *Pseudomonas-Acinetobacter-Moraxella*. Pueden encontrarse además de esta asociación a las especies *Enterobacter* y *Klebsiella*. Las salmonellas que pudieran estar presentes no se multiplican con temperaturas inferiores a 6°C. También por esta

razón es particularmente importante mantener sin interrupción la cadena de frío en la carne fresca.

Entre los gérmenes responsables de intoxicaciones alimentarias hay que citar en primer lugar el *Clostridium botulinum* y el *Clostridium perfringens*, los cuales, sin embargo, no constituyen en principio, en la carne fresca refrigerada ningún riesgo para la salud, aun cuando se encuentren ocasionalmente en la profundidad de los tejidos. También se ha considerado germen infeccioso psicotrofo a la *Yersinia enterocolitica* (Prandl y col., 1994).

8.3.2. Humedad

La humedad luego del control de la temperatura, parece ser uno de los requerimientos más importantes para el crecimiento microbiológico, a pesar de existir algunos tipos de bacterias que pueden mantenerse dominantes por largos períodos con bajos niveles de humedad. La privación de humedad puede no solo prevenir el crecimiento de microorganismos en la carne, sino que puede llegar a eliminarlos (Lawrie y Ledward, 2006).

El aire que circula en las cámaras de refrigeración no debe ser ni muy húmedo ni muy seco. El aire con gran humedad puede condensarse sobre la superficie de los alimentos. Si la condensación es excesiva existe la posibilidad de que haya crecimiento de hongos a temperaturas de refrigeración. Si, por el contrario, el aire es demasiado seco, va a generar la desecación de los alimentos. Los distintos alimentos, presentan distinta tolerancia a crecimiento de hongos y a la desecación, y para cada uno debe lograrse un balance óptimo.

La humedad relativa óptima varía para cada alimento y en relación a la temperatura de almacenamiento. En el caso de la carne, a una temperatura de refrigeración de entre 0 a 2°C se recomienda una humedad relativa de 88 a 92%, y en el caso de congelado a una temperatura de entre -18 a -20°C es sugerida una humedad de entre 90 a 95%.

Cuando el almacenamiento a temperaturas de refrigeración es muy prolongado, se utilizan distintas técnicas para mantener la calidad. Los alimentos que tienden a perder humedad pueden ser protegidos por distintos tipos de envases. Los grandes cortes de carne, por lo general, son envasados en bolsas plásticas selladas (Potter y Hitchkiss, 1998).

8.3.3. Disponibilidad de Oxígeno

La importancia del oxígeno, radica en la determinación del crecimiento de microorganismos en la superficie de la carne y en sus productos. Para un alimento perecedero como lo es la carne, el desarrollo del envasado al vacío es una de las tecnologías más importantes del siglo pasado. Hace que el producto dure más tiempo en buenas condiciones, para poder ser comercializado (Price y Schweigert, 1994).

El objetivo de esta tecnología tiene como finalidad prolongar la vida útil de la carne, es decir, lograr que el tiempo entre que se produce la carne y esta llega al consumidor en buenas condiciones sea mayor, sin tener que recurrir a otros métodos de conservación como es el congelado (Dey, 2007).

Los efectos de preservación del envasado al vacío son alcanzados mediante el desarrollo de un ambiente anaeróbico dentro del envase. El oxígeno residual es removido por reacciones enzimáticas del tejido muscular, o por otras reacciones químicas. Como la capacidad de remover oxígeno del músculo es limitada, el oxígeno remanente en el envase al momento del cierre debe ser mínima para tener una preservación efectiva (Gill, 2005).

En los análisis microbiológicos realizados por Rogers y col. (2014) se pudo observar que en los envases que generan ambientes anaerobios (vacío y atmosfera modificada), existe menor rancidez oxidativa y menores conteos microbiológicos que sus contrapartes de ambiente aerobio. Estos resultados sugieren que a pesar de que los envases contribuyen de gran manera a evitar el deterioro de los alimentos, no pueden utilizarse como único método de conservación.

Según el estudio realizado por Lee y Yoon (2001) 24 cortes de carne envasados al vacío y almacenados a 0°C tuvieron una vida útil mayor a 39 días, habiendo sobrepasado el límite microbiológico de mesófilos totales al día 52. Sin embargo, las *Enterobacteriaceae* y *Pseudomonas* tuvieron un crecimiento retardado.

Muchos de los envases utilizados para envasar al vacío tienen una cierta permeabilidad al oxígeno, en mayor o en menor medida dependiendo del envase utilizado, esto implica que condiciones absolutas anaeróbicas no son totalmente posibles. El envasado al vacío puede tener grandes impactos en la flora de los productos cárnicos. Durante el almacenamiento, las bacterias aerobias Gram negativas entre ellos los géneros *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Moraxella*, son reemplazados por microorganismos de más lento crecimiento tales como bacterias ácido lácticas.

La proteólisis y lipólisis son un fenómeno raro en alimentos envasados al vacío debido a la limitada habilidad de las bacterias ácido lácticas de producir las enzimas necesarias. Rara vez han sido reportadas *Enterobacteriaceae psicotróficas* han sido reportadas provocando deterioro en carne bovina, ovina o porcina en envasada al vacío (Hernández- Macedo y col., 2011).

Para la carne fresca, el envasado al vacío ha probado ser efectivo en el aumento de la vida útil, preservando las características sensoriales inherentes al producto lo suficiente como para ser comercializado. Durante la refrigeración, el envasado al vacío logra aumentar la vida útil mediante la reducción de la oxidación y el crecimiento de microorganismos aeróbicos. El envasado al vacío es considerado uno de los sistemas de envasado más utilizados a la largo del mundo. Es importante mantener constante la temperatura de refrigeración, evitando fluctuaciones que aumenten la misma por encima de 5°C. Si la temperatura aumentara existiría un gran crecimiento de microorganismos que provocaría una gran disminución de la vida útil de los productos (Hernández- Macedo y col., 2011).

La utilización de películas plásticas de baja permeabilidad permite extender la vida útil de la carne refrigerada notablemente. En el estudio realizado por

Cárdenas y Gianuzzi (2005) se concluyó que a menor permeabilidad y menor temperatura la carne presenta una mayor vida útil.

La principal transformación que se evidencia en la carne cuando se refrigeran sin envasar, es la pérdida de peso. El envasado al vacío puede evitar algunos de los cambios tales como, pérdida de peso, cambio en la coloración causada por deshidratación y la oxidación, a pesar de mantener una elevada aw.

La reducción de presión de oxígeno en estos envases estimula y discrimina favorablemente a aquellos microorganismos psicrófilos y psicrótrofos que requieren que no haya oxígeno para poderse desarrollar (géneros *Bacillus* y *Clostridium*). La carne y los productos cárnicos envasados al vacío y conservados durante demasiado tiempo o insuficientemente refrigerados, experimentan, por tanto, principalmente alteraciones del aroma y color (Prandl y col., 1994).

8.3.4. pH

Una vez sacrificado el animal, el pH desciende en el orden de 5,6 a 5,8. Por debajo de 5,8, se llega a la denominada “zona de protección ácida”. Es un parámetro con gran importancia en el crecimiento de las bacterias, por lo que el pH final de la carne será uno de los factores principales que determinen la conservación de la misma (Lawrie y Ledward, 2006).

La mayoría de las bacterias crecen a un pH óptimo de 7, siendo limitado su crecimiento frente a pH por debajo de 4 o superior a 9. Se debe tener en cuenta que el pH de máximo crecimiento bacteriano está determinado por otras variables no solo el nivel de acidez o alcalinidad presente.

Las enzimas bacterianas que causan deterioro, pueden tener distinto pH óptimo que las bacterias que las sintetizan. Las enzimas de bacterias proteolíticas actúan mejor cerca de la neutralidad, aquellas que atacan a los carbohidratos, tienden a actuar mejor cerca de un pH de 6 y los organismos como las bacterias ácido lácticas, las cuales su mayor actividad es el deterioro de carbohidratos presentan un pH óptimo de entre 5,5 a 6 (Lawrie y Ledward, 2006).

Según Rokaitye y col. (2016) existe una fuerte relación positiva entre el pH y el recuento aeróbico total y el recuento de *E.coli* durante un período de 9 días. Con el fin de disminuir el pH de forma artificial existen distintos métodos que pueden utilizarse en la industria.

Uno de ellos, es el agregado de microorganismos que producen ácidos orgánicos y alcoholes mediante fermentación anaeróbica a partir de sustratos de los alimentos, que se comportan como inhibidores de otros microorganismos que pueden generar deterioro (Zhou y col., 2010).

El uso de BAL como cultivo bioprotector en carnes trae ciertas ventajas, pues el efecto en las características sensoriales es considerado “oculto” o no percibido durante la maduración, debido al bajo contenido de hidratos de carbono y la fuerte capacidad amortiguadora de la carne (Vásquez y col., 2009).

La aplicación de la biopreservación en diferentes alimentos cárnicos, ha permitido encontrar una gran diversidad de antagonismos microbianos y aumentos de la vida útil de los productos; es así como Fiorentini y col. (2001) evaluaron la influencia de las bacteriocinas producidas por *Lactobacillus plantarum* en la vida útil de carne bovina refrigerada, encontrando un aumento de tres días en comparación con el control. Vignolo y col. (1996), encontraron que *L. curvatus* puede ser empleado como cultivo biopreservativo en la carne, después de ensayar diferentes cantidades de inóculo inicial de *L. monocytogenes* y del cultivo biopreservante. La carne inoculada con *L. monocytogenes* mostró un rápido crecimiento del patógeno, el número de células viables aumento de 3×10^3 a 8×10^7 UFC ml⁻¹ en 24 horas a 20 °C y en la carne inoculada con la cepa bacteriocinogénica, el número viable de *Listeria* se mantuvo relativamente constante en 10^3 UFC ml⁻¹ a lo largo de la incubación.

La actividad bacteriostática de Bacterias Acido Lácticas (*L. sakei* y *L. curvatus*) como bioprotectores en los cortes de carne envasados al vacío y refrigerados a 4°C demostraron que la inoculación de cualquiera de las dos bacterias disminuye de forma marcada la diversidad microbiológica y disminuyeron el crecimiento de las mismas, durante la totalidad del tiempo almacenado, y coincide con la disminución de *Enterbacteraceae*, *Pseudomonas spp.*, y *B. thermosphacta*, A su vez se pudo evaluar una mejoría en la calidad de la carne, especialmente en aquellas muestras que fueron inoculadas con *L. sakei* (Zhang y col., 2018)

Pueden también, ser añadidas sustancias denominados como “aditivos alimentarios”. Desde un punto de vista normativo, cada uno de los aditivos alimentarios deberá desempeñar alguna función o impartir un atributo útil y aceptable que justifique su uso. Normalmente se consideran funciones propias de los aditivos alimentarios la mejora la conservación, el aumento del valor nutritivo, conferir o mejorar alguna propiedad funcional, facilitar el procesado o incrementar la aceptación por el consumidor.

Sales tales como el lactato de sodio han sido utilizadas en la industria cárnica debido a su habilidad de mejorar el sabor, aumentar la vida útil y disminuir los niveles microbiológicos (Zhou y col., 2010).

Según estudios realizados por Maíz (2002) el lactato de sodio (3 y 4 %) y el propionato de sodio (0, 1 y 0,2 %) conservaron mejor la carne picada envasada al bovino y refrigerada a temperaturas de entre 4 a 8°C durante 28 días y retardaron el crecimiento de microorganismos aerobios.

El ácido láctico por si solo también ha demostrado poseer propiedades antimicrobianas contra una gran cantidad de organismos patogénicos, debido a su capacidad de reducir el pH (Davidson y col., 2005).

En la actualidad se tiende a reducir el empleo de los métodos químicos sustituyéndolos por temperaturas de almacenamiento cada vez más bajas (Prandl y col., 1994).

8.3.5. Aw

Históricamente han sido necesarias técnicas de preservación de los alimentos para extender la vida útil de los mismos. Hoy en día, una de las técnicas más sencillas de conservación es la de remoción del agua, ya que los microorganismos requieren de la misma para su supervivencia y crecimiento y es necesaria también para ciertas reacciones químicas (Heldman y Hartel, 1998).

a) Secado

El secado es un método muy antiguo de preservación de la carne. Es frecuentemente utilizado en combinación con el salado, curado y ahumado. El contenido de agua en el producto final de estos procesos está alrededor del 3 al 10%.

La vida útil de estos productos está determinada en su mayoría por el desarrollo de sabores desagradables debido a la oxidación de la grasa y a la decoloración, debido a las reacciones de Maillard (Belitz y col., 2009).

b) Salado

La sal, en altas concentraciones inhiben el crecimiento de microorganismos. La sal en niveles mayores a 5% NaCl generan hinchazón de las fibras, y si se sobrepasa de un 10 a 20% causan contracción de la carne y sus productos, generando un descenso del agua. La carne retiene su color natural, usualmente rojo oscuro, ya que la concentración de mioglobina aumenta debido a la pérdida de agua.

El salado puede ser realizado mediante la aplicación de sal en su superficie, mediante el sumergido de la carne en salmuera o por la inyección de la misma (Belitz y col., 2009).

c) Ahumado

El ahumado de la carne es generalmente asociado con el salado. Dependiendo en que procedimiento de secado se realice, sea el ahumado en caliente o el ahumado en frío, el agua disminuye entre un 10 a 40%. A su vez este proceso se ve acompañado por los efectos bactericidas y propiedades antioxidantes que presenta el humo (Belitz y col., 2009).

8.3.6. Potencial Redox

Inmediatamente luego del sacrificio, el potencial de óxido reducción sufre grandes cambios. Éste disminuye, probablemente debido a que se consume el oxígeno remanente por los sistemas enzimáticos de los tejidos.

El potencial oxido reducción limita el crecimiento microbiano produciendo un aumento de la fase de latencia. En la carne, los microorganismos aerobios se ven favorecidos por la actividad reductora, mientras que la actividad oxidativa favorece el desarrollo de microorganismos anaerobios (Lawrie y Ledward, 2006).

El curado se refiere a la aplicación de cloruro sódico, casi siempre junto con sales de nitrato o nitrito. Actualmente, el curado se utiliza poco para conservar las carnes. También se utiliza para el desarrollo de sabores y colores característicos y para protegerse contra el desarrollo de *Clostridium botulinum*.

La presencia de nitrato en carnes curadas probablemente ejerce un efecto antibacteriano indirecto debido al aumento del potencial en el sistema (Lawrie, y Ledward, 2006).

9. MATERIALES Y MÉTODOS

La materia prima fue tomada en la sala de desosado de la planta frigorífica FRIGORÍFICO TACUAREMBÓ S.A., la misma fue proveniente de una misma fecha de faena y una única fecha de desosado. Durante el proceso de desosado, se eligieron recortes con el fin de lograr un Trimming 85vl. Se tomaron 60 Kg de carne que luego serían procesadas para llegar al producto deseado; carne picada.

Se procedió al picado conjunto de todo el producto a utilizar con el fin de que resulte en un producto homogéneo.

El trimming fue picado en una primera picadora (Butcher Boy FMBG1100 Serie: 110 (1995)) con un disco de picado de $\frac{3}{4}$ pulgadas, para posteriormente pasar por una segunda picadora (Butcher Boy FMBG 1100 Serie: S110 (1995)) con un disco de picado de 8mm.

9.1. Diseño Experimental

La masa total de carne picada presentó un recuento inicial de Aerobios Mesófilos Totales de 3,8 log UFC/g. La misma se dividió en cuatro alícuotas iguales de 12 Kg cada una, las cuales fueron envasada al vacío luego de aplicar alguno de los siguientes tratamientos experimentales: 1) Lactato de Sodio al 3,3% (m/m) (Lactato), 2) Cultivo B-LC-48 (*Lactobacillus curvatus*), con una concentración del cultivo de 2,5%(Cultivo),3) Ácido Láctico al 0,5% + Cloruro de Sodio al 0,5% (Ácido Láctico) y 4) un tratamiento control sin agregado alguno (Vacío). Cada tratamiento fue fraccionado de a 500 grs, obteniendo un total de 24 fracciones de carne por tratamiento.

La muestras fueron envasadas al vacío en máquina envasadora Multivac Modelo C500 semiautomática de doble campana con bomba de vacío Busch, empleando bolsas Maraflex ARG2 con las siguientes características: espesor de 51+/-5 μ , ancho nominal +25/-0 mm, largo nominal +20/-0 mm, permeabilidad al O₂ (Nominal) < 20 cm³/m².atm.dia +/- 20%, permeabilidad al CO₂ (Nominal) < 60 cm³/m².atm.dia +/- 10% y permeabilidad al H₂O (Nominal) < 5 g/m² día +/- 20%.

Fueron identificadas y almacenadas en cajas de cartón en cámara frigorífica con una temperatura de entre -2 a 2°C, en las mismas condiciones que las carnes comercializadas.

De los cada uno de los cuatro tratamientos, se tomaron tres unidades experimentales (bolsas de 500 g) para realizar las mediciones que se detallan más adelante en ocho diferentes tiempos (12, 15, 18, 20, 22, 25, 27 y 30 días). Se requirió la apertura de las unidades experimentales para realizar la determinación de las variables, por lo cual fue necesario un conjunto de triplicados para cada tratamiento y para cada tiempo, totalizando un conjunto de 96 unidades experimentales. Debido al carácter destructivo que implica la toma de muestras, se utilizó un conjunto de unidades experimentales independientes para cada tiempo. Se consideró tiempo 0 al día en el que fue realizado el procesamiento del producto (picado, agregado o no de ingredientes y envasado).

9.2. Análisis

Los análisis fueron llevados a cabo en el Laboratorio Microbiológico de la Empresa (Habilitado por DILAVE, RNL N°002).

9.2.1. Recuento de Aerobios Mesófilos Totales

El procesamiento de las muestras fue realizado en bolsas estériles adicionando diluyente estéril tampón Butterfield obteniendo la dilución 1:10. Para una recuperación y crecimiento óptimo de los microorganismos se ajustó el pH del diluyente para obtener una solución con un pH entre 6.6 y 7.2 antes de sembrar, utilizando NaOH 1N para productos ácidos y HCl 1N para productos básicos. Se homogeneizó la muestra en Stomacher a 265 rpm.

Se sembró 1ml de muestra en el centro de la Placa Petrifilm™ (3M). Se incubaron las placas con la cara para arriba, durante 48 ± 3 horas a 35 ± 1 °C, según método AOAC 990.12.

9.2.2. Recuento de Enterobacterias

Se pesaron asépticamente las muestras en una bolsa estéril para Stomacher y se adicionó la cantidad correspondiente de diluyente estéril tampón Butterfield para obtener una dilución 1:10. Para una recuperación y crecimiento óptimo de los microorganismos se ajustó el pH del diluyente para obtener una solución con un pH entre 6.5 y 7.5 antes de sembrar, utilizando NaOH 1N para productos ácidos y HCl 1N para productos básicos. Se homogeneizó la muestra en Stomacher a 265 rpm.

Se sembró 1ml de muestra en el centro de la Placa Petrifilm™ (3M). Se incubaron las placas con la cara para arriba, durante 24 ± 2 horas a 35 ± 1 °C, según método AOAC 2003.01.

9.2.3. Medición de pH

Las mediciones de pH se realizaron utilizando un pH-metro (Hanna Instruments 9025) con electrodo de penetración. El pH-metro fue calibrado, previo a su uso, utilizando buffer pH=7,00 y pH=4,00. Para realizar la medida se introdujo el electrodo en el centro de la carne picada. Cada medición fue realizada por duplicado.

9.3. Análisis de los Datos

Los datos obtenidos de los recuentos microbianos fueron convertidos a su logaritmo decimal. Una vez convertidos se analizaron mediante un Análisis de Varianza (ANOVA) simple seguido por el Test de Tukey. En todos los casos se consideró un valor de $\alpha=0,05$.

En los casos que no se cumplieron los supuestos necesarios para aplicar el ANOVA, se practicó el Test de Kruskal-Wallis seguido por el Test de Mann-Whitney (si $\alpha<0,05$).

10. RESULTADOS

Durante todo el período de almacenamiento, los microorganismos se vieron incrementados. No obstante, en los tratamientos con la incorporación de ácido láctico y lactato el crecimiento se presentó de forma más moderada.

10.1. Producto envasado al vacío (Tratamiento Control)

Los aerobios mesófilos totales llegaron a superar $1,0 \times 10^6$ UFC/g ($6,0 \log$ UFC/g) a los 27 días, encontrándose muy cerca del límite microbiológico que indica el Decreto N° 215/006.

Respecto a las enterobacterias si bien hubo un incremento, se mantuvieron en el rango de $2,0 \log$ UFC/g.

Respecto al pH, en el período evaluado mostró varias oscilaciones con una tendencia ligeramente ascendente.

En la Figura 1, se puede observar la evolución de las variables estudiadas en el periodo de ensayo.

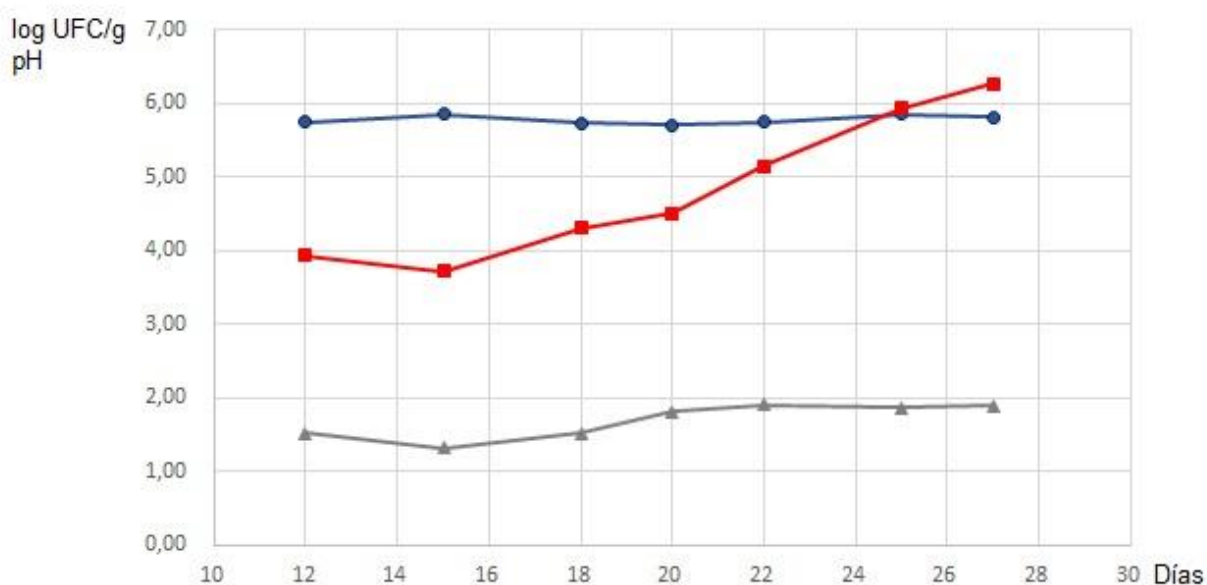


Figura 1: Evolución de las variables estudiadas a lo largo del ensayo. Recuento bacteriano de Aerobios mesófilos totales (cuadrado), Enterobacterias (triángulo) y pH (círculo) en los 27 días, expresado en logaritmo decimal en las muestras al vacío.

10.2. Producto envasado al vacío con agregado de Ácido Láctico al 0,5%

Los aerobios mesófilos totales llegaron a superar $1,0 \times 10^4$ UFC/g ($4,0 \log$ UFC/g) a los 30 días, quedando por debajo del límite microbiológico que indica el Decreto N° 215/006.

Respecto a las enterobacterias si bien hubo un incremento, se mantuvieron en el rango de $2,0 \log$ UFC/g.

Respecto al pH, en el período evaluado mostró varias oscilaciones con una tendencia ligeramente ascendente.

La evolución de las variables en el período evaluado se puede observar en la Figura 2.

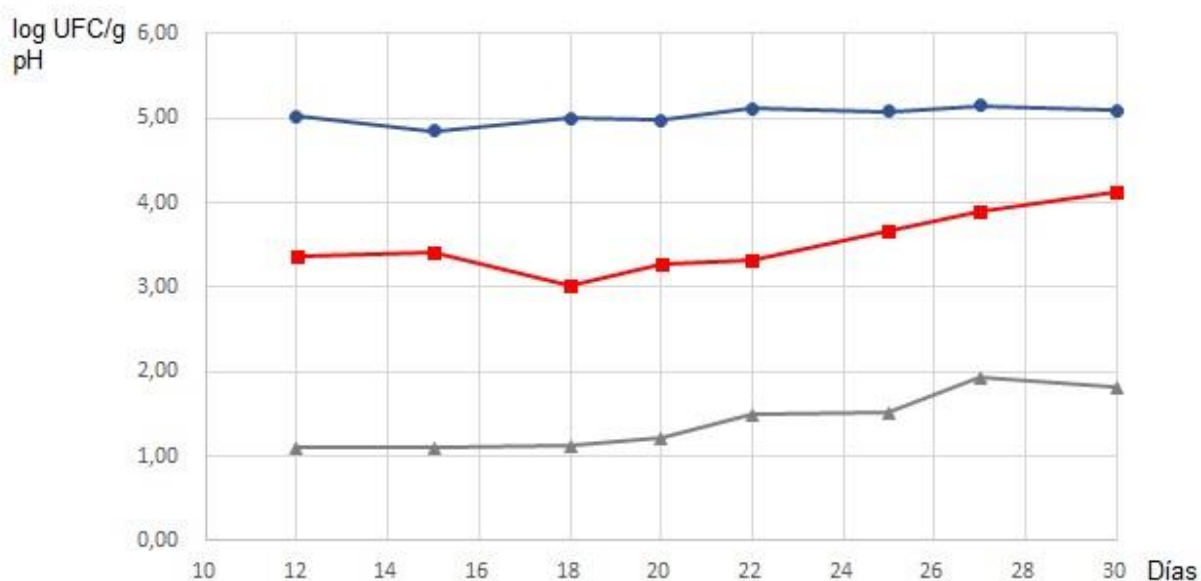


Figura 2: Evolución de las variables estudiadas a lo largo del ensayo. Recuento bacteriano de Aerobios mesófilos totales (cuadrado), Enterobacterias (triángulo) y pH (círculo) en los 30 días, expresado en logaritmo decimal en las muestras con agregado de ácido láctico.

10.3. Producto envasado al vacío con agregado de Lactato de Sodio al 3,3%

Los aerobios mesófilos totales llegaron a superar $1,0 \times 10^4$ UFC/g ($4,0 \log$ UFC/g) a los 30 días, quedando por debajo del límite microbiológico que indica el Decreto N° 215/006.

Respecto a las enterobacterias si bien hubo un incremento, se mantuvieron en el rango de $2,0 \log$ UFC/g.

Respecto al pH, en el período evaluado mostró varias oscilaciones con una tendencia ligeramente ascendente.

En la Figura 3, se puede observar la evolución de las variables estudiadas en el periodo de ensayo.

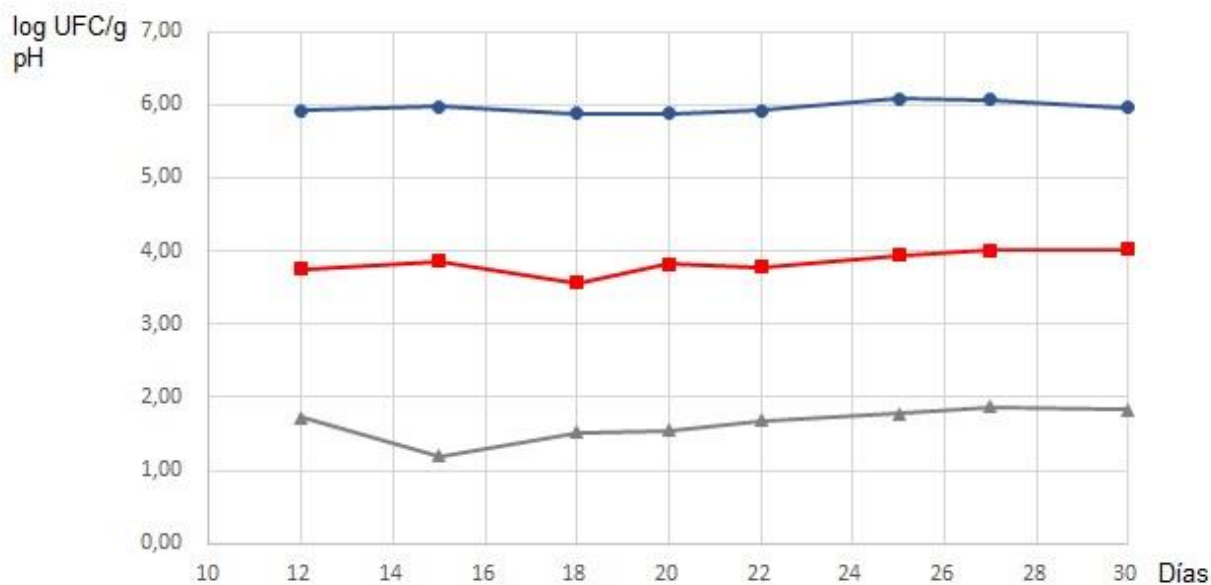


Figura 3: Evolución de las variables estudiadas a lo largo del ensayo. Recuento bacteriano de Aerobios mesófilos totales (cuadrado), Enterobacterias (triángulo) y pH (círculo) en los 30 días, expresado en logaritmo decimal en las muestras con agregado de lactato de sodio.

10.4. Producto envasado al vacío con agregado de Cultivo B-LC-48

Los aerobios mesófilos totales llegaron a superar el $1,0 \times 10^6$ UFC/g (6,0 log UFC/g) a los 27 días, encontrándose muy cerca del límite microbiológico que indica el Decreto N° 215/006.

Respecto a las enterobacterias si bien hubo un incremento se mantuvieron en el rango de 2,0 log UFC/g.

Respecto al pH, en el período evaluado mostró varias oscilaciones con una tendencia ligeramente ascendente.

La evolución de las variables se puede observar en la Figura 4.

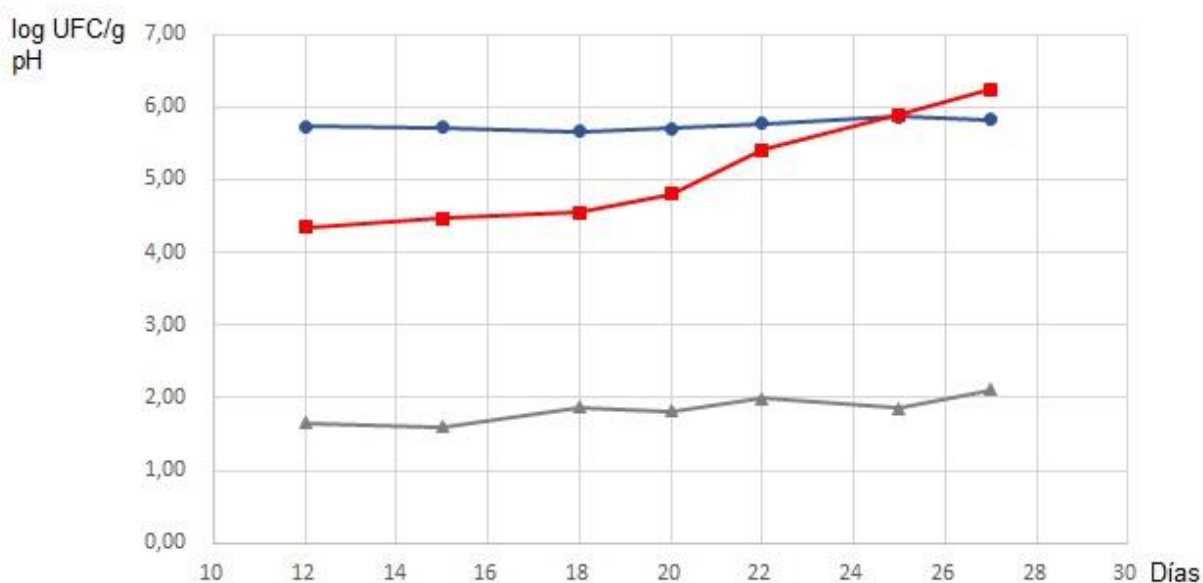


Figura 4: Evolución de las variables estudiadas a lo largo del ensayo. Recuento bacteriano de Aerobios mesófilos totales (cuadrado), Enterobacterias (triángulo) y pH (círculo) en los 27 días, expresado en logaritmo decimal en las muestras con agregado de Cultivo B-LC-48.

10.5. Análisis de las variables en cada tiempo de medida

10.5.1. Aerobios Mesófilos Totales:

Se observó que los tratamientos con agregado de ácido láctico y lactato presentaron un crecimiento menor de aerobios mesófilos totales a lo largo de todo el estudio comparado con el resto de los tratamientos (Tabla 4).

Tabla 4. Estudio del efecto de los tratamientos sobre los aerobios mesófilos totales en cada tiempo de medida

Tiempo (días)	Vacío	Ácido	Lactato	Cultivo	E.E.M. [†]	Test [‡]	p [§]
12	3,93	3,37	3,76	4,34	0,145	K.W.	0,0977
15	3,72	3,41	3,87	4,47	0,141	K.W.	0,0547
18	4,30 ^b	3,03 ^a	3,57 ^a	4,54 ^b	0,188	ANOVA	5,8E-05
20	4,50 ^b	3,28 ^a	3,82 ^a	4,80 ^b	0,184	ANOVA	2,8E-05
22	5,14 ^b	3,32 ^a	3,77 ^a	5,41 ^b	0,281	ANOVA	4,4E-06
25	5,92 ^b	3,67 ^a	3,95 ^a	5,89 ^b	0,338	ANOVA	1,5E-06
27	6,27 ^b	3,91 ^a	4,01 ^a	6,24 ^b	0,373	ANOVA	1,4E05
30		4,14	4,02		0,182	tS	0,7924

Las distintas letras simbolizan diferencias significativas entre los valores medios de una misma fila.

† E.E.M. -Error Estándar de las Medias

‡Test: KW-Kruskal-Wallis

ANOVA-Análisis de Varianza

tS-t de Student

§ Para todos los estadísticos $\alpha=0,05$

10.5.2. Enterobacterias:

Se observó que los tratamientos con agregado de ácido láctico y lactato presentaron un crecimiento menor de aerobios mesófilos totales a lo largo de todo el estudio comparado con el resto de los tratamientos (Tabla 5).

Tabla 5. Estudio del efecto de los tratamientos sobre las enterobacterias en cada tiempo de medida

Tiempo (días)	Vacío	Ácido	Lactato	Cultivo	E.E. [†]	Test [‡]	p [§]
12	1,53	1,10	1,73	1,66	0,126	ANOVA	0,0977
15	1,31	1,10	1,20	1,60	0,077	ANOVA	0,0547
18	1,52 ^b	1,12 ^a	1,53 ^b	1,87 ^c	1,508	ANOVA	5,8E-05
20	1,82 ^b	1,22 ^a	1,55 ^{ab}	1,81 ^b	0,081	ANOVA	2,8E-05
22	1,91 ^c	1,49 ^a	1,68 ^b	1,99 ^c	0,061	ANOVA	4,4E-06
25	1,87 ^b	1,52 ^a	1,78 ^{ab}	1,85 ^{ab}	0,053	ANOVA	1,5E-06
27	1,90	1,93	1,87	2,11	0,051	ANOVA	1,4E-05
30		1,81	1,83		0,091	tS	0,7924

Las distintas letras simbolizan diferencias significativas entre los valores medios de una misma fila.

† E.E.M. -Error Estándar de las Medias

‡Test: ANOVA-Análisis de Varianza

tS-t de Student

§ Para todos los estadísticos $\alpha=0,05$

10.5.3. pH:

Se observó que, el tratamiento con agregado de ácido láctico presentó un pH menor a lo largo de todo el estudio comparado con el resto de los tratamientos (Tabla 6).

Tabla 6. Estudio del efecto de los tratamientos sobre el pH en cada tiempo de medida

Tiempo (días)	Vacío	Ácido	Lactato	Cultivo	E.E. [†]	Test [‡]	p [§]
12	5,74 ^b	5,02 ^a	5,92 ^c	5,73 ^b	0,104	ANOVA	9,40E-10
15	5,84 ^{bc}	4,85 ^a	5,97 ^c	5,71 ^b	0,133	ANOVA	2,32E-07
18	5,72 ^b	5,00 ^a	5,88 ^c	5,67 ^b	0,103	ANOVA	1,90E-08
20	5,70 ^b	4,97 ^a	5,87 ^c	5,70 ^b	0,105	ANOVA	3,71E-09
22	5,74 ^b	5,12 ^a	5,92 ^c	5,77 ^b	0,093	ANOVA	6,92E-09
25	5,85 ^b	5,07 ^a	6,08 ^c	5,87 ^b	0,116	ANOVA	2,10E-10
27	5,81 ^b	5,15 ^a	6,07 ^c	5,82 ^b	0,103	ANOVA	9,87E-12
30		5,09 ^a	5,96 ^b		0,196	t S	2,03E-06

Las distintas letras simbolizan diferencias significativas entre los valores medios de una misma fila.

† E.E.M. -Error Estándar de las Medias

‡Test: ANOVA-Análisis de Varianza

tS-t de Student

§ Para todos los estadísticos $\alpha=0,05$

10.6. Estudio durante el tiempo de almacenamiento:

Solo se estudió el efecto de los diferentes tratamientos sobre los microorganismos aerobios mesófilos totales, ya que fue la única variable que tuvo una marcada evolución llegando a superar los límites establecidos por la normativa en el periodo observado.

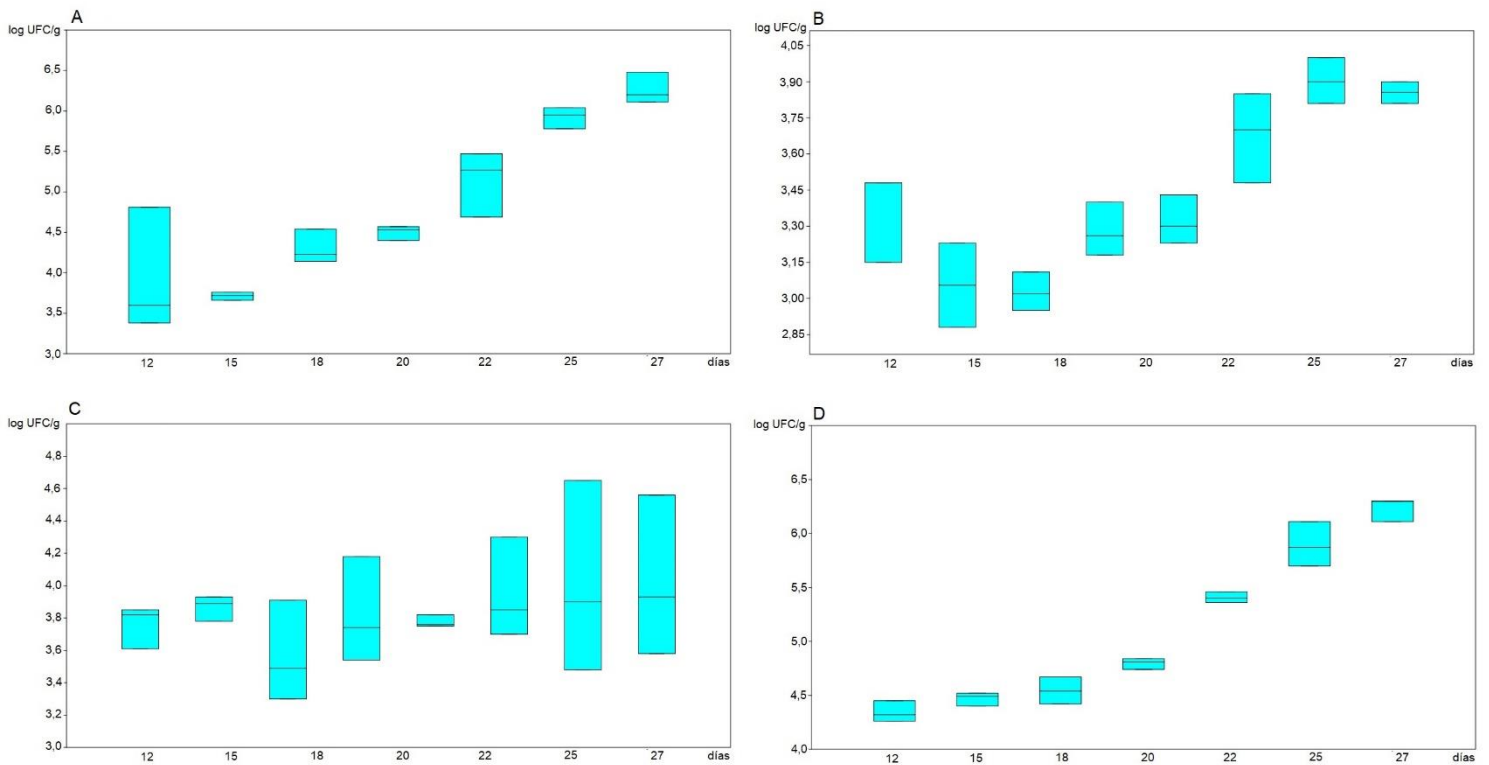


Figura 5: Evolución de los valores de aerobios mesófilos totales para los distintos tratamientos. Envasado al Vacío (A), Envasado al Vacío con agregado de Ácido Láctico (B), Envasado al Vacío con agregado de Lactato de Sodio (C) y Envasado al Vacío con agregado de Cultivo B-LC-48 (D).

11. DISCUSIÓN

Los resultados de Enterobacterias obtenidos fueron alrededor de 2,0 log UFC/g y se mantuvieron a lo largo de todo el período evaluado en todos los tratamientos. Fueron inferiores al límite máximo ($M=2,5$ log UFC/g) que establece el Reglamento (CE) N° 2073/2005. Considerando los datos obtenidos en cuanto a Enterobacterias, los resultados indicarían que las condiciones de faena, procesamiento de la carne fueron las correctas, respetándose las buenas prácticas de manufactura.

La curva de crecimiento observada en los cuatro tratamientos, presentó una evolución similar a la obtenida en el estudio realizado por Fik y Fik (2007). No obstante, ello, al haber sido realizada en condiciones diferentes el recuento máximo alcanzó 5,0 log UFC/g, siendo bastante más alto que los obtenidos en este estudio. Esto podría ser explicado por la falta del envasado al vacío, ya que este método también limitaría a las Enterobacterias (Hernández -Macedo y col. 2011).

Como mencionaron Hernández-Macedo y col. (2011), las temperaturas bajas retrasan el crecimiento de las Enterobacterias. Esto fue confirmado por Rogers y col. (2014) quienes observaron falta de desarrollo de este grupo de bacterias a temperaturas de entre 0 a 2°C, un crecimiento acelerado al momento de aumentar la temperatura a 10°C, para luego volverse no volver a multiplicarse al descender nuevamente la temperatura.

Con respecto a los microorganismos aerobios mesófilos totales tuvieron un aumento llegando a superar 6,0 log UFC/g en las muestras envasadas al vacío a los 27 días, quedando cerca del límite máximo establecido por el Decreto 215/006. Maíz (2002) obtuvo resultados similares con un recuento total de microorganismos aerobios mesófilos totales viables fue 6,1 log UFC/g a los 28 días.

Jay (2005) manifestó que, en carne envasada al vacío, al utilizar una envoltura impermeable al O₂ habría como consecuencia del aumento de la concentración de CO₂ y de la disminución del potencial redox, ello favorecería el crecimiento de las bacterias ácido lácticas, las cuales provocarían provocan un descenso de pH y creando un medio desfavorable para la mayoría de los patógenos procedentes de los alimentos y para las bacterias gramnegativas. Sin embargo, otros autores (Stoops y col. 2015; Rokaityte y col. 2016), estudiando carne picada refrigerada envasada al vacío y en atmósfera modificada, encontraron recuentos superiores a 7,0 log UFC/g a los 9 días.

El tratamiento con agregado de cultivo B-LC-48, mostró resultados similares al tratamiento control. Zhang y col. (2018) en cortes de carne envasados al vacío e inoculados con dos cultivos de *L. sakei* y *L. curvatus* encontraron al día 28 del estudio valores superiores a 8,0 log UFC/g, notoriamente superiores a los nuestros. En ambos estudios se esperó mejores resultados respecto al tratamiento control.

La aplicación del lactato de sodio mostro una reducción en el crecimiento bacteriano, coincidiendo con lo observado por Kaczmarek-Duszek y col. (2008). Los resultados confirman que el agregado de lactato de sodio tiene un efecto muy significativo en la reducción microbiológica. Se observo una casi completa inhibición del crecimiento bacteriano en 10 días. Si bien en este estudio no se observó tal fenómeno, si se evidenció una reducción de dos ciclos logarítmicos en relación al tratamiento control al día 27.

Maíz (2002) obtuvo con un tratamiento similar (agregado de lactato de sodio al 3%) observó un aumento de 0,83 log UFC/g, alcanzando recuentos de 4,9 log UFC/g al día 28, superiores a los observados en este estudio. Esta diferencia puede ser debido a la diferencia de la carga bacteriana inicial.

Maíz (2002) utilizando también otras sales orgánicas, concluyó, que en general todas las sales orgánicas utilizadas; lactato de sodio, propionato de sodio, acetato de sodio y citrato de sodio, tienen efectos conservadores y determinó como los mejores tratamientos al 4% y 3% de lactato de sodio en función a la menor carga microbiana, no existiendo diferencia estadística dentro de los 28 días de almacenado, cosa que concuerda con los datos obtenidos. También concluye que las mezclas de sales orgánicas, mantienen mejor la estabilidad de la carne que las sales por sí solas.

El ácido láctico por si solo ha demostrado poseer propiedades antimicrobianas contra una gran cantidad de organismos patogénicos, debido a su capacidad de reducir el pH (Davidson y col., 2005). En este estudio se observaron recuentos sin diferencias significativas al día 30 entre las muestras con agregado de lactato de sodio y ácido láctico, que difiere de lo obtenido por Kaczmarek-Duszek y col. (2008), donde la carga bacteriana tuvo una mayor disminución con el agregado de lactato de sodio.

En el estudio realizado por Rokaityte y col. (2016) el ácido láctico utilizado con otros preservantes tales como Linalool y Dihidroquercetina, presenta un fuerte sinergismo y reduce significativamente los recuentos microbianos.

Se observó, que el tratamiento con ácido láctico fue el que logro disminuir más el pH. Según Rokaityte y col. (2016) existe una fuerte correlación positiva entre el pH y el recuento aerobio total. Si bien se trató de establecer una relación positiva entre los mismos, al realizar la regresión se observó que no resultaba muy lineal la disminución de aerobios mesófilos totales. Pueden existir varias razones de que éste fenómeno no se visualizó, entre ellas pueden llegar a ser, la falta de datos o que las condiciones a nivel de industria generen diferencias que las estudiadas a nivel de laboratorio.

12. CONCLUSIONES

- Se observó una mayor disminución del crecimiento de microorganismos aerobios mesófilos totales y Enterobacterias con el agregado de lactato de sodio al 3,3% y el ácido láctico al 0,5%. Los mismos conservaron mejor la carne picada fresca de vacuno envasada al vacío refrigerada durante 30 días.

13. RECOMENDACIONES

- Se sugiere investigar la utilización de otras sales orgánicas en el almacenamiento de carne vacuna y sus combinaciones.

14. BIBLIOGRAFÍA

1. Belitz H D., Grosch W., Schieberle P. (2009) Food Chemistry. Nueva York, Springer, 1070p.
2. Bell R., Garout A. (1994) The Effective Product Life of Vacuum-Packaged Beef Imported into Saudi Arabia by Sea, as Assessed by Chemical, Microbiological and Organoleptic Criteria. *Meat Science* 36:381-396.
3. Bove I., Cerruti F. (2008). Los alimentos y bebidas en los hogares: ¿Un factor de protección o de riesgo para la salud y el bienestar de los uruguayos? Encuesta Nacional de Gastos e Ingresos de los Hogares 2005-2006. Montevideo: Instituto Nacional de Estadística, 105p. Disponible en: <http://www.ine.gub.uy/documents/10181/36026/Encuesta+Nacional+de+Gastos+e+Ingresos+de+los+Hogares+2005+-+2006/83d8c75c-a0f7-49d3-b5c1-1cb9548ddf1a> Fecha de Consulta: 21/6/2018
4. Cárdenas F., Gianuzzi L., Noia M A., Zaritzky N. (2001) El modelo matemático: una herramienta útil para la industria alimenticia. *Revista Ciencia Veterinaria* 3: 22-28.
5. Cárdenas F., Giannuzzi L. (2005) Influencia del envasado en la flora cárnica. *La Industria Cárnica Latinoamericana* 137: 40-45.
6. Casaburi A., Piombino P., Nychas G., Villani F., Ercolini D. (2015) Bacterial populations and the volatilome associated to meat spoilage. *Food Microbiology* 45: 83-102.
7. Cerveny J., Meyer J D., Hall P A. (2009) Microbiological spoilage of meat and poultry products. En: Sperber W., Doyle M. (ed.) *Compendium of the Microbiological Spoilage of Foods and Beverages, Food Microbiology and Food Safety*. Nueva York, Springer, p.69-86.
8. Dassatti G. (2008) Acondicionamiento térmico de la industria alimentaria. *Carnes y Alimentos* 9:42–51.
9. Davidson P M., Sofos J N., Branen A L. (2005) *Antimicrobials in Food*. Boca Raton, CRC Press, 721p.
10. Dey J. (2007) Carne bovina enfriada al vacío -44.000 toneladas-. Buenos Aires, Akian Gráfica 62p.
11. Doluđeraki A I., Ercolini D., Villani F., Nychas G J. (2012) Spoilage microbiota associated to the storage of raw meat in different conditions. *International Journal of Food Microbiology* 157: 130–141.
12. Doyle M P., Bechar L R. (2007). *Food Microbiology Fundamentals and Frontiers*. 4th Ed. Washington DC, ASM Press, 1138p.
13. Ercolini D., Russo F., Torrieri E., Masi P., Villani F. (2006) Changes in the spoilage-related microbiota of beef during refrigerated storage under different packaging conditions. *Applied and Environmental Microbiology* 72: 4663-4671.

14. Fik, M., Fik A L. (2007) Microbiological and sensory changes in minced beef treated with Potassium Lactate and Sodium Diacetate during refrigerated storage *International Journal of Food Properties* 10: 589-598.
15. Fiorentini A M., Sant'anna E S., Porto A C S., Mazo J Z., Franco B D G M. (2001) Influence of bacteriocins produced by *Lactobacillus plantarum* bn in the shelf-life of refrigerated bovine meat- *Brazilian Journal of Microbiology* 32:42-46.
16. Forrest J C., Aberle E D., Hedrick H B., Judge M D., Merkel R A. (1979) *Fundamentos de ciencia de la carne*. Zaragoza, Acribia, 364p.
17. Gill A O., Gill C O. (2005) Preservative packaging for fresh meats, poultry and fin fish. En: Han J H., (ed.) *Innovation in Food Packaging*. Londres, Elsevier Academic Press, p204-220.
18. Greer, G G, Jones, S D M. (1991) Effects of lactic acid and vacuum packaging on beef precessed in a research abattoir. *Canadian Institute of Food Science an Technology Journal* 24:161-168.
19. Hernández- Macedo M. L., Barancelli G. V., Contreras- Castillo C. J. (2011) Microbial deterioration of vacuum-packaged chilled beef cuts and techniques for microbiota detection and characterization: a review. *Brazilian Journal of Microbiology* 42: 1-11.
20. Heldman D R., Hartel R W. (1998) *Principles of Food Processing*. Nueva York, Springer, 288p.
21. INAC (2010). Conociendo las preferencias del consumo de carnes en Uruguay. INAC. Disponible en: http://www.inac.gub.uy/innovaportal/file/7365/1/conociendo_las_preferencias_de_consumo.pdf Fecha de consulta: 23/03/2018.
22. INAC (2015). Principales Indicadores y determinantes del consumo de carnes en el mercado interno. INAC. Disponible en: <http://www.inac.gub.uy/innovaportal/file/12254/1/mercado-interno-rural-2015.pdf> Fecha de Consulta: 23/03/2018.
23. International Commission on Microbiological Specifications for Foods ICMSF (1998). *Microorganisms in foods, V.6, Microbial ecology of food commodities*. Londres, Chapman & Hall.
24. Jay J M., Loessner M J., Golden D A. (2005) *Modern food microbiology*. Nueva York, Springer, 790p.
25. Kaczmarek-Duszek J., Bilska A., Krysztofiak K., Uchman W. (2008) The effect of selected technological additives on improvement of shelf life of ground meat. *Acta Scientiarum Polonorum, Technol. Aliment* 7: 51-61.
26. Kornacki J L. (2010) *Principles of Microbiological Troubleshooting in the Industrial Food Proccesing Environment*. Nueva York, Springer, 140p.
27. Koutsoumanis, K. P., Taoukis, P. (2005) Meat safety, refrigerated storage and transport: modeling and management. En: Sofos J N. (ed.) *Improving the Safety of Fresh Meat*. Cambridge, Woodhead/Publishing, Ltd, p503-561.

28. Koutsoumanis K., Angelidis A S. (2007) Probabilistic modeling approach for evaluating the compliance of ready to eat foods with new European Union safety criteria for *Listeria monocytogenes*. *Applied and Environmental Microbiology* 73: 4996-5004.
29. Lawrie R A., Ledward D A. (2006) *Lawrie's meat science*. Londres, Woodhead Publishing, 464p.
30. Lambert A., Smith J., Dodds K. (1991) Life extension and microbiological safety of fresh meat - a review. *Food Microbiology* 8: 267-297.
31. Lee K T., Yoon C S. (2001) Quality changes and shelf life of imported vacuum-packaged beef chuck during storage at 0°C. *Meat Science* 59:71-77.
32. Maíz, S. (2002) Estabilidad de la carne fresca molida de vacuno tratada, con sales orgánicas, empacada al vacío y refrigerada. Tesis de Grado, Universidad Agraria de la Selva, 129p.
33. Martin J N., Brooks J C., Legako J F., Starkey J D., Jackson S P., Miller M F. (2013) Storage length, storage temperature, and lean formulation influence the shelf-life and stability of traditionally packaged ground beef. *Meat Science* 95: 495-502.
34. Nychas G., Drosinos E. (2000) *Encyclopedia of food microbiology* Londres, Academic Press, 3248p.
35. Nychas G., Skandamis P., Tassou C., Koutsoumanis K. (2008) Meat spoilage during distribution. *Meat Science* 78:77-89.
36. Pin C., García de Fernando G., Ordoñez J A. (2002) Effect of modified atmosphere composition on the metabolism of glucose by *Brochothrix thermosphacta*. *Applied and Environmental Microbiology* 68:4441-4447.
37. Prandl O., Fischer A., Schmidhofer T., Sinell H J. (1994) *Tecnología e higiene de la carne*. Zaragoza, Acribia, 878p.
38. Price J F., Schweigert B. (1994) *Ciencia de la carne y de los productos cárnicos*. 2da ed. Zaragoza, Acribia, 581p.
39. Potter N M., Hotchkiss J H. (1998) *Food Science*. Nueva York, Springer, 608p.
40. Comisión Europea. Reglamento N° 2073/2005 Disponible en: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/ES/ALL/?uri=celex:32005R2073> Fecha de Consulta: 13/02/2019.
41. Rogers H B., Brooks J C., Martin J N., Tittor A., Miller M F., Brashears M M. (2014) The impact of packaging system and temperature abuse on the shelf life characteristics of ground beef. *Meat Science* 91: 1-10.
42. Rokaityte A., Zaborskiene G., Macioniene I., Rokaitis I., Sekmokiene D. (2016) Combined Effect of Lactic Acid, Bioactive Components and Modified Atmosphere Packaging on the Quality of Minced Meat. *Czech J. Food Science* 34: 52-60.

43. Signorini M. (2007) Microbiología de carnes envasadas al vacío y la biopreservación como medio para prolongar la vida de anaquel. *Nacameh* 1: 26-40.
44. Stoops J., Ruyters S., Busschaert P., Spaepen R., Verreth C., Claes J., Lievens B., Van Campenhout L. (2015) Bacterial community dynamics during cold storage of minced meat packed under modified atmosphere and supplemented with different preservatives. *Food Microbiology* 45: 83-102.
45. Toldrá F. (2010) Handbook of meat processing. Iowa, Blackwell Publishing, 584p.
46. Uruguay (1994) Reglamento Bromatológico Nacional. Decreto N° 315/994 de 5 de Julio de 1994. 5ª Ed. Montevideo, IMPO, 454p. Disponible en: <https://www.impo.com.uy/bases/decretos-reglamento/315-1994> Fecha de Consulta: 14/04/2018.
47. Uruguay (2006) Industria Cárnica. Decreto N° 215/006 del 7 de Julio de 2006. Montevideo, IMPO. Disponible en: <https://www.impo.com.uy/bases/decretos/215-2006> Fecha de Consulta: 14/04/2018.
48. Uruguay (2009) Norma reglamentaria para la elaboración de carne picada con destino a la venta directa. Anexo a Decreto N° 369/983 de 7 de octubre de 1983. Montevideo, IMPO. Disponible en: <https://www.impo.com.uy/bases/decretos-reglamento/369-1983> Fecha de Consulta: 14/04/2018.
49. Vásquez S M., Suárez H., Zapata S. (2009) Utilización de sustancias antimicrobianas producidas por bacterias ácido lácticas en la conservación de la carne. *Revista Chilena de Nutrición* 36: 64-71.
50. Vignolo G., Fadda S., Kairuz M N., Holgado A R., Oliver, G. (1996) Control of *Listeria monocytogenes* in ground beef by lactocina 705, a bacteriocin produced by *Lactobacillus casei* CRL705. *International Journal of Food Microbiology* 29: 397–402.
51. Wood J D., Enser M., Fisher A V., Nute G R., Sheard P R., Richardson R I., Hugues S I., Whittington F M. (2008) Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science* 78: 343-358.
52. Zhang Y., Zhu L., Dong P., Liang R., Mao Y., Qiu S., Luo X. (2018) Bio-protective potential of lactic acid bacteria: Effect of *Lactobacillus sakei* and *Lactobacillus curvatus* on changes of the microbial community in vacuum-packaged chilled beef. *Asian-Australian Journal of Animal Sciences* 31: 585-594.
53. Zhou G H., Xu X L., Liu Y. (2010) Preservation technologies for fresh meat – A review. *Meat Science* 86: 119-128.