

Effect of substrate on parameters of thermal inactivation of *Listeria monocytogenes*

Efecto del sustrato sobre parámetros de inactivación térmica de *Listeria monocytogenes*

G.A. González-Tejedor^{1*}, F. Artés-Hernández^{1,2}, P.S. Fernández^{1,2}

¹Departamento de Ingeniería de Alimentos. Universidad de Politécnica de Cartagena - UPCT. 30203. Cartagena, Spain.

²Institute of Plant Biotechnology - IBV. UPCT. Campus Muralla del Mar s/n. 30202. Cartagena, Spain.

* gerardo.gonzalez@utp.ac.pa

Abstract

The inactivation of *Listeria monocytogenes* in skimmed milk and TSB medium (Tryptic Soy Broth) with close to neutral pH and isothermal treatment at 55 and 57.5°C has been evaluated. Milk was thermally treated during 3 min at 95°C and subsequently inoculated. The substrate (milk and TSB), do not exert an important effect on the parameters of thermal inactivation of *Listeria monocytogenes*.

Keyword: milk; minimal processing; heat treatment; food safety.

Resumen

Se ha evaluado la inactivación de *Listeria monocytogenes* en leche desnatada y medio TSB (Tryptic Soy Broth) con pH cercano al neutro y tratamientos isotérmicos a 55 y 57.5°C. La leche se trató térmicamente a 95°C durante 3 min y posteriormente fue inoculada. El sustrato (leche y TSB), no ejercen un efecto importante sobre los parámetros de inactivación térmica de *Listeria monocytogenes*.

Palabras clave: leche; procesado mínimo; tratamiento térmico; seguridad alimentaria.

1. INTRODUCCIÓN

L. monocytogenes es un patógeno Gram-positivo transmitido por los alimentos, que es capaz de sobrevivir en un amplio rango de ambientes, tales como temperaturas de refrigeración, pH bajo y altos niveles de NaCl. Se ha demostrado que puede sobrevivir a tratamientos térmicos suaves [1]. También se ha demostrado que la resistencia al calor de diferentes microorganismos se incrementa cuando sus células son expuestas durante un período corto de tiempo a temperaturas moderadamente elevadas, normalmente por encima del máximo para su crecimiento, antes de aplicar el tratamiento térmico para su inactivación [2]. Esto permite utilizar determinadas temperaturas para realizar estudios sobre inactivación térmica.

Diferentes factores antes y durante la manipulación de los alimentos pueden causar contaminación microbiana de productos frescos [3]. La disponibilidad de nutrientes y la alta actividad de agua de algunos productos, promueven el rápido crecimiento de patógenos alimentarios [4]. La posible presencia de especies patógenas en las materias primas (leche), entre ellas *L. monocytogenes*, representa un riesgo microbiológico incluso a temperaturas de refrigeración [5]. Por lo tanto, para garantizar su seguridad, la leche requiere un proceso de pasteurización adecuado para posibilitar la destrucción de patógenos y reducir la flora

microbiana de deterioro. Sin embargo, el proceso térmico puede ser acortado a 15–30 s. mediante una pasteurización rápida a elevada temperatura, por lo que el estudio del binomio tiempo temperatura es fundamental [6]. También es necesario evitar la recontaminación posterior del producto con microorganismos patógenos.

La presencia demostrada de *L. monocytogenes* bajo condiciones de refrigeración [7], puede representar un peligro potencial para la salud dada la conocida capacidad de *L. monocytogenes* para sobrevivir en productos almacenados durante largos periodos en refrigeración.

En alimentos listos para el consumo que puedan permitir el desarrollo de *L. monocytogenes* antes de que el alimento haya dejado el control inmediato de la empresa alimentaria que los haya producido, debe demostrar que el producto no superará el límite de 100 UFC/g durante su vida útil; Si no se puede demostrar, se considera satisfactorio si todos los valores observados indican ausencia de la bacteria e insatisfactorio si se detecta la presencia de la bacteria en cualquiera de las muestras [8].

El objetivo de este estudio fue evaluar efecto del sustrato sobre parámetros de inactivación térmica de *Listeria monocytogenes*.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Preparación de la Cepa utilizada

La cepa de *L. monocytogenes* CECT 4032 fue suministrada por la Colección Española de Cultivos Tipo. Aproximadamente 100 µL de la cepa se inocularon en 50 mL de TSB y se incubó a 37°C durante 24 horas para obtener las células en fase de crecimiento estacionario con una concentración aproximada de 1×10^9 UFC/mL.

2.2 Inoculación de los sustratos

Los sustratos leche desnatada (previamente tratada térmicamente a 95°C) y TSB se inocularon con *L. monocytogenes* (CECT 4032) en concentraciones iniciales de 10^6 a temperaturas constantes de 55 y 57.5°C. Se estudió la inactivación de *L. monocytogenes* (CECT 4032) a las temperaturas indicadas.

2.3 Recuento microbiológico de *L. monocytogenes*

El medio utilizado para células viables fue Tryptona Soya Agar (TSA). Las diluciones seleccionadas se incubaron a 37°C durante 24 horas, posteriormente se realizó el conteo. La reducción de células viables se expresó como el logaritmo de UFC/mL.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las Figuras 1 y 2, se pueden observar las curvas de inactivación de *L. monocytogenes* tras un tratamiento isotérmico en leche desnatada y un medio de calentamiento con pH neutro. A 55°C y 57.5°C, las curvas de inactivación presentan un comportamiento lineal, con una ligera cola a 57.5°C para la leche. La presencia de colas en curvas de inactivación se puede asumir como una situación en la que el microorganismo se ha adaptado a las condiciones estresantes y su población no disminuye, es decir, se mantiene constante. Por lo tanto, resulta ser una circunstancia desagradable en el ámbito de la industria agroalimentaria. En el estudio dirigido por Murphy, Beard, Martin, Duncan, y Marcy [9], *L. monocytogenes* tuvo mayor resistencia que *Salmonella spp.* y *E. coli* O157:H7 cuando se trataron térmicamente a 55°C. Sharma, Adler, Harrison y Beuchat [10] también reportaron que *L. monocytogenes* fue relativamente más termoresistente que *E. coli* O157:H7 y *Salmonella spp.* cuando se trataron a 57°C en zumo de melón.

Ambos sustratos (leche y TSB) tratado a 55°C presentaron una reducción de 5 ciclos logarítmicos después de 60 minutos sin diferencias importantes a lo largo del estudio observándose una menor desviación de la cinética de primer orden en el medio TSB que en leche (Figura 1). Dichos sustratos a 57.5°C presentaron una reducción de 4 ciclos logarítmicos después de 15 minutos sin diferencias importantes a lo largo de la experiencia, observándose de nuevo menor desviación de la cinética de primer orden en el medio TSB que en leche (Figura 2). La inactivación de *L. monocytogenes* en diferentes sustratos de frutas han sido evaluados por varios autores. Por ejemplo, Hassani et al. [11], reportaron una inactivación de 5 ciclos logarítmicos de *L. monocytogenes* en un medio de referencia (pH = 4) cuando este fue tratado a 58°C durante 84 s; este resultado difiere con el nuestro a 57.5°C, lo cual demuestra la gran importancia e influencia que tiene el pH sobre el comportamiento de un microorganismos en este caso *L. monocytogenes* ya que el pH utilizado en nuestra experiencia fue cercano a 7.

4. CONCLUSIONES

El sustrato, en este caso leche, no ejerce un efecto importante sobre los parámetros de inactivación térmica de *L. monocytogenes* a 55°C y 57.5°C. La cinética de inactivación observada presentó una mayor desviación de la linealidad en leche que en TSB.

5. AGRADECIMIENTOS

Se agradece la financiación al Ministerio de Economía y Competitividad MINECO (Proyectos AGL2013-48830-C2-1-R y AGL2013-48993-C2-1-R) y a los fondos FEDER. G. González agradece al gobierno de Panamá la beca para realizar el doctorado en la UPCT.

6. REFERENCIAS

- [1] Muñoz, M., Guevara, L., Palop, A., Fernández, P.S., 2010. Prediction of time to growth of *Listeria monocytogenes* using Monte Carlo simulation or regression analysis, influenced by sublethal heat and recovery conditions. *Food Microbiol.* 27(4): 468-475.
- [2] Pagán, R., Condón, S., Sala, F.J. 1997. Effect of several factors on heat-shock-induced thermotolerance of *Listeria monocytogenes*. *Appl Environ Microbiol.* 63: 3225-3232.
- [3] De Roever, C. 1998. Microbial safety evaluation and recommendation on fresh produce. *Food Control.* 9: 321-347
- [4] Tournas, V. H., Heeres, J., Burgess, L. 2006. Moulds and yeasts in fruit salads and fruit juices. *Food Microbiol.* 23: 684-688.
- [5] Scolari, G., Zacconi, C., Busconi, M., Lambri, M. 2015. Effect of the combined treatments of high hydrostatic pressure and temperature on *Zygosaccharomyces bailii* and *Listeria monocytogenes* in smoothies. *Food Control.* 47: 166-174.
- [6] Castillejo, N., Martínez-Hernández, G.B., Gómez, P.A., Artés F., Artés-Hernández, F. 2016. Red fresh vegetables smoothies with extended shelf life as an innovative source of health-promoting compounds. *J Food Sci Technol.* 53(3): 1475-1486.
- [7] Cobo-Molinos, A., Abriouel, H., Ben Omar, N., Lucas, R., Valdivia, E., Gálvez, A. 2008. Inactivation of *Listeria monocytogenes* in raw fruits by enterocin AS-48. *J Food Protect.* 71(12): 2460-2467.
- [8] Regulation (EC) 1441/2007. 2007. Commission regulation on microbiological criteria for foodstuffs. *OJ L* 322, 7.12.2007. 32: 12-29.
- [9] Murphy, R. Y., Beard, B. L., Martin, E. M., Duncan, L. K., Marcy, J. L. 2004. Comparative study of thermal inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* and *Listeria monocytogenes* in ground pork. *J Food Sci.* 69(4): 97-101.
- [10] Sharma, M., Adler, B. B., Harrison, M. D., Beuchat, L. R. 2005. Thermal tolerance of acid-adapted and unadapted *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, and *Listeria monocytogenes* in cantaloupe juice and watermelon juice. *Lett Appl Microbiol.* 41: 448-453.

[11] Hassani, M., Mañas, P., Pagán, R., Condón, S. 2007. Effect of a previous heat shock on the thermal resistance of *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas aeruginosa* at different pHs. *Int J Food Microbiol.* 116: 228-238.

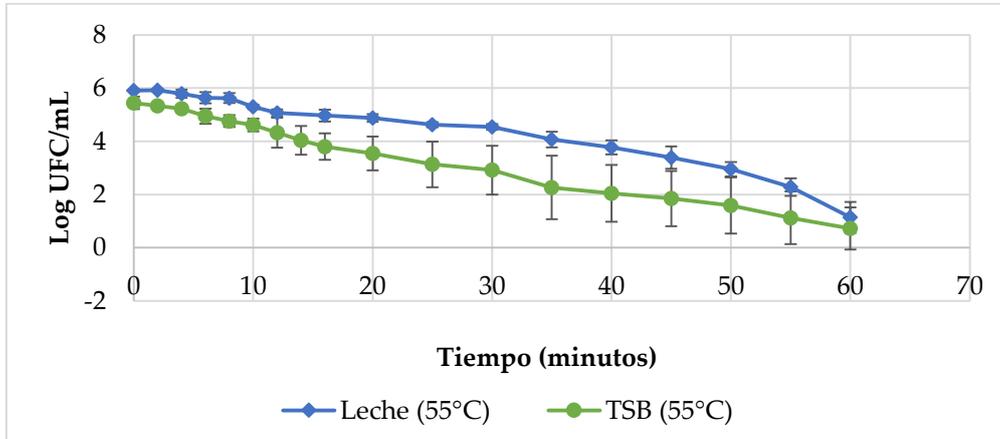


Figura 1. Inactivación de *Listeria monocytogenes* inoculada en leche y medio TSB tratados isotérmicamente a 55°C.

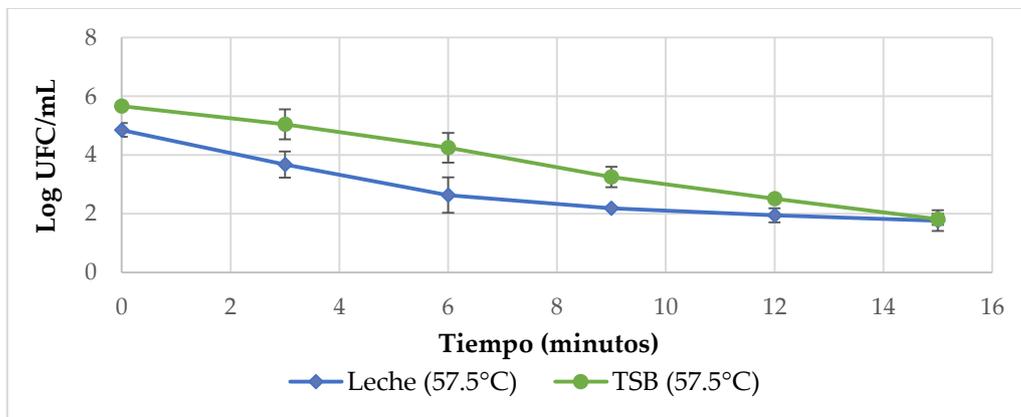


Figura 2. Inactivación de *Listeria monocytogenes* inoculada en leche y medio TSB tratados isotérmicamente a 57.5°C.