

Effect of microwave thermal treatment and stress conditions (acid shock) on *Listeria monocytogenes* in food

Efecto de tratamiento térmico por microondas y condiciones de estrés (choque ácido) sobre *Listeria monocytogenes* en alimentos

J.A. Sotomayor-Ballesta^{1*}, A. Iguaz-Gaínza¹, P.M. Periago-Bayonas^{1,2}

¹Departamento de Ingeniería de Alimentos y del Equipamiento Agrícola, Campus de Excelencia Internacional Regional, Universidad Politécnica de Cartagena, Paseo Alfonso XIII 48, Cartagena, Murcia, Spain.

²Instituto de Biotecnología Vegetal, Campus de Excelencia Internacional Regional "Campus Mare Nostrum". Universidad Politécnica de Cartagena, Spain.

*jasb1@alu.upct.es

Abstract

Microorganisms have the ability to develop adaptive responses when they are subjected to sublethal conditions, triggering general defense mechanisms which are capable to increase resistance to this and other stresses, among those it's can be found the different methods of food preservation. Among the methods of bacterial inactivation at the industrial level, conventional thermal treatments present many advantages and is one of the most widely used. However, microwave processing, although has also several advantages is not so high employed. Therefore, the present project aims at determining the effect of different stressing conditions like acid shock as well as the effect of the heating medium pH on the inactivation of *Listeria monocytogenes* treated with technologies such as conventional thermal and microwaves treatments, among others, in food. The results obtained have shown that the acid shock affects the microorganism thermoresistance by decreasing its resistance by microwave heating.

Keywords: Microbial inactivation; heat resistance; microwave; acid shock.

Resumen

Los microorganismos poseen capacidad de desarrollar respuestas de carácter adaptativo cuando han sido sometidos a condiciones subletales, activando mecanismos generales de defensa capaces de provocar un aumento en su resistencia a éste y otros estreses, entre los que se encuentran los diferentes métodos de conservación de alimentos. Entre los métodos de inactivación bacteriana a nivel industrial, el tratamiento térmico convencional presenta numerosas ventajas y es uno de los más extensamente utilizados. Sin embargo, el procesado con microondas tiene también ventajas y no es tan empleado. Por lo tanto, el presente proyecto tiene como objetivos la determinación del efecto de diferentes condiciones de estrés, como un choque ácido, así como el efecto del pH del medio de calentamiento sobre la inactivación de *Listeria monocytogenes* sometida a tecnologías como un tratamiento térmico convencional y tratamiento por microondas, entre otros, en alimento. Los resultados mostraron que un choque ácido afecta a la termorresistencia del microorganismo, disminuyendo su resistencia a un calentamiento por microondas.

Palabras clave: Inactivación microbiana; resistencia al calor; microondas; choque ácido.

1. INTRODUCCIÓN

Durante muchos años de investigación microbiológica, numerosos son los estudios que demuestran que cuando determinados microorganismos son expuestos, durante un tiempo predeterminado, a una situación adversa (estresante), son capaces de sobrevivir, posteriormente, a una situación letal. Este fenómeno es conocido como adaptación al estrés. Además, se ha observado que la inducción de la tolerancia a un determinado tipo de estrés, conlleva la tolerancia a otros tipos de estrés, aunque éstos sean letales en ausencia de una inducción previa (resistencia cruzada) [1, 2]. *Listeria monocytogenes* es capaz de expresar proteínas del choque térmico cuando desarrolla resistencias subletales al calor, aunque este mecanismo continúa sin esclarecerse totalmente para este microorganismo [3]. Son muchos los factores que influyen en la resistencia al calor de *Listeria monocytogenes*, como serían el tipo de cepa, las condiciones de crecimiento previas, exposiciones previas a otros estreses, tipo de alimento en el que se encuentre, el diseño experimental llevado a cabo, entre otros.

El principal objetivo de cualquier proceso de conservación es minimizar el crecimiento de microorganismos alterantes y patógenos. Por lo tanto, las investigaciones de hoy en día están encaminadas hacia la búsqueda de técnicas que cada vez garanticen más la calidad y seguridad alimentaria con la mínima alteración de las cualidades nutritivas y organolépticas del producto.

En los últimos años, el uso del calentamiento por microondas para mejorar la seguridad microbiológica se ha utilizado en el procesado de alimentos durante varias décadas, como en el secado, la descongelación y la esterilización, entre otros [4]. El calentamiento por microondas tiene lugar como resultado de la fricción molecular entre las moléculas de agua presentes en el alimento, bajo un campo eléctrico oscilante a una frecuencia específica [5]. Por lo tanto, el presente proyecto tiene como objetivos la determinación del efecto de diferentes condiciones de estrés, como un choque ácido, así como el efecto del pH del medio de calentamiento sobre la inactivación de *Listeria monocytogenes* sometida a tecnologías como un tratamiento térmico convencional y tratamiento por microondas, entre otros, en alimento.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Microorganismo

Los microorganismos que fueron usados en este estudio son patógenos alimentarios como *Listeria monocytogenes*, entre otros, proporcionados por Colecciones de Cultivo como la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT, Valencia, España).

2.2 Aplicación de un choque ácido y otras condiciones de estrés

Se aplicaron choques ácidos siguiendo la metodología especificada por Sotomayor Ballesta [6] y otros tipos de estreses. En este caso, cultivos frescos de *L. monocytogenes* fueron centrifugados dos veces a 4000 rpm durante diez minutos y re-suspendidos en TSB (Scharlau Chemie SA, Barcelona, España) a pH $7,1 \pm 0,3$. Por último, se realizó otra centrifugación en las mismas condiciones y, en este caso, el pellet fue re-suspendido en TSB a pH $4,5 \pm 0,2$ con ácido cítrico 1N (Panreac, Barcelona, España) y se incubó a 37°C durante treinta minutos. Se comprobó que el valor de pH de los diferentes medios no variaba tras el tratamiento de esterilización.

2.3. Determinación de la termorresistencia/inactivación de *L. monocytogenes* mediante tratamiento por microondas.

Se utilizó un equipo de microondas (imagen 1) provisto de sensores de fibra óptica que registran la temperatura en diferentes puntos de la muestra. Para los análisis, se utilizaron dos medios de calentamiento diferentes: leche de soja y crema de verduras. Los experimentos se realizaron calentando rápidamente la muestra (población inicial de 10^6 UFC/mL) desde una

temperatura de 25 °C hasta alcanzar la temperatura de tratamiento (50, 60 70 y 80 °C), cuando fueron retirados del equipo y enfriados. Cada condición experimental se realizó por triplicado.



Imagen 1: Equipo de microondas diseñado por el grupo GEM del Laboratorio de Electromagnetismo y Materia (Edificio ELDI - UPCT).

3. RESULTADOS

En la Figura 1 se observa que, a temperaturas de tratamiento bajas (50 y 60 °C), un medio de calentamiento ácido no favorece la termorresistencia del microorganismo frente a un medio de calentamiento neutro, mientras que a temperaturas altas (70 y 80 °C), un medio de calentamiento neutro es más eficaz en la inactivación del microorganismo que un medio de calentamiento ácido.

En la Figura 2 se puede apreciar que, a mayor temperatura de tratamiento, mayor es la reducción de la carga microbiana. Al comparar ambas figuras, se observa que un choque ácido previo disminuye la termorresistencia del microorganismo a temperaturas altas (70 y 80 °C), mientras que a temperaturas bajas (50 y 60 °C) no consigue una mayor inactivación.

4. CONCLUSIONES

- La termorresistencia de *Listeria monocytogenes* 4032 es afectada, tanto por un choque ácido previo, como por el pH del medio de calentamiento.
- Un choque ácido a pH 4,5 disminuye la termorresistencia de *Listeria monocytogenes* 4032.
- A temperaturas de tratamiento bajas (50 y 60 °C) y sin choque ácido previo, un medio de calentamiento ácido no favorece la termorresistencia de *Listeria monocytogenes* 4032.
- A temperaturas de tratamiento altas (70 y 80 °C) y sin choque ácido previo, un medio de calentamiento neutro favorece la inactivación de *Listeria monocytogenes* 4032.

5. AGRADECIMIENTOS

Ministerio de Economía y Competitividad, proyecto AGL-2013- 48993-C2-1-R.

6. REFERENCIAS

- [1] Hill C., Cotter P.D., Sleator R.D., Gahan C.G.M. 2002. Bacterial stress response in *Listeria monocytogenes*: jumping the hurdles imposed by minimal processing. *Int. Dairy J.* 12: 273–283.
- [2] Van Schaik W., Van der Voort M., Molenaar D., Moezelaar R., De Vos W.M., Abee T. 2007. Identification of the σ B Regulon of *Bacillus cereus* and Conservation of σ B – Regulated Genes in Low-GC-Content Gram-Positive Bacteria. *J. Bacteriol.* 12: 4384–4390.
- [3] Sergelidis D., Abraham A. 2009. Adaptive response of *Listeria monocytogenes* to heat and its impact on food safety. *Food Control* 20: 1-10.

[4] Huang Y., Nandini K.E., Lakshmi M.C., Subramanian R. 2007. Effect of enzyme inactivation by microwave and oven heating on preservation quality of green tea. J. Food Eng. 78: 687–692.

[5] Pucciarelli A.B., Benassi F.O. 2005. Inactivation of Salmonella enteritidis on raw poultry using microwave heating. Braz. Arch. Biol. Techn. 48: 939 – 945.

[6] Sotomayor Ballesta, J.A. (2015). Efecto de un choque ácido y del pH del medio de calentamiento sobre la termorresistencia de *L. monocytogenes*. Proyecto fin de Máster. Universidad Politécnica de Cartagena, Departamento de Ingeniería de los Alimentos y del Equipamiento Agrícola. Cartagena, España.

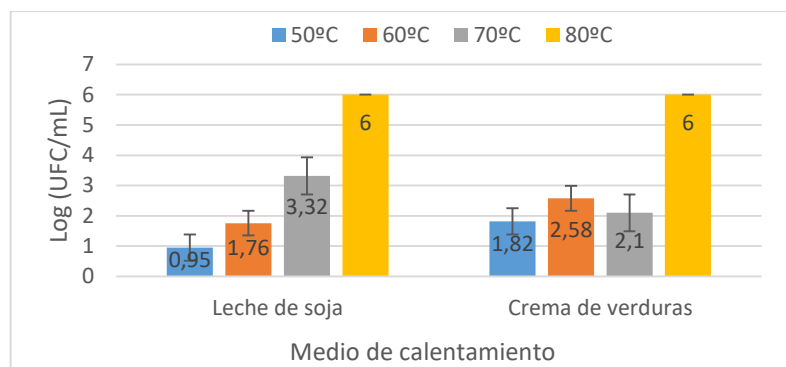


Figura 1. Reducción logarítmica de *Listeria monocytogenes* 4032 tras un tratamiento térmico por microondas sin choque ácido previo en leche de soja y crema de verduras.

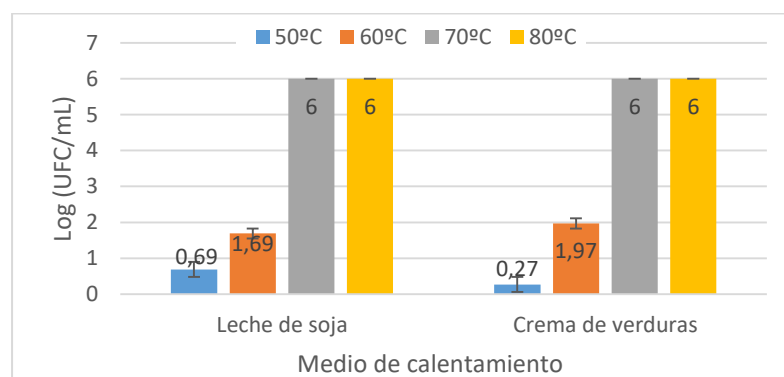


Figura 2. Reducción logarítmica de *Listeria monocytogenes* 4032 tras un tratamiento térmico por microondas con choque ácido previo en leche de soja y crema de verduras.