



*log cfu/g which exceeded maximum according to the guidelines from the regulation C.E. 1441/2007. However, in samples from vacuum counts were above 7 log cfu/g which exceeded maximum according to the guidelines from the regulation C.E. 1441/2007. However, in samples from vacuum counts were above 7 log cfu/g which exceeded maximum according to the guidelines from the regulation C.E. 1441/2007. However, in samples from vacuum counts were above 7 log cfu/g which exceeded maximum according to the guidelines from the regulation C.E. 1441/2007. However, in samples from vacuum counts were above 7 log cfu/g which exceeded maximum according to the guidelines from the regulation C.E. 1441/2007. However, in samples from vacuum counts were above 7 log cfu/g which exceeded maximum according to the guidelines from the regulation C.E. 1441/2007. However, in samples from vacuum counts were above 7 log cfu/g which exceeded maximum according to the guidelines from the regulation C.E. 1441/2007.*

**Keywords:** Shelf life; Packaged type; Microbiological spoilage; Half carcass; “Capón Villalba”.

## INTRODUCCIÓN

Según el Reglamento CE N° 1000/96 el capón se define como un “pollo macho castrado quirúrgicamente antes de tener acabado la madurez sexual y sacrificado a una edad mínima de 150 días. Asimismo una vez castrados, los capones deberán pasar un período mínimo de engorde de 77 días”.

Concretamente el Capón de Villalba procede del Gallo de Bankiva, originario del sudeste asiático. Cuando alcanza un peso de entre 1-1,5 kg, lo que corresponde a una edad de entre 45-60 días, se castran quirúrgicamente. La castración, es una técnica cuyo fin es obtener un tipo de carne de mayor calidad organoléptica ya que con ella se produce un cambio en el metabolismo del animal (Ciria et al., 2005). Los capones se crían al aire libre, con zonas de campo a su disposición para que su crianza se produzca de una manera más natural y a la vez hagan ejercicio físico, lo que va a repercutir en la calidad de su carne. Esto favorece el desarrollo de la musculatura e implica la aparición de una carne más oscura y apetecible por el consumidor. Además se alimentan de modo natural, principalmente a base de cereales y de una pasta hecha de maíz en agua hirviendo. A esto, también se le puede añadir patatas o castañas cocidas y yema de huevo.

Una de las principales limitaciones de la carne de aves y de sus productos cárnicos elaborados, es su corta vida útil lo que limita el beneficio del productor y además hace imprescindible encontrar medidas que garanticen que el consumidor accede a productos garantizados como inocuos desde un punto de vista microbiológico.

Dentro de este contexto, surge pues la necesidad de estudiar diferentes estrategias con el objetivo de incrementar la vida útil de este producto. Las ventajas de ello son indudables. Por un lado, la repercusión económica en la industria avícola y, por el otro, la satisfacción del consumidor que cada vez reclama alimentos más seguros. Por tanto, los objetivos perseguidos por la industria alimentaria son: mejorar las características del producto (Doherty et al, 1996; Alonso Calleja et al, 2004), aumentar la vida útil e inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos (Sundheim et al, 1998; Hinton et al, 2002). Para ello se utilizan los envasados a vacío y en atmósfera modificada (EAM). El envasado a vacío inhibe el crecimiento de las principales bacterias alterantes (*Pseudomonas*) de la carne fresca refrigerada favoreciendo el desarrollo de las bacterias ácido lácticas, de menor capacidad alterante. El EAM se considera un método efectivo para extender la vida útil de una amplia variedad de productos (Silliker and Wolfe, 1980; Farber, 1991; Chouliara and Kontominas, 2007). Los gases usados comúnmente en el EAM son el dióxido de carbono ( $CO_2$ ) que inhibe el crecimiento bacteriano; el oxígeno ( $O_2$ ), que previene el crecimiento de grupos microbianos anaeróbicos y retiene el color de la carne y; el nitrógeno ( $N_2$ ), que evita la oxidación de las grasas y que además se emplea como gas de relleno. Estos gases se pueden aplicar individualmente o combinados (Narasimha and Sachindra, 2002). El objetivo de este trabajo fue evaluar la vida útil de medias canales de “Capón Villalba” almacenadas a vacío y en dos EAM diferentes: (A) 25%/35%/40% ( $O_2/N_2/CO_2$ ) y (B) 80%/20% ( $O_2/CO_2$ ).

## MATERIAL Y MÉTODOS

### Muestras

Para la realización de este estudio se emplearon veinte medias canales del Capón de Villalba procedentes de Villalba (Lugo, España). Una vez sacrificados los animales fueron sacrificados y faenados,

se enviaron en condiciones de refrigeración a las instalaciones del Centro Tecnológico de la Carne (CTC). Transcurridas 24 horas *post-mortem*, en la Planta Piloto del Centro, se partió a la mitad la canal, se realizaron los análisis correspondientes a día cero y se envasaron el resto de las canales en bandejas de 300 PS mm de espesor y selladas con un film PE de 74 mm de espesor y con una permeabilidad al oxígeno menor de 2 mL/m(2)/24h/bar. La termoselladora empleada fue una Lari3/Pn Cavec T-VG-R-SKIN (Cavec, Italia). La composición de las atmósferas utilizadas fueron: (A) 25%/35%/40%(O<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>) y (B) 80%/20%(O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>). Las muestras estuvieron almacenadas a 4°C durante 3, 7 y 9 días.

### **Análisis microbiológicos**

Para cada muestra, punto de muestreo y envasado, se pesaron de modo aséptico, 25 gramos y se homogeneizaron en un homogeneizador IUL, modelo Masticador durante 2 minutos, a temperatura ambiente, con 225 ml de peptona bacteriológica estéril (0,1%). A partir de esta dilución se prepararon diluciones decimales sucesivas mezclando 1 mL de la dilución previa con 9 mL de peptona bacteriológica estéril (0,1%). Se siguieron las metodologías estándar ICMSF (1986) (Comisión Internacional de Especificaciones Microbiológicas).

Posteriormente se sembraron en masa y por duplicado, 1 mL de cada dilución para los recuentos de aerobios mesófilos totales, aerobios psicrófilos, bacterias ácido lácticas y *Enterobacteriaceae*. Para *Pseudomonas* se sembraron 0,1 mL de cada dilución, en superficie y con la ayuda de un asa de Drigalsky. Los coliformes totales se analizaron usando la técnica del Número Más Probable empleando el equipo automatizado TEMPO® que permite el recuento automatizado y directo de los principales indicadores de calidad en productos alimenticios, entre los que aparece incluido este parámetro.

Los aerobios mesófilos y aerobios psicrófilos se determinaron en agar para recuento en placa (PCA; Oxoid, Unipath Ltd., Basingstoke, UK) y fueron incubados a 30° C durante 2 días y a 7° C durante 10 días respectivamente. Para las bacterias ácido lácticas se usó como medio Man Rogosa Sharpe Agar (MRS, Oxoid, Unipath Ltd., Basingstoke, UK) ajustado a pH 5,6 con ácido acético e incubando en condiciones de anaerobiosis a 30° C durante 5 días. *Pseudomonas* se analizaron en Agar selectivo para *Pseudomonas* con Cetrimida, Fucidina y Cefaloridina (CFC, Merck, Darmstadt, Germany), incubando a 25° C durante 2 días. Las *Enterobacteriaceae* se determinaron en Agar Glucosa Cristal Violeta Rojo Neutro y Sales Biliares (VRBGA, Merck, Darmstadt, Germany) para posteriormente ser incubadas a 37°C durante 24 horas. Los Coliformes totales se incubaron a 30°C durante 24 horas.

Una vez mantenidas las placas a las temperaturas y durante los tiempos establecidos para cada grupo microbiano, se efectuaron los recuentos en aquéllas que contenían un número de colonias comprendido entre 30 y 300 transformando los resultados en logaritmos unidades formadores de colonias por gramo de muestra (log ufc/g).

### **Análisis físico-químicos**

El pH y el color fueron analizados siguiendo la metodología propuesta por Lorenzo y col. (2011). La medida del pH se realizó usando un pHmetro portátil equipado con electrodo de penetración de 6 mm de diámetro y una sonda de temperatura. Para el calibrado se usaron soluciones tampón de pH 4 y 7. La medición se hizo por duplicado en zonas libres de grasa, y tras 30 minutos de aireación en el caso de los filetes envasados a vacío. Para la determinación del color se empleó un colorímetro portátil (Konica Minolta CR-400 Osaka, Japan) que permite medir los colores que se reflejan en las superficies con la ayuda de las coordenadas tricromáticas Luminosidad (L), índice de rojo (a) e índice de amarillo (b). Las muestras de carne fueron oxigenadas al aire durante 1h antes de medir directamente en contacto con el aire.

### **Análisis estadístico**

Se calcularon las medias y las desviaciones estándar que se sometieron posteriormente a un análisis de varianza ANOVA con un intervalo de confianza del 95% (p<0,05). Los datos fueron analizados usando el paquete estadístico SPSS (SPSS 19.0, Chicago, IL, USA).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La industria agroalimentaria ha implementado paulatinamente tecnologías de producción y conservación con el objetivo de garantizar la calidad higiénica de los alimentos y prolongar su vida útil minimizando las alteraciones en los mismos. En este grupo se incluyen los sistemas de envasado a vacío y en atmósfera modificada (Caro y col., 2007). En este estudio se utilizaron los envasados a vacío y dos EAM diferentes: (A) 25%/35%/40% ( $O_2/N_2/CO_2$ ) y (B) 80%/20% ( $O_2/CO_2$ ) con el objetivo de evaluar la vida útil de medias canales de “Capón Villalba” y estudiar la mejor estrategia de envasado.

Los resultados obtenidos para los recuentos de aerobios mesófilos y psicrófilos de las muestras de carne de capón en estos sistemas de envasado, aparecen recogidos en las figuras (1a) y (1b) respectivamente.

Los microorganismos mesófilos son indicadores generales de las condiciones de procesamiento. Su presencia, en mayor o menor número, indica las condiciones de la materia prima y del proceso utilizado (Contreras, 1988). Se consideran buenas condiciones de higiene en las aves recientemente evisceradas, un número de microorganismos comprendido entre 2-3 log ufc/g. Los recuentos iniciales de aerobios mesófilos y psicrófilos obtenidos en este estudio para carne fresca fueron de 5,18 log ufc/g y 5,37 log ufc/g respectivamente lo que sugiere que las condiciones de faenado no fueron las óptimas y difieren mucho de los valores obtenidos por Blixt et Borch (2002) de 3-3,5 log ufc/g los cuales indican que se trata de una calidad aceptable.

A los 3 días de almacenamiento a 4°C, los recuentos aumentaron de manera muy significativa ( $p < 0.001$ ) tanto en mesófilos como en psicrófilos. En el envasado a vacío aumentó en 1 log, sin embargo en el envasado en atmósfera modificada A y B, el aumento fue de 2 y 3 log debido, probablemente, a la presencia de  $O_2$  en distintas proporciones, lo que favorece el crecimiento más rápido de los grupos microbianos aeróbicos. Los valores a 9 días para aerobios psicrófilos resultaron ser similares para el caso del envasado a vacío (8,05 log ufc/g) y atmósfera A (8,16 log ufc/g), difiriendo algo más para la atmósfera B (9,26 log ufc/g).

Todas las muestras presentaron, a partir de los 3 días de envasado, recuentos de aerobios mesófilos y psicrófilos superiores a 7 log ufc/g, límite máximo permitido por la ICMSF (1986) para considerar una carne apta para el consumo.

*Pseudomonas* son considerados como un buen indicador de la manipulación higiénica de las muestras en condiciones aeróbicas. Son microorganismos aerobios presentes en la microbiota de la carne en número suficiente para jugar un papel determinante en la alteración del alimento (Kraft, 1992). Los resultados obtenidos indicaron diferencias muy significativas ( $p < 0,001$ ) entre los distintos tipos de envasados (fig. 1c). Se observó que los recuentos evolucionaron de forma muy parecida tanto en el vacío como en la atmósfera A. A los 9 días, estos resultados (tanto en el envasado a vacío como en la atmósfera A) fueron más bajos que en la atmósfera B. Esto probablemente puede ser debido al mayor porcentaje de  $CO_2$  que por su efecto bacteriostático y fungicida inhibe el crecimiento de este grupo microbiano.

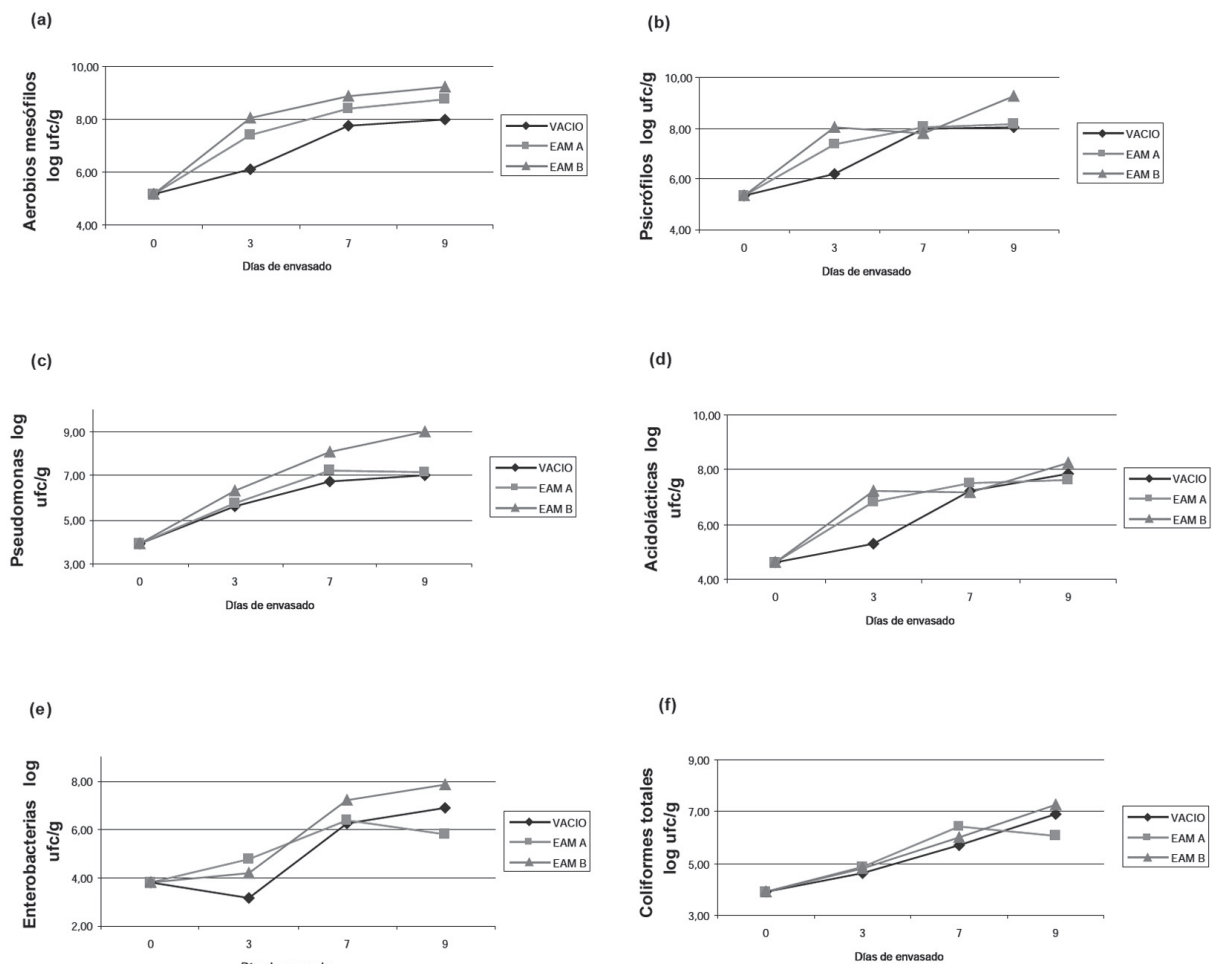
Las bacterias ácido lácticas son anaerobias facultativas que pueden crecer en altas concentraciones de  $CO_2$  y por lo tanto constituyen una parte importante de la microflora natural de las carnes tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas. En la fig. 1d se observan unos altos valores finales en los recuentos de este grupo microbiano en todos los envasados y para todas las muestras y que varían entre 7,62-8,27 log ufc/g. Estos resultados fueron similares a los obtenidos por Patsias y col. (2006) y probablemente sean debidos a que las bacterias ácido lácticas se ven favorecidas por las condiciones anaeróbicas donde representan la microbiota dominante (Blixt & Borch, 2002).

Por otro lado las enterobacterias y coliformes totales (fig. 1e y 1f), también se consideran unos indicadores de las condiciones higiénicas y/o almacenamiento inadecuado. Los recuentos iniciales para las enterobacterias fueron 3,79 y 3,90 para las enterobacterias fueron 3,79 y 3,90 para las enterobacterias fueron 3,79 y 3,90 para las enterobacterias fueron 3,79 y 3,90 para las enterobacterias fueron 3,79 y 3,90 para las enterobacterias fueron 3,79 y 3,90.

Después de los 7 días de almacenamiento a 4°C, todas las muestras presentaron signos evidentes de deterioro independientemente del envasado obteniendo valores superiores a 7 log ufc/g los cuales exceden el nivel máximo permitido según las directrices de la regulación 1441/2007 C.E.

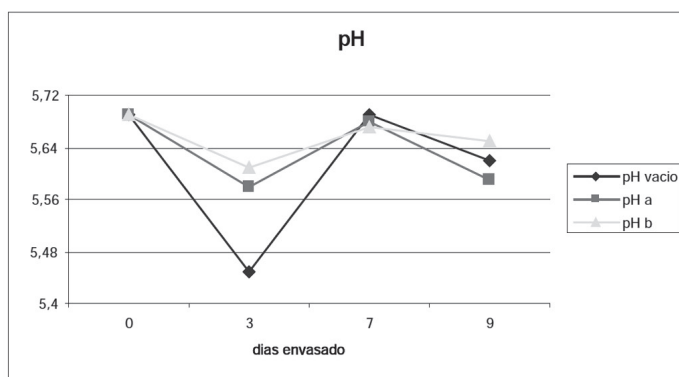
En general, se puede concluir que los recuentos más altos a lo largo de todo el período de almacenamiento se correspondieron con la atmósfera B: 80%/20%(O<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>) y los más bajos con el envasado a vacío. Esto se puede explicar porque las condiciones aeróbicas presentes en la atmósfera B favorecieron el crecimiento de bacilos Gram negativos entre los que predominan *Pseudomonas* spp., principal agente de deterioro de la carne refrigerada y cuando esta atmósfera aeróbica se sustituyó por otra anaeróbica (A) o vacío 25%/35%/40%(O<sub>2</sub>/N<sub>2</sub>/CO<sub>2</sub>) hubo un efecto bacteriostático sobre este grupo microbiano consiguiendo limitar su crecimiento y favoreciendo el crecimiento de otros grupos microbianos como son las bacterias ácido lácticas, de menor capacidad alterante (Sheridan y col., 1997; Cutter, 2002; Skandamis y Nychas, 2002; Kennedy y col., 2004; Patsias y col., 2006; Chouliara y col., 2007; Gitrakouet y col., 2008; Koutsoumanis y col., 2008; Ntzimani y col., 2008; Soldatou y col., 2009).

**Figura 1. Recuentos en las muestras y en los distintos envases almacenados a 4°C de: (a) aerobios mesófilos, (b) psicrófilos, (c) pseudomonas, (d) bacterias ácido lácticas, (e) enterobacterias, (f) coliformes totales**



En la Tabla 1 se muestran los valores de pH de los diferentes envasados. El valor de pH inicial para todas las muestras fue de 5,69, observándose un descenso durante los 3 primeros días, probablemente debido a la producción de ácido láctico por parte de las bacterias ácido lácticas (Gill, 1996) que precisamente durante esos días sufrieron un aumento en los recuentos realizados. Al final de la vida útil los valores de pH que se obtuvieron para vacío, atmósfera A y atmósfera B fueron de 5,69, 5,59 y de 5,65 respectivamente.

**Figura 2. Evolución del pH en los distintos envases durante el periodo de vida útil**



Los parámetros de color medidos a través de la Luminosidad (L\*), índice de rojo (a\*) e índice de amarillo (b\*), demostraron que el envasado no produjo variaciones en el color de la carne ni en el brillo ya que dichos índices sufrieron pequeñas oscilaciones durante el período de vida útil pero no significativas (p>0,05).

**Tabla 1. Valores de pH y color de la carne de Capón Villalba envasadas a vacío y dos atmósferas modificadas: A) 25% / 35% / 40% (O<sub>2</sub> / N<sub>2</sub> / CO<sub>2</sub>) y B) 80% / 20% (O<sub>2</sub> / CO<sub>2</sub>)**

	Envasado	Días almacenamiento a 4°C				SEM	SIG
		0	3	7	9		
pH	vacío	5,69±0,05	5,45±0,03	5,69±0,07	5,62±0,16	0,04	*
	A	5,69±0,05	5,58±0,09	5,68±0,08	5,59±0,14	0,03	n.s
	B	5,69±0,05	5,61±0,05	5,67±0,06	5,65±0,12	0,02	n.s
L*	vacío	72,6±3,71	73,7±1,70	73,4±2,25	74,5±1,74	0,64	n.s
	A	72,6±3,71	76,3±1,53	74,9±1,06	77,1±1,47	0,74	n.s
	B	72,6±3,71	72,9±0,55	74,5±1,40	74,7±0,99	0,58	n.s
a*	vacío	2,74±3,10	1,62±1,49	2,98±1,37	2,72±1,36	0,51	n.s
	A	2,74±3,10	0,35±0,10	0,37±0,07	0,43±0,28	0,49	n.s
	B	2,74±3,10	0,43±0,12	1,91±0,14	0,75±0,08	0,47	n.s
b*	vacío	35,7±4,54	30,5±5,48	34,3±3,68	31,7±3,56	1,24	n.s
	A	35,7±4,54	30,9±7,60	27,6±7,08	27,2±5,58	1,86	n.s
	B	35,7±4,54	30,9±6,83	32,7±2,92	25,5±4,86	1,65	n.s

## AGRADECIMIENTOS

Este proyecto fue financiado a través de la Conselleria de Medio Rural (FEADER, 2010/34). Los autores también quieren expresar su agradecimiento a la “Asociación de Criadores de Capón de Villalba”, especialmente a Capones Aurora, por suministrarnos los animales necesarios para realizar este estudio.

## BIBLIOGRAFÍA

ALONSO-CALLEJA, C., MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, B., PRIETO, M. y CAPITA, R. (2004). Microbiological quality of vacuum-packed retail ostrich meat in Spain. *Food Microbiology*, 21: 241-246.

BLIXT, Y., y BORCH, E. (2002). Comparison of shelf life of vacuum-packed pork and beef. *Meat Science*, 60: 371-378.

CARO, M., TORRES, M., SAN MARTIN, E. y NAVARRO, L. (2007). Seguridad Microbiológica en carne de pollo. *Alimentaria*, 386: 56-60.

CIRIA, J., ROMERA, J.A. y MARTIN, B. (2005). Características de la canal y de la carne de capones de la raza castellana negra. *Ganadería*, 36: 40-44.

CHOULIARA, E., KARATAPANIS, A., SAVVAIDIS, I.N. y KONTOMINAS, M.G. (2007). Combined effect of oregano essential oil and modified atmosphere packaging on shelf-life extension of fresh chicken breast meat, stored at 4°C. *Food Microbiology*, 24: 607-617.

CUTTER, C.N. (2002). Microbial control by packaging: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42: 151-161.

DOHERTY, M.A., SHERIDAN, J.J., ALLEN, P., MCDOWELL, D.A. y BALIR, I.S. (1996). Physical characteristics of lamb primals packaged under vacuum or modified atmospheres. *Meat Science*, 42: 315-324.

Microbiological aspects of modified-atmosphere packaging technology-a review.

FARBER, J.M. (1991). *Journal of Food Protection*, 54: 58-70.

GIATRAKOU, V., KYKKIDOU, S., PAPAVERGOU, A., KONTOMINAS, M.G. y SAVVAIDIS, I.N. (2008). Potencial of oregano essential oil and MAP to extend the shelf life of fresh swordfish: A comparative study with ice storage. *Journal of Food Science*, 73: 167-173.

GILL, C.O. (1996). Extending the storage of raw chilled meats. *Meat Science*, 43, S99-S109.

HINTON, J.R., CASON, J.A. y INGRAM, K.D. (2002). Enumeration and identification of yeasts associated with commercial poultry processing and processing and spoilage of refrigerated broiler carcasses. *Journal of Food Protection*, 65: 993-998.

ICMSF (1986). International Commission on Microbiological Specifications for foods Sampling plans for fish and shellfish. In: ICMSF (eds), *Microorganisms in Foods. Sampling for Microbiological Analysis: Principles and Scientific Applications*, Vol. 2, (2nd ed). University of Toronto Press, Toronto, Canada.

KENNEDY, C., BUCKLEY, D.J. y KERRY, J.P. (2004). Display life of sheep meats retail packaged under atmospheres of various volumes and compositions. *Meat Science*, 68: 649-658.

KRAFT, A.A. (1992). Psychrotrophic spoilage bacteria-Meat spoilage. En: A.A. Kraft (Ed.), *Psychrotrophic bacteria in food research and spoilage*. CRC Press, Boca Raton. Florida. EE.UU.

KOUTSOUMANIS, K.P., STAMATIOU, A.P., DROSINOS, E.H. y NYCHAS, G.-J.E. (2008). Control of spoilage microorganisms in minced pork by a self developed modified atmosphere induced by the respiratory activity of meat flora. *Food Microbiology*, 25: 915-921.

LORENZO, J.M., PURRIÑOS, L. TEMPERAN, S. BERMUDEZ, R. TALLON, S. y FRANCO, D. (2011). Physicochemical and nutritional composition of dry-cured duck breast. *Poultry Science*, 90: 931-940.

NARASIMHA RAO, D. y SACHINDRA, N.M. (2002). Modified atmosphere and vacuum packaging of meat and poultry products. *Food Reviews International*, 18: 263-293.

NTXIMANI, A.G., PALEOLOGOS, E.K., SAVVAIDIS, I.N. y KONTOMINAS, M.G. (2008). Formation of biogenic amines and relation to microbial flora and sensory changes in smoked turkey breast fillets stored under various packaging conditions at 4°C. *Food Microbiology*, 25, 509-517.

PATSIAS, A. CHOULIARA, I. BADEKA, A. SAVVAIDIS, I.N. KONTOMINAS, M.G. *Food Microbiology*, y (2006). Shelf-life of a chilled precooked chicken product stored in air and under modified atmospheres: Microbiological, chemical, sensory attributes. , 23: 423-429.

REGLAMENTO (CE) Nº 1000/96 DE LA COMISIÓN de 4 de junio de 1996 que modifica REGLAMENTO (CEE) No 1538/91 DE LA COMISIÓN de 5 de junio de 1991 que establece las disposiciones de aplicación del Reglamento (CEE) no 1906/90 por el que se establecen normas de comercialización aplicables a la carne de aves de corral.

REGLAMENTO (CE) Nº 1441/2007 DE LA COMISIÓN de 5 de diciembre de 2007 que modifica el Reglamento (CE) no 2073/2005 relativo a los criterios microbiológicos aplicables a los productos alimenticios.

SHERIDAN, J.J., DOHERTY, A.M., ALLEN, P., MCDOWELL, D.A., BLAIR, I.S. y HARRINGTON, D. (1997). The effect of vacuum and modified atmosphere packaging on the shelf-life of lamb primals, stored at different temperatures. *Meat Science*, 45: 107-117.

SILLIKER, J.H. y WOLFE, S.K. (1980). Microbiological safety considerations in controlled-atmosphere storage of meats. *Food Technology*, 34: 59-63.

SOLDATOU, N., NERANTZAKI, A., KONTOMINAS, M.G., SAVVAIDIS, I.N. (2009). Physicochemical and microbiological changes of "Souvlaki" – A Greek delicacy lamb meat product: Evaluation of shelf-life using microbial, colour and lipid oxidation parameters. *Food Chemistry*, 113: 36-42.

**SKANDAMIS, P.N. y NYCHAS, G.J.E.** (2002). Preservation of fresh meat with active and modified atmosphere packaging conditions. *International Journal of Food Microbiology*, 79: 35-45.

**SUNDHEIM, G., LANGSRUD, S. HEIR, E. y HOLCK, A.L.** (1998). Bacterial resistance to disinfectants containing quaternary ammonium compounds. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 41: 235-239.

**ZEITOUN, A.A.M., DEBEVERE, J.M. y MOSSEL, D.A.A.** (1994). Significance of Enterobacteriaceae as index organisms for hygiene on fresh untreated poultry, poultry treated with lactic acid and poultry stored in a modified atmosphere. *Food Microbiology* 11: 169-176.