

## Efecto de bacterias ácido lácticas termotolerantes probióticas sobre las características microbiológicas y sensoriales de batidos cárnicos.

N. Saucedo-Briviesca<sup>1</sup>, A. Cuesta<sup>2</sup> y M. L. Pérez-Chabela<sup>3</sup>.

**1** Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química. Av. Universidad 3000, Colonia del Carmen, Delegación Coyoacán. C.P. 04510, Ciudad de México, México. **2** Instituto Nacional de Tecnología Industrial. Av. General Paz 5445. CP 1650. San Martín, Buenos Aires, Argentina. **3** Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, Departamento de Biotecnología, Av. San Rafael Atlixco 186, Col. Vicentina, Delegación Iztapalapa. C.P.09340, Ciudad de México, México. lpch@xanum.uam.mx

### RESUMEN:

La utilización de bacterias ácido lácticas (BAL) en productos cárnicos cocidos puede contribuir a la prolongación de la vida útil de los mismos, ya que su crecimiento provoca un descenso del pH, creando condiciones desfavorables para la proliferación de microorganismos tales como los coliformes. En este estudio se evaluó el efecto que tiene la inoculación de dos cepas de bacterias ácido lácticas termotolerantes probióticas (BALT) *Enterococcus faecium* UAM1 y *Pediococcus pentosaceus* UAM5 sobre la cuenta de coliformes totales en batidos cárnicos durante 16 días de almacenamiento. Se realizó una prueba sensorial discriminativa para conocer si existía diferencia significativa entre un batido inoculado con BALT y un testigo sin BALT. Los resultados obtenidos indican que la utilización de BALT en la elaboración de batidos cárnicos alarga la vida de anaquel al inhibir a los coliformes. Al utilizar la mezcla de cepas se tiene una inhibición total de coliformes al día 6 de almacenamiento. Los batidos inoculados con *E. faecium* UAM1 fueron percibidos como diferentes, según la prueba triangular aplicada al jurado. La utilización de BALT con potencial probiótico en batidos cárnicos puede alargar la vida de anaquel y dar lugar a un alimento cárnico funcional de bajo costo.

**Palabras clave:** bacterias ácido lácticas, batidos cárnicos, coliformes.

### ABSTRACT:

The use of lactic acid bacteria (BAL) in cooked meat products can contribute to the prolongation of the shelf life, as their growth causes a decrease in pH, creating unfavorable conditions for the proliferation of microorganisms such as coliforms. In this study we evaluated the effect of inoculating two strains of probiotic lactic acid bacteria (BALT) *Enterococcus faecium* UAM1 and *Pediococcus pentosaceus* UAM5 on the total coliform count in meat batters during 16 days of storage. A discriminatory sensory test was performed to determine if there was a significant difference between a BALT-inoculated batter and a control without BALT. The results obtained indicate that the use of BALT in the preparation of meat batter's increases shelf life by inhibiting the coliforms. When using the strain mixture there is a total inhibition of coliforms at day 6 of storage. The batter inoculated with *E. faecium* UAM1 were perceived as different, according to the triangular test applied to the jury. The use of BALT with probiotic potential in meat shakes can extend shelf life and lead to a low cost functional meat food.

Keywords: Lactic acid bacteria, meat batters, coliform.

### INTRODUCCIÓN

La industria de la carne es una de las más importantes del mundo, ya sea por la demanda de los consumidores o por la intensa competencia en la industria, por lo que la investigación de nuevos productos es continua (Fernández y col., 2005). Los productos cárnicos son la manera más antigua utilizada para conservar la carne, debido a que es un alimento altamente perecedero y los métodos de conservación han venido evolucionando con el tiempo (Pérez-Chabela, 2014). Convertir la carne en embutidos, ayuda sin duda a la conservación, pero fundamentalmente produce en la carne un sabor agradable. Hoy en día los consumidores demandan alimentos más sanos y nutritivos, por lo que la industria cárnica está en la constante búsqueda de ingredientes funcionales que mejoren la calidad sensorial, nutricional, sanitaria y microbiana de los productos. La utilización de bacterias lácticas termotolerantes con potencial probiótico permitirá obtener un alimento cárnico cocido funcional.

Algunos embutidos curados como las salchichas son conocidos como “emulsiones cárnicas”, sin embargo, la mezcla de proteína, grasa y agua, no es una emulsión verdadera, por lo que es mejor usar el término “batido cárnico” (Barbut, 2015). La mezcla finamente triturada de carne, grasa y otros ingredientes da como resultado un producto de carne bastante homogéneo tras la desnaturalización por calor de las proteínas (Petracci y col., 2013).

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son microorganismos gram-positivos, no esporulados, catalasa negativa, carentes de citocromos, de hábitat anaeróbico, pero aerotolerante, nutricionalmente exigentes, ácido tolerantes y estrictamente fermentativos (Khalid, 2011). Tienen requerimientos nutricionales complejos debido a su limitada habilidad para sintetizar aminoácidos y vitamina B (Serna-Cock y Stouvenel, 2005). El proceso de acidificación debido a la producción de ácido láctico como principal metabolito de la fermentación de carbohidratos es uno de los efectos secundarios más deseables en algunos productos alimenticios, inhibiendo microorganismos incluyendo los patógenos humanos más comunes (Leroi, 2010). Algunas BAL responden a aumentos repentinos de temperatura mediante la síntesis de un pequeño conjunto de proteínas llamadas proteínas de choque térmico (Hsp, Heat shock proteins). Las Hsp protegen proteínas, membranas y otros componentes celulares durante el estrés por calor y facilitan la reparación y degradación de las proteínas desnaturalizadas después del evento estresante (Wang y col., 2004). Se sabe que varias Hsp funcionan como “chaperonas moleculares”, impidiendo la agregación y promoviendo el repliegamiento adecuado de las proteínas desnaturalizadas (Lomiwes y col., 2014).

El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto que tiene la utilización de BAL termotolerantes sobre las características sensoriales y microbiológicas (coliformes totales y BAL) de un batido cárnico. Las BAL termotolerantes son ideales para utilizarlas en productos cocidos, ya que al sobrevivir al tratamiento térmico podrían mejorar algunas características del producto final.

Los resultados de este trabajo muestran que las BAL termotolerantes utilizadas *E. faecium* UAM1 y *P. pentosaceus* UAM5 sobreviven el tratamiento térmico de los batidos cárnicos y son eficientes al inhibir a los coliformes totales por la producción de ácido láctico durante el almacenamiento. Los batidos inoculados con *E. faecium* UAM1 fueron sensorialmente diferentes en la prueba discriminativa. La utilización de BAL termotolerantes con potencial probiótico en batidos cárnicos puede alargar la vida de anaquel y dar lugar a un alimento cárnico funcional de bajo costo.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron dos cepas de bacterias ácido lácticas termotolerantes (BALT): *Enterococcus faecium* UAM1 y *Pediococcus pentosaceus* UAM5. Se prepararon cuatro lotes de batidos cárnicos por duplicado, uno con *P. pentosaceus* UAM5, otro con *E. faecium* UAM1, otro con la mezcla de ambas cepas y un testigo sin BALT.

Se utilizó una formulación básica que contenía carne magra de cerdo (50%), lardo (15%), sal (2%), fosfatos (0.3%), sal cura (0.3%), fécula de papa (5%), inóculo de BAL (5%) y hielo (22.4%). Se retiró la grasa y tejido conectivo de la carne y se trituró en una picadora de alimentos Robot Coupe R2 Ultra B3, se mezcló con los

demás ingredientes, usando la mitad de los fosfatos y la mitad del hielo durante un min, posteriormente se añadió el resto de los fosfatos y el hielo y se emulsionó durante 3 min más, cuidando la temperatura del batido ( $12\pm 2^{\circ}\text{C}$ ). Se agregó el inóculo (5%, que equivale a  $10^6$  UFC/g de batido) y se dejó en reposo a  $4^{\circ}\text{C}$  por 30 min. La mezcla se embutió en tripas de celulosa de 20 mm de diámetro y se cocieron en un baño de agua ( $80^{\circ}\text{C}$ ) por 14 min hasta alcanzar una temperatura interna de  $70\pm 2^{\circ}\text{C}$ , se enfriaron en un baño de hielo, se desfundaron y fueron empacadas al vacío para ser almacenadas por 16 días a  $4^{\circ}\text{C}$ . Se realizó una cuenta de bacterias ácido lácticas y coliformes totales a los días 1, 6, 13 y 16 de almacenamiento. Al día uno se realizó una evaluación sensorial discriminativa.

### Cuenta de BAL y coliformes totales

Se utilizó la técnica de extensión superficial en placa (NOM-110-SSA1-1994) para determinar el conteo microbiano de bacterias ácido lácticas totales en Agar MRS (De Man y col., 1960) y de coliformes totales en Agar Bilis Rojo Violeta con lactosa según la NOM-113-SSA-1-1994.

### Análisis sensorial

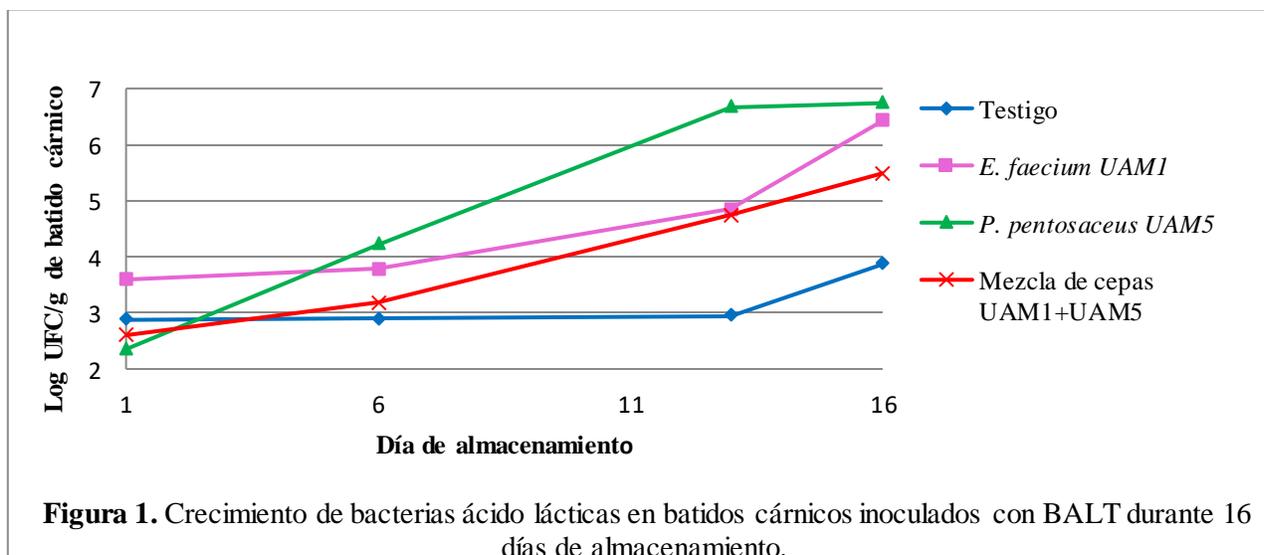
Se realizó una prueba triangular a 30 panelistas no entrenados, estudiantes de la UAM-I. A los cuales se les presentaron tres muestras codificadas (dos iguales y una diferente) utilizando seis posibles combinaciones de muestras: ABB, BAA, AAB, BBA, ABA, BAB (Lawless y Heymann, 2010).

El análisis estadístico de dicha prueba sigue una distribución binomial de una cola, en donde la probabilidad de acierto al azar es de  $1/3$ , necesitando 15 aciertos para obtener una diferencia perceptible entre las muestras con un  $\alpha=0.05$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Cuenta de bacterias ácido-lácticas

La figura 1 muestra el crecimiento de bacterias ácido lácticas, en donde se observa que los batidos cárnicos cocidos inoculados con BALT tienen una cuenta mayor que el testigo, evidenciando así la sobrevivencia y crecimiento de las BALT en los batidos cárnicos cocidos.



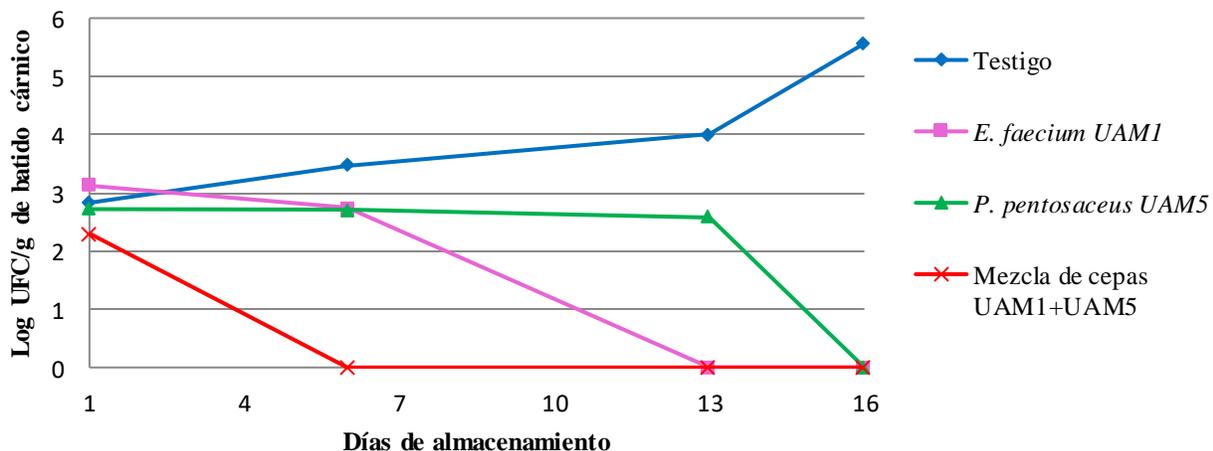
Considerando que se inocularon  $10^6$  UFC de BALT/g de batido cárnico, una parte de esta cuenta se recuperó del tratamiento térmico y crecieron satisfactoriamente en el producto cárnico. Es normal que se tengan BAL en el testigo, debido a la microbiota natural de la carne fresca con la que se elaboraron los batidos cárnicos, sin embargo, existe una diferencia de más de dos ciclos logarítmicos en los batidos cárnicos cocidos inoculados con *E. faecium* UAM1 y *P. pentosaceus* UAM5. Estos resultados concuerdan con los obtenidos por Victoria-León y col. (2006) donde la población de las BAL aumentó respecto al tiempo de almacenamiento en los batidos cárnicos cocidos inoculados con BALT. Los resultados de Díaz-Vela y col. (2015) también tuvieron un aumento en la cuenta de las BALT respecto al tiempo de almacenamiento.

### Cuenta de coliformes totales

La presencia de coliformes totales en alimentos de origen animal indica fuentes de contaminación ambiental, ya que estos microorganismos son abundantes en el medio ambiente. El grupo de coliformes comprende cuatro géneros *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter* y *Citrobacter* (Pal, 2014). Entre los coliformes, *Escherichia coli* es el microorganismo más común y es un indicador de la contaminación fecal del agua y los alimentos (Daly y col., 2013).

La figura 2 muestra que el recuento de coliformes totales fue menor en las muestras inoculadas con BALT que en el testigo durante el almacenamiento. La inoculación de BALT tuvo un efecto benéfico en la vida de anaquel, debido a que estas inhiben el crecimiento de coliformes totales, siendo en este grupo de microorganismos un indicador de la calidad microbiológica. El ácido láctico producido durante la fermentación tiene propiedades antimicrobianas por lo que pudiera estar inhibiendo el crecimiento de coliformes. La producción de ácido es uno de los métodos más antiguos para influir en el crecimiento de bacterias Gram-negativas (Helander y col., 1997). Resultados similares fueron reportados por Pérez-Chabela y col. (2008) en donde se tuvo una reducción significativa de enterobacterias al día 12 de almacenamiento en productos cárnicos inoculados con cepas de bacterias lácticas termotolerantes (*L. curvatus*, *L. plantarum*, *P. acidilactici* y *P. pentosaceus*).

Al utilizar la mezcla de cepas UAM1+UAM5 se tiene una inhibición total de los coliformes totales al día 6 de almacenamiento, por lo que pudiera existir una sinergia en cuanto a la eliminación de este grupo de microorganismos.



**Figura 2.** Cuenta de coliformes totales en batidos cárnicos inoculados con BALT durante 16 días de almacenamiento.

**Análisis Sensorial**

El análisis sensorial fue aplicado a 30 panelistas con un intervalo de edad de entre 20-30 años, de los cuales 20 fueron mujeres y 10 hombres. Todos los panelistas son consumidores de salchichas y de estos, el 80% las consumen una vez a la semana. La prueba triangular es una prueba discriminativa que permite determinar si existe diferencia sensorialmente perceptible entre dos muestras, comparando tres muestras a la vez. Los resultados se muestran en la tabla I.

**Tabla I.** Resultados del análisis sensorial de batidos cárnicos cocidos inoculados con BALT (Prueba triangular).

Batido cárnico inoculado con BALT	Aciertos	Diferencia significativa
<i>E. faecium</i> UAM1	15	SI
<i>P. pentosaceus</i> UAM5	7	NO
Mezcla de cepas UAM1+UAM5	9	NO

Los batidos cárnicos cocidos inoculados con *E. faecium* UAM1 presentaron diferencia significativa sensorialmente, es decir, se percibió diferente. Algunos estudios indican que la presencia de *E. faecium* en quesos tradicionales del Mediterráneo han tenido una contribución positiva en cuanto a la formación de sabor y esto está relacionado con la fermentación del citrato y la producción de compuestos aromáticos, esta cepa de *Enterococcus faecium* sintetiza lactato como producto final mayoritario (17.48 mmol/L), además produce pequeñas cantidades de etanol (0.18 mol), acetato (0.58 mol) y componentes de sabor como diacetilo, acetoina y 2,3-butanediol (15.81 µmol/L) (Cabral y col., 2007). Estos componentes de sabor deben estar afectando en la percepción sensorial de los panelistas, por lo que es detectable.

**BIBLIOGRAFÍA**

Barbut, S. (2015). Principles of meat processing. In *The science of poultry and meat processing* (pp. 29-54).

Cabral, M. E., Mukdsi, M. C. A., Medina de Figueroa, R. B., & González, S. N. (2007). Citrate metabolism by *Enterococcus faecium* and *Enterococcus durans* isolated from goat's and ewe's milk: influence of glucose and lactose. *Canadian journal of microbiology*, 53(5), 607-615.

Daly, E., Kolotelo, P., Schang, C., Osborne, C. A., Coleman, R., Deletic, A., & McCarthy, D. T. (2013). *Escherichia coli* concentrations and loads in an urbanised catchment: the Yarra River, Australia. *Journal of Hydrology*, 497, 51-61.

De Man, J.C., Rogosa, M. & Sharpe, M. E., (1960). A medium for the cultivation of Lactobacillus. *Journal of Applied Bacteriology*, 23(1), 130-135.

Díaz-Vela, J., Totosaus, A., & Pérez-Chabela, M. L. (2015). Integration of agroindustrial co-products as functional food ingredients: cactus pear (*Opuntia ficus indica*) flour and pineapple (*Ananas comosus*) peel flour as fiber source in cooked sausages inoculated with lactic acid bacteria. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 2630-2638.

Fernández, J. M., Fernández, J., Sayas, E., & Pérez-Alvarez, J. (2005). Meat products as functional foods: A review. *Journal of food science*, 70(2), R37-R43.

Helander, I., Von Wright, A., & Mattila-Sandholm, T. M. (1997). Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobials against Gram-negative bacteria. *Trends in Food Science & Technology*, 8(5), 146-150.

Khalid, K. (2011). An overview of lactic acid bacteria. *International Journal of Biosciences*, 1(3), 1-13.

Lawless, H. & Heymann, H. (2010). Sensory Evaluation of Food. Principles and practices, Chapter 4. Discrimination testing. 2nd Edition. (Ed.), Springer, Food Science Texts Series. Pp 79-84.

Leroi, F. (2010). Occurrence and role of lactic acid bacteria in seafood products. *Food Microbiology*, 27, 698-709.

Lomiwes, D., Farouk, M. M., Wiklund, E., & Young, O. A. (2014). Small heat shock proteins and their role in meat tenderness: A review. *Meat Science*, 96(1), 26-40.

## Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos

- NOM-110-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Preparación y Dilución de Muestras de Alimentos para su Análisis Microbiológico. Norma Oficial Mexicana. México.
- NOM-113-SSA1-1994, Bienes y Servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
- Pal, P. (2014). Detection of coliforms in drinking water and its effect on human health-A review. *International Letters of Natural Sciences*, 12(2).
- Pérez-Chabela, M. D. L., Totosaús, A., & Guerrero, I. (2008). Evaluation of thermotolerant capacity of lactic acid bacteria isolated from commercial sausages and the effects of their addition on the quality of cooked sausages. *Food Science and Technology (Campinas)*, 28(1), 132-138.
- Pérez-Chabela, M. L. (2014). Carnes y productos cárnicos. En: Microbiología de los alimentos. Guerrero, I., Wachter, C., García, B., Regalado, C. (Eds.) Editorial LIMUSA. México, 125.
- Petracci, M., Bianchi, M., Mudalal, S., & Cavani, C. (2013). Functional ingredients for poultry meat products. *Trends in food science & technology*, 33(1), 27-39.
- Serna-Cock, L., & Stouvenel, A. R. D. (2005). Biotechnological production of lactic acid: state of the art. *CYTA-Journal of Food*, 5(1), 54-65.
- Victoria-León, T., Totosaús, A., Guerrero, I., & Pérez-Chabela, M. L. (2006). Efecto de bacterias ácido lácticas termoresistentes en salchichas cocidas. *CYTA-Journal of Food*, 5(2), 135-141.
- Wang, J., & Chen, L. (2003). Domain motions in GroEL upon binding of an oligopeptide. *Journal of molecular biology*, 334(3), 489-499.