



Nacameh

Vocablo náhuatl para “carnes”

Volumen 1, Número 2, Junio 2007

Difusión vía Red de Computo semestral sobre Avances en Ciencia y Tecnología de la Carne

Derechos Reservados[©] MMVII

ISSN: 2007-0373

<http://cbs.izt.uam.mx/nacameh/>



http://www.geocities.com/nacameh_carnes/index.html

ISSN DIFUSIÓN PERIODICA VIA RED DE CÓMPUTO: 2007-0373

NACAMEH, Vol. 1, No. 2, pp. 87-96, 2007

Utilización de bacterias lácticas termoresistentes como probióticos en productos cárnicos cocidos*

María de Lourdes Pérez-Chabela y Norma Leticia Ramírez Chavarín

*Bioquímica de Macromoléculas, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa.
Av. San Rafael Atlixco 186, Iztapalapa 09340, Ciudad de México, Distrito Federal.
Autor para Correspondencia: lpch@xanum.uam.mx.*

Introducción

Entre la diversidad de microorganismos que se encuentran en los alimentos naturales o procesados, las bacterias lácticas conforman un grupo especial. Estas bacterias pueden localizarse en los alimentos como hábitat de forma natural o bien añadidas intencionalmente con fines de conservación. Varias bacterias reconocidas como patógenas que causan infecciones o intoxicaciones asociadas al consumo de alimentos, o como responsables de descomposición, pueden ser inhibidas a través del desarrollo previo o concurrente de algunas cepas de bacterias lácticas. Este fenómeno ocurre lo mismo en alimentos en que tienen de manera natural (ambos tipos de microorganismos: bacterias contaminantes y lácticas) que en productos a los que se adicionan cultivos iniciadores o controlados de bacterias lácticas. A veces, este alimento procesado adquiere incluso cualidades más aceptables para el consumidor. En otras ocasiones, los beneficios se ven contrarrestados porque tales cambios dañan el valor comercial del producto.

Las bacterias lácticas producen una serie de sustancias antimicrobianas responsables de la estabilidad de los alimentos fermentados. La capacidad de las bacterias lácticas para producir ácidos orgánicos, con el consecuente descenso del pH, es el factor principal de inhibición de otros microorganismos en los productos fermentados.

* Derivado de la Conferencia "Utilización de bacterias lácticas termoresistentes como probióticos en productos cárnicos cocidos", por la Dr. Pérez-Chabela, presentada en el Coloquio en Ciencia y Tecnología de la Carne y Productos Cárnicos 2006, Universidad Simón Bolívar.

Otros compuestos del metabolismo de las bacterias lácticas, como el peróxido de hidrógeno, el diacetilo y la reuterina, pueden contribuir de forma general a la conservación de los alimentos fermentados. Además, las bacterias lácticas pueden producir sustancias antimicrobianas de naturaleza proteica, conocidas como bacteriocinas. Los logros alcanzados en el estudio de bacteriocinas aumentan las posibilidades de mejorar genéticamente a las bacterias lácticas para su uso como conservadores de grado alimentario.

En nuestro país, existe una gran diversidad de productos cárnicos, en especial de embutidos cocidos, como son las salchichas. Dichos productos tienen una vida de anaquel muy corta, ya que se contaminan desde el inicio del proceso por no observar Buenas Prácticas de Manufactura durante el manejo de materias primas y fabricación, o bien pueden sufrir recontaminación una vez finalizado el proceso térmico durante su venta a granel.

El tratamiento por calor se aplica en los embutidos para la gelificación de la estructura proteica característica de los batidos cárnicos, para eliminar microorganismos, inactivar enzimas y obtener características sensoriales deseadas (color, sabor, textura). Dentro del procesamiento de un producto cárnico, el tratamiento térmico es fundamental para la obtención de un producto higiénicamente estable. Sin embargo, este proceso no resuelve todos los problemas ya que una cuenta bacteriana alta no se destruirá totalmente durante el tratamiento térmico, y las bacterias remanentes disminuirán la vida de anaquel del producto, además de que antes de ser exterminadas ya han producido enzimas, toxinas o incluso esporas.

Antecedentes

Bacterias lácticas

Las bacterias lácticas son distinguidas por las siguientes propiedades generales:

- a) Gram positivas
- b) No esporuladas
- c) Microaerofilicas o anaerobias facultativas
- d) No reducen nitratos
- e) No producen catalasa

- f) Poca actividad proteolítica
- g) Fermentan los azúcares en diferentes condiciones.

Hay homofermentativas y heterofermentativas, donde las primeras tienen como metabolito primario al ácido láctico. Este grupo homofermentativo posee las enzimas aldolasa y hexosa-isomerasa, pero carecen de la fosfoacetolasa. Ellos usan la ruta de Embden-Meyerhoff-Parnas para la producción de dos moléculas del ácido láctico por cada molécula de glucosa consumida. Estas bacterias solo forman pequeñas cantidades de otros metabolitos diferentes del ácido láctico el cual representa del 90 al 97% de la lactosa fermentada. El grueso de este grupo lo forman los géneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* y *Streptococcus*. La clasificación de las bacterias lácticas dentro de diferentes géneros está basada en la morfología, en la manera de fermentar la glucosa, crecimiento a diferentes temperaturas, configuración en el ácido láctico producido, habilidad de crecer a altas concentraciones, tolerancia a la sal o alcalinidad (Dekker, 1993).

Producción de metabolitos

Entre los principales metabolitos que producen las bacterias lácticas están compuestos de bajo peso molecular y sustancias que inhiben a otros microorganismos. A continuación se describen los principales:

Ácidos orgánicos.- Principalmente ácido láctico y acético. Estos contribuyen al desarrollo del sabor aroma y textura de los alimentos. El ácido láctico es el producto característico de la fermentación de las bacterias lácticas, el cual puede reducir el pH a un nivel en el que muchas otras bacterias inhiben en su desarrollo. El ácido acético tiene una inhibición más fuerte que el ácido láctico a una dada concentración molar y pH. Este solo es producido en bacterias lácticas heterofermentativas y se encuentra en pequeñas concentraciones (Helander y col., 1997).

Peróxido de hidrógeno.- El efecto bactericida resultante de estos metabolitos del oxígeno ha sido atribuido no solo a su fuerte efecto oxidante en la célula bacteriana, sino también a la destrucción de estructuras básicas moleculares de ácido nucleicos y proteínas celulares (Requena y Peláez, 1995).

Diacetilo.- Es producido por algunas especies de *Lactococcus*, *Leuconostoc* por el metabolismo del ácido cítrico. Debido a su aroma intenso, el diacetilo tiene poco potencial para la preservación en alimentos (Holzapfel y col., 1995).

Reuterina.- Es producida por *Lactobacillus reuteri* y muestra un amplio espectro antimicrobiano, siendo activo contra bacterias Gram negativas, Gram positivas, levaduras y hongos filamentosos (Helander y col., 1997).

Acetaldehído.- Es formado durante el metabolismo de carbohidratos por bacterias lácticas heterofermentativas, es reducido a etanol por la reoxidación de nucleótidos de piridina. Ha sido reportado como inhibidor sobre algunos patógenos en concentraciones de 10-100 ppm (De Vuyst y Vandamme, 1984).

Bacteriocinas.- Pueden ser definidas como un grupo de potentes péptidos antimicrobianos de naturaleza proteica, activos primariamente contra microorganismos cercanamente relacionados. Son producidos ribosomalmente como metabolitos secundarios y probablemente son inactivadas por proteasas en el tracto gastrointestinal. En la Tabla 1 se listan estos metabolitos, sus mecanismos de inhibición y los microorganismos sensibles. Una amplia descripción de estos compuestos puede encontrarse en Schneider (2007).

Aplicación de bacterias lácticas en productos cárnicos.

El grado de crecimiento y la competitividad de una cepa o microorganismo son determinados por su adaptación a un sustrato y por otros factores intrínsecos y extrínsecos, incluyendo el potencial redox, la actividad de agua, el pH y la temperatura. El antagonismo que producen las bacterias lácticas se refiere a la inhibición de otros microorganismos (pueden ser patógenos) causada por la competencia de nutrientes y por la producción de metabolitos antimicrobianos (Holzapfel y col., 1995). En los productos cárnicos fermentados y curados la producción de ácido láctico por parte de las bacterias lácticas, la sal, el nitrito y el nitrato, los azúcares aplicados en la salmuera, así como el proceso final de secado dan como resultado la disminución del pH y la actividad de agua del producto, y pueden actuar como antimicrobianos, estabilizando al producto y al mismo tiempo le confieren un aroma y sabor característico (Hugas y col., 1996; Garriga y col., 1998).

Tabla 1. Compuestos antimicrobianos de bajo peso molecular producidos por bacterias lácticas (adaptada de Helander y col., 1997)		
Compuestos	Microorganismos productores	Microorganismos sensibles
Ácido láctico	Todas las bacterias lácticas	Todos los microorganismos
Ácido acético	Bacterias lácticas Heterofermentativas	Todos los microorganismos; dependientes del pH
Alcoholes	Levaduras, bacterias lácticas heterofermentativas	Todos los microorganismos
CO ₂	Bacterias lácticas heterofermentativas	La mayoría de los microorganismos
Diacetilo	<i>Lactococcus sp.</i>	Levaduras, bacterias Gram (-) a concentraciones \geq 200ppm, bacterias Gram (+) a concentraciones \geq 300ppm
Peróxido de hidrógeno	Todas las bacterias lácticas	Todos los microorganismos
Reuterina	<i>Lactobacillus reuteri</i>	Amplio espectro: bacterias Gram (+), bacterias Gram (-) y hongos
Sidosporas	Algunas bacterias anaerobias facultativas, la mayoría de las aerobias, incluyendo <i>Pseudomonas sp.</i> y <i>Staphylococcus sp.</i>	Microorganismos dependientes de las moléculas de hierro
Ac. benzoico	Lactobacillus plantarum	<i>Pantoea agglomerans</i> (bacteria Gram(-), <i>Fusarium avenaceum</i>
Ác. mevalónico		
Lactona		
Metilhidantoina		

Bacterias lácticas y altas temperaturas

Las bacterias lácticas muestran un comportamiento irregular en su estabilidad frente al calor. Generalmente son clasificadas como microorganismos resistentes al frío. Sin embargo, existen estudios, que han demostrado su resistencia a temperaturas elevadas. Se ha encontrado que al

calentar la leche a 71 °C los lactobacilos se destruyen en 17 segundos, sin embargo, hay otros autores que afirman que no hay destrucción, incluso a temperaturas más altas (Noskowa, 1972). Por otra parte, el tratamiento térmico produce en las células bacterianas una gran variedad de cambios estructurales y funcionales, que en determinadas condiciones, ocasionan su muerte. La muerte o inactivación bacteriana ha sido definida como el cese de la división celular, con la consiguiente ausencia de colonias visibles en placas de un medio nutritivo. La metodología que se ha empleado para estudiar los mecanismos de inactivación térmica han consistido en determinar las alteraciones que el calor produce en los diferentes componentes celulares (proteínas, ácido ribonucleico, y membrana celular) y establecer su relación con la viabilidad celular (Pellón y col., 1981).

Se llama daño térmico al cuadro fisiológico transitorio producido en un microorganismo por un calentamiento moderado y que se traduce en una serie de lesiones a todos los niveles celulares. Estas lesiones pueden ser reparadas posteriormente, recuperando el microorganismo su estado fisiológico normal, seguido de crecimiento y división. La evidencia del daño térmico debe desaparecer cuando la célula vuelve a crecer y dividirse, por lo que queda desechado como mecanismo de daño térmico cualquier posibilidad de cambios permanentes debido a mutaciones. Varios factores influyen la resistencia térmica de los microorganismos (Stumbo, 1973; Adams y Marteau, 1995), entre estos citaremos:

- Las células que se hayan en una fase estacionaria son más termorresistentes que las células que se hayan en la fase logarítmica.
- El pH del medio debido a que las células tienden a presentar mayor termosensibilidad a medida que el pH del medio aumenta por encima de 8.0 o disminuye por debajo de 6.0
- Concentración de sal.
- Concentración de azúcares y carbohidratos y la disminución del A_w por medio de desecación o de la adición de estos solutos aumenta la termorresistencia.
- Concentración de grasas.
- Agentes usados en carnes curadas.

La Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC, por sus siglas en inglés) mide la diferencia entre el flujo de calor a una muestra y a una celda de referencia que es sujeta a un mismo intervalo de temperatura. Esta técnica ha sido empleada para detectar transiciones de proteínas aisladas y organelos celulares. Lepock y col., (1990) realizaron estudios sobre las transiciones termotrópicas en el mesófilo *Bacillus megaterium*, dos cepas termófilas de *Bacillus stearothermophilus* y el psicotrófico *Bacillus psychrophylus*, mediante DSC. Estos investigadores identificaron las transiciones de proteínas, lípidos y DNA y las compararon con las temperaturas de crecimiento.

Probióticos

El concepto de alimento probiótico siendo parte del concepto de un alimento funcional se debe a la cooperación exitosa de la industria alimentaria e investigación en la ciencia y tecnología de los alimentos así como en la nutrición clínica. Los probióticos se han aplicado principalmente en productos lácteos, tales como yogurt y otros productos derivados de la leche así como también en cereales (Saxelin, 2000). El uso de probióticos en el mundo se ha venido incrementando debido a los efectos benéficos que tiene en el organismo, sin embargo, esto se ha probado principalmente en productos lácteos y cereales pero no existen investigaciones de su uso en productos cárnicos. Los probióticos son definidos como alimentos que contienen microorganismos vivos que activamente realzan la salud de los consumidores por mejorar el balance de la microflora en el intestino (Fuller, 1992). Para proveer beneficios para la salud, la concentración sugerida de una bacteria probiótica a un producto es de 10^6 UFC/g (Shah, 2000). Entre los criterios que se toman para poder considerar a un microorganismo como probiótico están: a) Sobrevivencia a través del tracto gastrointestinal, a pH bajo y en contacto con bilis; b) Adhesión a las células epiteliales intestinales; c) Estabilización de la microflora intestinal; d) No patogenicidad; e) Sobrevivencia en alimentos y posibilidad para producción de preparaciones liofilizadas; f) Multiplicación rápida con permanente o temporaria colonización del tracto gastrointestinal; y g) Géneros específicos de probióticos (Tomasik y Tomasik, 2003).

La actividad antagónica de las bacterias lácticas resulta de la formación de ácidos y la producción de bacteriocinas. La producción de ácido láctico y acético lleva a disminuir el pH del medio el cual inhibe el crecimiento de

microorganismos patógenos y deteriorantes (Lee y Salminen, 1995). Se sabe que la glucosa, galactosa y lactosa son la mejor fuente de carbono para las bacterias lácticas (Saarela y col., 2003). Los principales microorganismos usados como probióticos son: *Lactobacillus acidophilus*, cepas Shirota *L. casei*, *L. delbrueckii ssp. bulgaricus*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *L. reuteri*, *Bifidobacteria adolescenti*, *B. bifidum*, *B. brevis*, *B. infantis*, *B. longum*, *B. lactis*, *Saccharomyces boulardii* y *Streptococcus thermophilus* (Klaenhammer y Kullen, 1999).

Las condiciones ácidas en el estómago aún pueden incrementar la actividad de estos compuestos antimicrobianos (Ganzle y col., 1999). El efecto probiótico de las bacterias lácticas puede parcialmente basarse en la producción de concentraciones relevantes de ácido láctico en el microambiente el cual en combinación con sales biliares inhibe el crecimiento de bacterias patógenas Gram negativas (Alakomi y col., 2000). El mecanismo exacto por el cual una cepa probiótica interactúa con otra bacteria en el tracto gastrointestinal o con la mucosa del tracto gastrointestinal por si mismo no es conocido (Havenaar y col., 1992, Fuller, 1992; Playne, 1995; Berg, 1998; von Wright y Salminen, 1999). Työppönen y col. (2003) estudiaron el efecto bioprotector y probiótico de las bacterias lácticas en productos cárnicos fermentados ellos encuentran que la producción de metabolitos y compuestos de bajo peso molecular pueden ser una de las características para la exclusión de patógenos y la sobrevivencia de las bacterias lácticas en el intestino para expresar el efecto probiótico del huésped, aunque el producto fue un embutidos fermentados sin tratamiento térmico.

Conclusión

Con el uso de bacterias lácticas termorresistentes en embutidos cocidos podríamos darle un valor nutritivo adicional a estos productos sin afectar su valor económico y aumentar también su vida de anaquel.

Referencias

- ADAMS, M. Y MARTEAU, P. 1995. On the safety of lactic acid bacteria from food. *Internacional Journal of Food Microbiology*, 27, 263-264.
- ALAKOMI, H. L., SKYTТА, E., SAARELA, M., MATTILA-SANDHOLM, T., LATVA-KALA, K., HELANDER, I. 2002. Lactic acid permeabilizes Gram-negative

- bacteria by disturbing the outer membrane. *Applied Environmental Microbiology*, 66, 2001-2005.
- BERG, R. 1998. Probiotics, prebiotics or conbiotics. *Trends Microbiology*, 6, 89-92.
- BHUNIA, A. K., JOHNSON, M.C. Y RAY, B. 1988. Purification, characterization and antimicrobial spectrum of bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici*. *Journal Applied Bacteriology*, 65, 261-268.
- CRUZ, H.C. 1996. Aceites comestibles, mantequillas y margarinas: un estudio calorimétrico. Tesis de Licenciatura. Facultad de Química. UNAM.
- DE VUYST, L., Y VANDAMME, E. 1984. Bacteriocins of lactic acid bacteria. Microbiology, genetics and applications. Blackie Academic & Professional. Chapman & Hall. First Edition.
- DEKKER, M. 1993. Lactic Acid Bacteria, Classification and Physiology. Edited by Seppo Salminen. New York.
- EHRMANN, M.A., KURZAK, P., BAUER, J. Y VOGEL, R.F. 2002. Characterization of lactobacilli towards their use as probiotic adjuncts in poultry. *Journal of Applied Microbiology*, 92, 966-975.
- FULLER, R. 1973. Ecological studies on the lactobacillus flora associated with the crop epithelium of the fowl. *Journal of Applied Bacteriology*, 36, 131-139.
- GANZLE, M., HERTEL, C., VAN DER VOSSSEN, J., HAMMES, W. 1999. Effect of bacteriocin-producing lactobacilli on the survival of *Escherichia coli* and *Listeria* in a dynamic model of the stomach and the small intestine. *International Journal of Food Microbiology*, 48, 21-35.
- GARRIGA, M., AYMERICH, T., COSTA, S., GOU, P., MONFORT, J., HUGAS, M. 1998. Bioprotective cultures in order to prevent slime in cooked meat products. Proceedings of 444th International Conference of Meat Science and Technology. Barcelona, España. 328-329.
- HAVENAAR, R., TEN BRINK, B., HUIS IN T VELD, J., 1992. Selection of strains for probiotic use. In: Fuller, R., (Ed). *Probiotics: The Scientific Basis*. Chapman & Hall, London, England, pp. 209-224.
- HELANDER, Y., VON WRIGHT, A., MATTILA, T. 1997. Potential of lactic acid bacteria and novel antimicrobials against Gram-negative bacteria. *Trends in Food Science and Technology*, 146-150.
- HOLZAPFEL, W.H., GEINSEN, R., SCHILLINGER, U. 1995. Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food grade enzymes. *International Journal of Food Microbiology*, 24, 343-362.
- HUGAS, M., GARRIGA, M., AYMERICH, T., MONFORT, J. 1998. Inhibition of *Listeria* in dry fermented sausages by the bacteriocigenic *Lactobacillus sake* CTC494. *Journal of Applied Bacteriology*, 79, 322-330.

- HUGAS, M., NEUMEYER, B., PAGÉS, B., GARRIGA, M., HAMMES, W. 1996. Comparison of bacteriocin producing lactobacilli on *Listeria* growth in fermented sausages. *Fleischwirtschaft*, 76, 649-662.
- KLAENHAMMER, T., R., AND KULLEN, M., J. 1999. Selection and design of probiotics. *International Journal of Food Microbiology*, 50, 45-57.
- LEE, Y.,K., SALMINEN, S. 1995. The coming of age of probiotics. *Trends in Food Science and Technology*, 6, 241-302.
- LEPOCK, J., FREY, H., INNIS, W. 1990. Thermal analysis of bacteria by differential scanning calorimetry: relationship of protein denaturation in situ to maximum growth temperature. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1955, 19-26.
- NOSKOWA, G.L. 1972. *Microbiología de las carnes conservadas por el frío*. Editorial Acribia, Zaragoza, España.
- PELLÓN, J., SANZ, B., GÓMEZ, R. 1981. Daño térmico y viabilidad celular en bacterias. *Revista Agroquímica de tecnología alimentaria*, 21(2), 211-225.
- PLAYNE, M., 1995. Probiotics microorganisms. *Resents Advanced in Microbiology*, 3, 215-254.
- REQUENA, T., PELÁEZ, C. 1995. Actividad antimicrobiana de bacterias lácticas. Producción de bacteriocinas. *Revista Española de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 35(1), 19-44.
- SAARELLA, M., HALLAMAA, K., MATTILA-SANDHOLM, T., MATTO, J. 2003. The effect of lactulose lactitol and lactobionic acid on the functional and technological properties of potentially probiotic *Lactobacillus* strains. *International Dairy Journal*, 13, 291-302.
- SAXELIN, M. 2000. Clinical documentation, product development and marketing of *Lactobacillus* GG. *Journal of Nutrition*, 44, 102.
- SCHNEIDER, R. 2007. Aplicación de bacteriocinas en el control de contaminación de la carne. *Nacameh* 1(1): 41-52.
- SHAH, N. P., 2000. Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science*, 83, 894-907.
- STUMBO, C.R. 1973. *Thermobacteriology in Food Processing*. Academic Press, New York.
- TOMASIK, P. J. Y TOMASIK, P. 2003. Probiotics and Prebiotics. *Cereal Chemistry*, 80(2), 113-117.
- TYÖPPÖNEN, S., PENTÄJÄ, E. Y MATTILA, S. T. 2003. Bioprotectives and probiotics for dry sausage. *International Journal of Food Microbiology*, 83, 233-244.
- VON WRIGHT, A., SALMINEN, S. 1999. Probiotics: established effects and open questions. *Journal of Gastroenterology Hepatology*, 11, 1195-1198.