

Nacameh

Publicación electrónica arbitrada en Ciencia y Tecnología de la Carne
cbs.izt.uam.mx/nacameh
ISSN 2007-0373

NACAMEH Vol. 11, No. 1, pp. 1-17, 2017

Efecto de bacterias lácticas termotolerantes probióticas sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales en batidos cárnicos cocidos

Effect of probiotic thermotolerant lactic bacteria on the physicochemical, microbiological and sensorial characteristics of cooked meat batters

Nallely Saucedo Briviesca^{1,i}, Alicia Irene Cuesta^{2,ii}, María de Lourdes Pérez Chabela^{3,iii,✉}

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. ✉ Autor de correspondencia:


lpch@xanum.uam.mx. Fecha de recepción: 01/05/2017. Fecha de aceptación: 30/07/2017.

Resumen

Algunas bacterias ácido lácticas (BAL) pueden sobre-expresar proteínas del choque térmico con lo que sobreviven el tratamiento térmico de los productos cárnicos. El objetivo de este trabajo fue conocer el efecto de las BAL termotolerantes probióticas sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales en un batido cárnico. Se utilizaron 2 BAL termotolerantes probióticas: *Pediococcus pentosaceus* y *Enterococcus faecium* las cuales se inocularon al 5% por separado en un batido cárnico, se realizó otro batido con la mezcla de ambas cepas y un batido sin BAL fue el testigo. Al día 1, 6, 13 y 16 se realizaron análisis fisicoquímicos y microbiológicos. Una evaluación sensorial discriminativa se realizó al día 1. Los resultados mostraron que la estabilidad a la cocción, la humedad expresable, la dureza y cohesividad aumentaron durante el almacenamiento

ⁱ  orcid.org/0000-0002-58299573

ⁱⁱ  orcid.org/

ⁱⁱⁱ  orcid.org/0000-0003-2161-4282

en los batidos inoculados con las 2 cepas de BAL. En los batidos cárnicos inoculados, las BAL aumentaron y los coliformes disminuyeron. Cuando se utiliza la mezcla de cepas la inhibición es total al día 6. El análisis sensorial mostró que los jueces detectan cuando se inocula *E. faecium*. Las BAL termotolerantes pueden ser utilizados como ingredientes funcionales en batidos cárnicos ya que mejoran las características fisicoquímicas y microbiológicas.

Palabras clave: bacterias ácido lácticas termotolerantes, batido cárnico, propiedades fisicoquímicas, cultivo bioprotector, textura.

Abstract

Some lactic acid bacteria (LAB) can overexpress heat shock proteins and thus survive the heat treatment of meat products. The objective of this work was the effect of probiotic thermotolerant lactic acid bacteria on the physicochemical, microbiological and sensorial characteristics in a meat batter. Two thermotolerant probiotic lactic bacteria were used: *Pediococcus pentosaceus* and *Enterococcus faecium*, which were inoculated to 5% in a meat batter, another batter was made with the mixture of both strains; a batter without bacteria was the control. Both physicochemical and microbiological analyses were performed at day 1, 6, 13 and 16. At day 1 a discriminatory sensory evaluation was performed. The results show that the stability to cooking, expressible moisture, hardness and cohesion increased during storage in the batters inoculated with the 2 strains of LAB. The LAB increased in the inoculated meat batters and the coliforms decreased overall, when the strain mixture was used, the inhibition was total at day 6. Sensory analysis showed that judges detect when *E. faecium* are inoculated. Thermotolerant BALs can be used as functional ingredients in meat batters and improve physical-chemical and microbiological characteristics.

Key words: thermotolerant lactic acid bacteria, meat batter, physicochemical properties, bioprotective culture, texture.

INTRODUCCIÓN

Las bacterias ácido lácticas (BAL) constituyen un grupo de bacterias Gram-positivas unidas por una constelación de características morfológicas, metabólicas y fisiológicas. La descripción general de las BAL incluye cocos o bacilos no esporuladas, que producen ácido láctico como principal producto de la fermentación de los carbohidratos (Axelsson, 2004). Aunque son consideradas mesófilas, se ha visto que cuando son sometidas a estrés, pueden sobreexpresar unas proteínas llamadas proteínas del choque térmico (Hsp, del inglés Heat Shock Proteins) (Papadimitriou y col., 2016). Varias Hsp funcionan como “chaperonas moleculares” impidiendo la agregación y promoviendo el replegamiento adecuado de las proteínas desnaturalizadas (Lomiwes y col., 2014).

Desde hace varios años se ha estudiado la resistencia al calor de bacterias lácticas. En 1996, Franz y Von Holy determinaron in vitro la resistencia al calor de tres bacterias lácticas causantes de deterioro de la carne (*Lactobacillus sake*, *Leuconostoc mesenteroides* y *Lactobacillus curvatus*), sus resultados mostraron que las tres cepas de bacterias ácido lácticas son sensibles al calor, ya que se lograron reducciones logarítmicas de un log a 57 °C en menos de 60 segundos. Niasup y col. (2003) caracterizaron taxonómicamente cinco cepas de bacterias ácido lácticas termotolerantes (BALT) aisladas de heces de pollo, con base a los datos fisiológicos, bioquímicos y genéticos, las cepas presentaban una novedosa especie dentro del género *Lactobacillus*, para lo cual se propuso el nombre de *Lactobacillus thermotolerans*. Desmond y col. (2004) identificaron una proteína del choque térmico llamada pGroEL/ES que fue sobre-expresada en la cepa probiótica *Lactobacillus paracasei* NFBC 338 en condiciones de estrés térmico subletal (52 °C durante 15 min), en donde GroEL representó entre el 15 y 20% de la proteína celular total. Posteriormente, estas proteínas del choque térmico GroEL/ES, se sobreexpresaron en cepas probióticas, lactococos y lactobacilos, cuando se sometieron a un tratamiento térmico (54 y 60 °C, respectivamente), en cultivos adaptados al calor en donde mantuvieron el nivel más alto de viabilidad (5 unidades logarítmicas, aproximadamente). Victoria-León y col. (2006) realizaron pruebas de termoresistencia a ocho cepas de bacterias ácido lácticas, las cuales fueron sometidas en baños de agua a 50, 60 y 70 °C durante 30-60 min. Cuatro de estas cepas, *L. alimentarius*, *L. lactis*, *L. piscícola* y *Enterococcus sp.*, sobrevivieron a 70 °C durante 30 min. Posteriormente, estas cepas se inocularon en un producto cárnico para determinar el efecto y la aceptación del producto. Ramírez-Chavarín, Wachter-Rodarte y Pérez-Chabela (2010) aislaron 68 cepas de BAL a partir de salchichas comerciales, de las cuales diez mostraron características termotolerantes y sobrevivencia a 70 °C por 30 min. Los 4 géneros identificados fueron *Pediococcus*, *Lactobacillus*, *Aerococcus* y *Enterococcus*. Posteriormente, este mismo grupo de autores (Ramírez-Chavarín y col., 2013) evaluaron las propiedades probióticas de estas bacterias, que incluyen la tolerancia a pH bajo, tolerancia al ácido taurocólico y bilis, coagregación, autoagregación y adherencia a células epiteliales HEP-2. Sus resultados mostraron que la mayoría de las cepas de BALT presentaron resistencia adecuada a pH bajo y a concentraciones de sales biliares, también exhibieron una alta capacidad de adherencia a células epiteliales. La capacidad termotolerante y las propiedades probióticas demostradas hacen de estas cepas un cultivo protector viable que se puede inocular en batidos cárnicos.

Los productos cárnicos emulsionados no son emulsiones verdaderas, por lo que es mejor usar el término “batido cárnico” (Barbut, 2015). De acuerdo con la definición de emulsión verdadera, las partículas de grasa (o partículas de fase discontinua) deben ser menores de 20 micrómetros, esto no sucede en los batidos cárnicos en donde el glóbulo de grasa supera los 20 micrómetros (Barbut, 1995). Los batidos cárnicos son sistemas complejos que consisten en proteínas musculares solubilizadas, fibras musculares, miofibrillas

fragmentadas, partículas de grasa, agua, sales, fosfatos y otros ingredientes (Smith, 2001). La mezcla finamente triturada de estos componentes da como resultado un producto de carne bastante homogéneo tras la desnaturalización por calor de las proteínas (Petracci y col., 2013).

El objetivo de este trabajo fue conocer el efecto de bacterias ácido lácticas termotolerantes probióticas sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de un batido cárnico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizaron dos cepas de bacterias ácido lácticas termotolerantes (BALT): *Enterococcus faecium* UAM1 y *Pediococcus pentosaceus* UAM5 aisladas e identificadas de salchichas comerciales; las cuales fueron inoculadas en batidos cárnicos cocidos por separado y utilizando una mezcla de ambas cepas, un batido sin bacterias constituyó el testigo. A los días 1, 6, 13 y 16 de elaborado el producto se realizaron: Análisis fisicoquímicos; rendimiento, pH, humedad expresable, estabilidad a la cocción, color y textura. Microbiológicos: cuenta de bacterias lácticas y coliformes totales, y una evaluación sensorial al día 1.

Reactivación de cepas y preparación del inóculo

Las dos cepas utilizadas: *Enterococcus faecium* UAM1 y *Pediococcus pentosaceus* UAM5, fueron reactivadas en caldo MRS (De Man, Rogosa y Sharpe, 1960).

Se preparó el inóculo de BALT en caldo MRS hasta alcanzar una densidad óptica de uno a $\lambda = 650$ nm, que corresponde a 10^8 UFC/mL para los dos microorganismos y aproximadamente 10^6 UFC/g en el batido cárnico.

Elaboración y formulación de batidos cárnicos

Se prepararon cuatro lotes de batidos cárnicos cocidos por duplicado, uno con *P. pentosaceus* UAM5, otro con *E. faecium* UAM1, otro con la mezcla de ambas cepas y un testigo sin BALT. La formulación se muestra en la Tabla 1. 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, cuidando la temperatura del batido (12 ± 2 °C). Se agregó el inóculo (5%) al batido y se dejó en reposo a 4 °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 °C) por 14 min, hasta alcanzar una temperatura interna de 70 ± 2 °C, se enfriaron en un baño de hielo, se desfundaron y se empacaron al vacío para ser almacenadas por 16 días a 4 °C.

Tabla 1. Formulación del batido cárnico.

Ingrediente	Porcentaje (%)
Carne de cerdo	50.00
Lardo	15.00
Fécula de papa	5.00
Inoculo	5.00
Sal	2.00
Fosfatos	0.30
Sal cura	0.30
Hielo	22.40

Análisis fisicoquímicos

Rendimiento

Se realizó siguiendo la metodología de Shand (2000). Se determinó el rendimiento de cada lote, pesando los batidos cárnicos antes y después de cocer. Se calculó dividiendo el peso de los batidos después de cocer entre el peso inicial multiplicado por 100.

pH

El pH de los batidos cárnicos cocidos fue medido directamente siguiendo la metodología de Braña y col. (2011) insertando un electrodo de penetración para carne y embutidos HANNA HI 99163 previamente calibrado. La medición se realizó por triplicado.

Estabilidad a la cocción

Para medir la estabilidad a la cocción, se utilizó la metodología reportada por Ramos y Farías (2001) donde se obtuvo el porcentaje del batido cárnico que permanece estable a la cocción. Se determinó el porcentaje de estabilidad a la cocción dividiendo el peso del producto cocido entre el peso del producto antes de cocer y multiplicando por 100.

Humedad expresable

Se utilizó la metodología propuesta por Jáuregui y col. (1981) en donde se pesaron muestras de batidos cárnicos cocidos de 1.5 ± 0.2 g, las cuales se envolvieron en papel filtro Whatman No. 1. Luego, se colocaron en tubos de centrifuga y se centrifugaron a $2000 \times g$, durante 15 min. Se determinó el porcentaje de agua liberada en el batido cárnico cocido por centrifugación, calculando la diferencia de peso inicial menos el peso de la muestra después de centrifugar, dividido por el peso inicial y multiplicando por 100.

Textura

Se realizó un análisis de perfil de textura (Szczesniak, 1963; Bourne, 1978) en un texturómetro Brookfield CT3 equipado con una celda de carga de 5 kg y una sonda de acrílico de 25 mm de diámetro. Las muestras de batidos cárnicos cocidos fueron cortadas en cilindros de 20 mm de altura y comprimiendo el 50%, a una velocidad de 1 mm/s con un tiempo de espera de 5 s.

Color

El color se determinó en coordenadas CIE-Lab en un colorímetro Color Flex EZ Hunter Lab (Hunter Lab, 2000) utilizando un software Easy Match QC Versión 4.31 (Hunter Lab, Reston, USA). Obteniendo los valores de las coordenadas L* (Luminosidad) a* (tono rojo) y b* (tono amarillo) (Braña y col., 2011).

Análisis microbiológico

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 lácticas totales en Agar MRS (De Man y col., 1960) y de coliformes totales en Agar Bilis Rojo Violeta según la NOM-113-SSA-1-1994.

Análisis sensorial

Se realizó una prueba triangular a 30 panelistas no entrenados, estudiantes de la UAM-I con un intervalo de edad de entre 20-30 años, de los cuales 20 fueron mujeres y 10 hombres. 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). La prueba consistía en que debían identificar a la muestra diferente y se conto el numero de aciertos.

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 $\alpha=0.05$.

Análisis estadístico

Se analizaron los efectos de la inoculación de las bacterias ácido lácticas termotolerantes en los batidos cárnicos durante el tiempo de almacenamiento estudiado utilizando un modelo factorial de dos niveles (cepa y día de almacenamiento). Los resultados se analizaron con el procedimiento PROC ANOVA del paquete estadístico SAS Software Version 8.0 (SAS System, Cary, NC, EE.UU.). Las diferencias significativas entre medias fueron determinadas mediante una prueba Duncan.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis fisicoquímicos

Rendimiento

El rendimiento de los batidos cárnicos adicionados con bacterias lácticas termotolerantes probióticas no se vio afectado. Se ha reportado que los ingredientes que podrían repercutir en el rendimiento de un batido cárnico durante la elaboración de salchichas son: la grasa (Paneras, Bloukas y Papadima, 1996), el uso de harinas o fibras (Cengiz y Gokoglu, 2007) y sal (Desmond, 2006). Sin embargo, en este estudio estos ingredientes se mantuvieron constantes en todas las formulaciones.

pH, estabilidad a la cocción y humedad expresable

La Tabla 2 muestra los resultados de pH, estabilidad a la cocción y humedad expresable de los batidos cárnicos durante el almacenamiento. Las bacterias ácido lácticas disminuyeron el pH de los productos cárnicos respecto al tiempo de almacenamiento, esto es debido a la producción de ácido láctico como resultado de la fermentación de los carbohidratos contenidos en el alimento. La disminución de pH debida al ácido láctico puede afectar la dureza, el color, y las características sensoriales del producto (Visessanguan y col., 2004). El pH de los batidos cárnicos cocidos con la cepa *Pediococcus pentosaceus* UAM5 y las de la cepa de *Enterococcus faecium* UAM1 fueron estadísticamente ($p>0.05$) iguales, mientras que el de los batidos cárnicos con la mezcla de las dos cepas fue significativamente diferente ($p<0.05$), ya que éstas obtuvieron un pH final más alto. Al utilizar las cepas de BALT individualmente se obtiene un menor pH que cuando se inocula la mezcla, es decir, no hacen sinergia, esto se debe probablemente a la competencia de nutrientes. La disminución del pH en los alimentos depende del carácter fermentativo de las BAL, las dos cepas utilizadas en este estudio son homofermentativas y convierten 1 mol de glucosa en dos moles de ácido láctico (Parra-Huertas, 2010). Al reducirse el pH por acción del ácido láctico se crea una protección contra la proliferación de patógenos (Visessanguan y col., 2006). Por lo que la utilización de las cepas de BALT en batidos cárnicos podría tener un efecto antimicrobiano.

La EC es una expresión porcentual que indica la estabilidad de la emulsión y de la matriz cárnica al ser sometida a cocción a 70 °C. En la Tabla 2 se muestran los valores de EC, la cual aumentó respecto al tiempo de almacenamiento en batidos cárnicos cocidos inoculados con BALT, existiendo diferencia significativa ($p<0.05$) al día 1 y 6, mientras que entre los días 13 y 16 no hubo un cambio significativo ($p>0.05$). La inoculación de *Pediococcus pentosaceus* UAM5 provocó una menor EC al día 1, sin embargo, esta aumentó al día 13 y 16. El porcentaje mínimo perdido indica principalmente pérdida de grasa debido a la cocción, por lo tanto, puede ser que las BALT ayuden en la estabilización de la fase oleosa del batido cárnico. Pérez-Chabela y col. (2013) reportaron que la producción de exopolisacáridos (EPS) de cepas de BALT podría mejorar la EC de los batidos

cárnicos. Probablemente las cepas de BALT utilizadas en este estudio produzcan EPS con propiedades funcionales que actúen como gomas que se encuentran dispersas en la fase acuosa, reteniendo partículas de grasa impidiendo pérdidas durante la cocción (Ramos y Farías, 2001). La EC de los batidos cárnicos cocidos inoculados con *Enterococcus faecium* UAM1 y con la mezcla de cepas no mostró diferencia significativa ($p>0.05$).

La HE es el porcentaje de agua liberada tras someter a los batidos cárnicos cocidos a una fuerza mecánica. Dicha humedad, en los batidos cárnicos inoculados con *P. pentosaceus* UAM5 y *E. faecium* UAM1 aumentó con el tiempo de almacenamiento siendo estos valores significativamente diferentes ($p<0.05$) a los del batido con la mezcla de cepas, ya que en éste el porcentaje de agua liberada disminuyó con el tiempo. La HE se modificó significativamente ($p<0.05$) con el tiempo (Tabla 2). Dicho parámetro fue mejor con la mezcla de cepas, ya que lo que se desea en un batido cárnico cocido es que retenga

Tabla 2. pH, estabilidad a la cocción y humedad expresable de batidos cárnicos inoculados con BALT a los días 1, 6, 13 y 16 de almacenamiento.

	Día	Testigo	<i>P. pentosaceus</i> UAM5	<i>E. faecium</i> UAM1	Mezcla de cepas UAM1+UAM5
pH	1	6.27±0.01 ^{a,A}	6.39±0.08 ^{c,A}	6.23±0.05 ^{c,A}	6.34±0.03 ^{b,A}
	6	6.25±0.06 ^{a,B}	5.92±0.07 ^{c,B}	5.95±0.03 ^{c,B}	6.15±0.02 ^{b,B}
	13	6.25±0.02 ^{a,C}	5.74±0.02 ^{c,C}	5.85±0.02 ^{c,C}	6.03±0.01 ^{b,C}
	16	6.18±0.02 ^{a,D}	5.64±0.03 ^{c,D}	5.70±0.01 ^{c,D}	5.90±0.01 ^{b,D}
EC	1	97.63±1.26 ^{a,C}	96.81±0.79 ^{b,C}	98.79±1.03 ^{a,C}	97.09±0.62 ^{a,C}
	6	98.66±0.20 ^{a,B}	96.08±0.19 ^{b,B}	99.35±0.33 ^{a,B}	98.93±0.09 ^{a,B}
	13	99.33±0.73 ^{a,A}	98.32±0.24 ^{b,A}	99.13±0.76 ^{a,A}	99.08±0.66 ^{a,A}
	16	98.78±0.51 ^{a,B,A}	98.54±0.69 ^{b,B,A}	98.08±0.40 ^{a,B,A}	99.22±0.59 ^{a,B,A}
HE	1	17.23±0.54 ^{a,D}	15.03±0.85 ^{b,D}	13.08±0.86 ^{b,D}	17.60±0.35 ^{c,D}
	6	17.82±0.57 ^{a,C}	16.55±0.79 ^{b,C}	17.88±0.42 ^{b,C}	15.26±0.19 ^{c,C}
	13	18.00±0.98 ^{a,B}	17.35±0.69 ^{b,B}	18.37±0.80 ^{b,B}	16.39±0.21 ^{c,B}
	16	19.73±0.67 ^{a,A}	19.19±1.15 ^{b,A}	18.75±0.26 ^{b,A}	16.41±0.55 ^{c,A}

Se muestran los resultados promedio de 6 repeticiones ± desviación estándar.

EC= Estabilidad a la cocción, expresada como porcentaje de batido cárnico estable a la cocción.

HE= Humedad expresable, expresada como porcentaje de agua liberada.

a, b, c: Medias con la misma letra no son ($p>0.05$) significativamente diferentes por cepa.

A, B, C, D: Medias con la misma letra no son ($p>0.05$) significativamente diferentes por día de almacenamiento.

humedad para alargar la vida de anaquel, probablemente ambas cepas sean productoras de EPS. Sin embargo, deben producirlo en pocas cantidades por lo que al utilizar la cepa individualmente no se vea reflejada una retención de agua, pero quizá ocurra un efecto sinérgico al mezclarse los EPS que producen *P. pentosaceus* UAM5 y *E. faecium* UAM1, lo que hace que se retenga mayor humedad respecto al día de almacenamiento, ya que al producirse más de un tipo de EPS en un alimento se tienen efectos sinérgicos sobre las mejora de las características de éste (Malang y col., 2015). Se ha reportado (Yuksekdag y Aslim, 2010) que cinco cepas del género *Pediococcus* aisladas de salchichas fermentadas tipo turco producían EPS (25-64 mg/L) en medio MRS.

Textura

El análisis de perfil de textura simula la masticación del alimento, en donde se presentan dos ciclos de compresión, dentro del análisis de textura se pueden obtener los siguientes parámetros: dureza, elasticidad y resorteo, adhesividad, cohesividad y masticabilidad. En este estudio solo se muestran los resultados de los dos parámetros donde hubo diferencias significativas ($p < 0.05$): dureza y cohesividad (Tabla 3).

La dureza de los batidos cárnicos cocidos inoculados con BALT aumentó respecto al tiempo, teniendo mayor dureza al día 16 de almacenamiento y presentando un cambio significativo ($p < 0.05$) entre el día 1 y 6 (Tabla 3). Los batidos cárnicos cocidos con mayor dureza fueron los que se inocularon por separado las cepas de *E. faecium* UAM1 y *P. pentosaceus* UAM5. Relacionando los valores de dureza con los de humedad expresable, tenemos que el aumento de la humedad expresable en los batidos con *E. faecium* UAM1 y *P. pentosaceus* UAM5 tiene un efecto en la dureza, ya que al retener menos agua se tiene una matriz proteica más compacta. Una suposición es que las BALT estén produciendo algún exopolisacárido que ayuda a que se tenga un gel más firme (Galle y Arendt, 2014). Algunos EPS mejoran las características de textura de un gel al dar una mayor firmeza y retener más agua (Ruas-Madiedo, Hugenholtz y Zoon, 2002).

La cohesividad de los batidos cárnicos cocidos inoculados con BALT fue significativamente diferente ($p < 0.05$) en comparación con el testigo (Tabla 3) lo cual indica que hubo cambios estructurales dentro de la matriz proteica de estos batidos cárnicos que los hacen más cohesivos, es decir, más compactos. Probablemente las interacciones entre la proteína sean mayores dando una mayor firmeza, cohesividad y estabilidad al gel. La cohesividad se considera como la suma de las fuerzas internas que mantienen la forma del producto (Totosaus, 2004).

Tabla 3. Dureza y cohesividad de batidos cárnicos inoculados con BALT a los días 1, 6, 13 y 16 de almacenamiento.

	Día	Testigo	<i>P. pentosaceus</i> UAM5	<i>E. faecium</i> UAM1	Mezcla de cepas UAM1+UAM5
Dureza (N)	1	33.15±3.69 ^{c,B}	35.35±3.21 ^{a,B}	30.57±1.21 ^{a,b,B}	28.65±1.18 ^{b,c,B}
	6	36.61±5.89 ^{c,A}	35.38±2.57 ^{a,A}	33.15±0.46 ^{a,b,A}	32.39±0.11 ^{b,c,A}
	13	28.91±2.95 ^{c,A,B}	33.97±2.06 ^{a,A,B}	33.44±0.65 ^{a,b,A,B}	33.98±1.14 ^{b,c,A,B}
	16	24.24±4.43 ^{c,A,B}	36.70±4.55 ^{a,A,B}	38.00±3.07 ^{a,b,A,B}	34.73±1.50 ^{b,c,A,B}
Cohesividad	1	0.62±0.02 ^{a,B}	0.56±0.04 ^{c,B}	0.60±0.01 ^{b,B}	0.62±0.02 ^{b,B}
	6	0.66±0.07 ^{a,A,B}	0.58±0.02 ^{c,A,B}	0.62±0.02 ^{b,A,B}	0.62±0.01 ^{b,A,B}
	13	0.67±0.06 ^{a,A}	0.60±0.01 ^{c,A}	0.61±0.01 ^{b,A}	0.61±0.01 ^{b,A}
	16	0.68±0.06 ^{a,A}	0.60±0.01 ^{c,A}	0.65±0.02 ^{b,A}	0.61±0.01 ^{b,A}

Se muestran los resultados promedio de 6 repeticiones ± desviación estándar.

a, b, c: Medias con la misma letra no son ($p > 0.05$) significativamente diferentes por cepa.

A,B: Medias con la misma letra no son ($p > 0.05$) significativamente diferentes por día de almacenamiento.

Color

Los valores de las coordenadas L^* , a^* y b^* de los batidos cárnicos se muestran en la Tabla 4. Los batidos cárnicos inoculados con *P. pentosaceus* UAM5 fueron significativamente diferentes ($p < 0.05$) menos luminosas, más amarillas y más rojas (Tabla 4) estos resultados hacen suponer que la cepa de *P. pentosaceus* UAM5 produce una mayor cantidad de ácido láctico lo cual se ve reflejado en el pH bajo el cual afecta el color de los batidos cárnicos, teniendo cambios significativos ($p < 0.05$) entre los días 1 y 6 de almacenamiento principalmente. La componente b^* (amarillo) de los batidos cárnicos cocidos utilizando la cepa de BALT por separado fue significativamente diferente ($p < 0.05$) al de la mezcla de cepas, siendo más amarillas las inoculadas con *P. pentosaceus* UAM5 y menos amarillas las de la mezcla de cepas UAM1+UAM5. El color rosa característico de los batidos cárnicos cocidos es debido a la reacción de curado, en donde se forma el pigmento nitrosohemocromo. El color rosa/rojizo se vio significativamente afectado ($p < 0.05$) por la inoculación de BALT, éste aumento conforme el tiempo de almacenamiento.

Algunas cepas de BAL producen especies reactivas de oxígeno, como el peróxido de hidrógeno, que propician la decoloración del pigmento (Barynin y col., 2001). Las cepas utilizadas son homofermentativas por lo que producen cantidades mínimas de peróxido de hidrógeno y otros metabolitos.

Tabla 4. Color de batidos cárnicos inoculados con BALT a los días 1, 6, 13 y 16 de almacenamiento.

	Testigo	<i>P. pentosaceus</i> UAM5	<i>E. faecium</i> UAM1	Mezcla de cepas UAM1+UAM5	
L*	1	75.75±3.03 ^{a,A}	74.93±0.71 ^{b,A}	78.95±0.73 ^{a,A}	79.18±4.82 ^{a,A}
	6	80.85±2.72 ^{a,B}	76.30±3.37 ^{b,B}	80.68±1.20 ^{a,B}	80.03±2.03 ^{a,B}
	13	80.63±3.48 ^{a,B}	76.95±1.11 ^{b,B}	82.58±0.91 ^{a,B}	80.70±0.14 ^{a,B}
	16	82.63±0.84 ^{a,B}	76.93±3.80 ^{b,B}	83.05±0.17 ^{a,B}	81.68±0.13 ^{a,B}
a*	1	1.52±0.32 ^{c,C}	4.25±0.17 ^{a,C}	3.63±0.29 ^{a,b,C}	3.30±0.34 ^{b,C}
	6	2.60±0.12 ^{c,B}	4.78±0.29 ^{a,B}	4.10±0.49 ^{a,b,B}	4.13±1.20 ^{b,B}
	13	3.28±0.43 ^{c,A,B}	4.83±0.72 ^{a,A,B}	4.85±0.06 ^{a,b,A,B}	4.18±1.08 ^{b,A,B}
	16	3.73±0.05 ^{c,A}	4.88±0.66 ^{a,A}	4.88±0.05 ^{a,b,A}	4.85±0.81 ^{b,A}
b*	1	10.15±0.77 ^{c,A}	12.78±0.29 ^{a,A}	11.43±0.34 ^{b,A}	10.27±0.62 ^{c,A}
	6	10.08±0.88 ^{c,B}	12.10±0.73 ^{a,B}	10.15±0.30 ^{b,B}	9.95±0.62 ^{c,B}
	13	9.85±0.47 ^{c,B,C}	11.98±0.43 ^{a,B,C}	9.83±0.17 ^{b,B,C}	9.63±0.30 ^{c,B,C}
	16	9.15±0.10 ^{c,C}	11.75±0.68 ^{a,C}	9.63±0.42 ^{b,C}	9.63±0.43 ^{c,C}

Se muestran los resultados promedio de 6 repeticiones ± desviación estándar.

a, b, c: Medias con la misma letra no son (p>0.05) significativamente diferentes por cepa.

A, B, C: Medias con la misma letra no son (p>0.05) significativamente diferentes por día de almacenamiento.

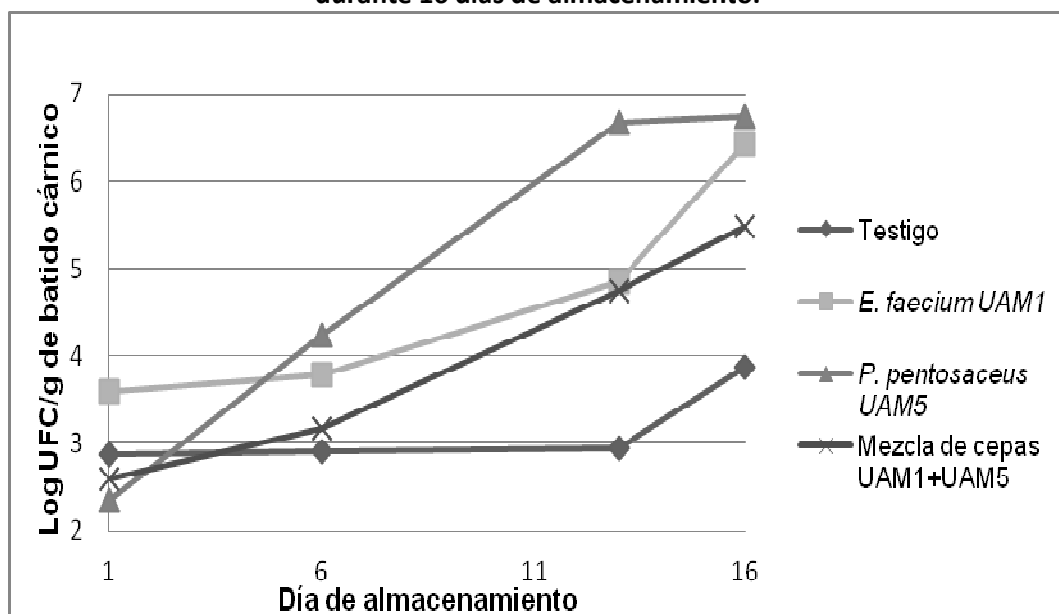
Análisis Microbiológico

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 inoculó 10⁶ 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. Díaz-Vela, Totosaus y Pérez-Chabela (2015) inocularon una cepa termotolerante *P.*

pentosaceus en salchichas con la adición de harinas de subproductos agroindustriales y se tuvo un aumento en la cuenta de las BAL respecto al tiempo de almacenamiento.

Figura 1. Crecimiento de bacterias ácido lácticas en batidos cárnicos inoculados con BALT durante 16 días 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).

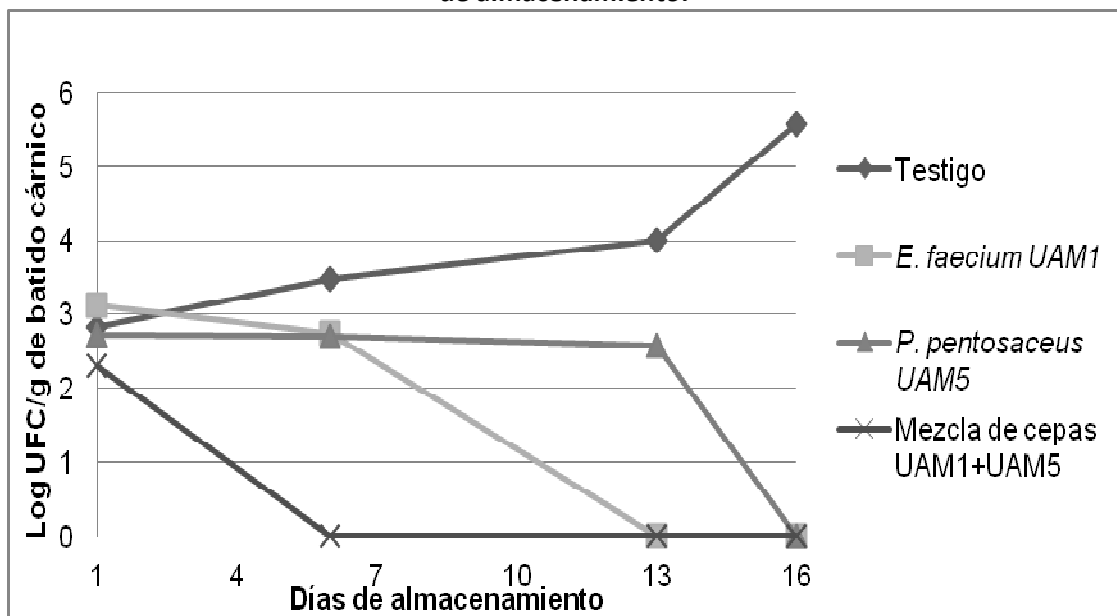
La Figura 2 muestra que el recuento de coliformes totales fue menor en las muestras inoculadas con BALT que en el testigo durante el almacenamiento.

La inoculación de BALT tuvo un efecto benéfico en la vida de anaquel, debido a que éstas 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 Von Wright y Mattila-Sandholm, 1997). Resultados similares fueron reportados por Pérez-Chabela, Totosaus y Guerrero

(2008), 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. acidilacti* 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

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 5. Los batidos cárnicos cocidos inoculados con *E. faecium* UAM1 presentaron diferencia sensorialmente perceptible, 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. La 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 $\mu\text{mol/L}$) (Cabral y col., 2007). Estos componentes de sabor deben estar afectando en la percepción sensorial de los panelistas, por lo que es detectable.

Tabla 5. Resultados del análisis sensorial de batidos cárnicos cocidos inoculados con BALT (Prueba triangular).

Batido cárnico cocido inoculado con BALT	Aciertos	Errores	Diferencia significativa
<i>E. faecium</i> UAM1	15	15	SI
<i>P. pentosaceus</i> UAM5	7	23	NO
Mezcla de cepas UAM1+UAM5	9	21	NO

CONCLUSIÓN

Las bacterias ácido lácticas termotolerantes probióticas utilizadas en este estudio, *Pediococcus pentosaceus* UAM5 y *Enterococcus faecium* UAM1 mejoraron características fisicoquímicas y microbiológicas de los batidos cárnicos cocidos, por lo que podrían ser utilizadas como ingrediente funcional en productos cárnicos.

BIBLIOGRAFÍA

- AXELSSON, L. (2004). Lactic acid bacteria: classification and physiology. En Lactic Acid Bacteria, Microbiological and Functional Aspects, Salminen S., Wright A.V. & Ouwehand A. (Eds.). Nueva York, Marcel Dekker, pp: 1-66.
- BARBUT, S. (1995). Importance of fat emulsification and protein matrix characteristics in meat batter stability. *Journal of Muscle Foods* 6 (2): 161-177.
- BARBUT, S. (2015). Principles of meat processing. En *The Science of Poultry and Meat Processing*, University of Guelph, pp. 29-54. <http://hdl.handle.net/10214/9300>.
- BARYNIN, V. V., WHITAKER, M. M., ANTONYUK, S. V., LAMZIN, V. S., HARRISON, P. M., ARTYMIUK, P. J., & WHITTAKER, J. W. (2001). Crystal structure of manganese catalase from *Lactobacillus plantarum*. *Structure* 9 (8): 725-738.
- BOURNE, M. C. (1978). Texture profile analysis. *Food Technology* 32 (7): 62-66, 72.
- BRAÑA V.D., RAMÍREZ R.E., RUBIO L.M., SÁNCHEZ E.A., TORRESCANO U.G., ARENAS M.M., PARTIDA P.A., PONCE A. ED., & RÍOS R.F. (2011). Manual de análisis de calidad en muestras de carne. INIFAP, SAGARPA. Folleto Técnico 11, pp. 10-27.
- 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.
- CENGIZ, E., & GOKOGLU, N. (2007). Effects of fat reduction and fat replacer addition on some quality characteristics of frankfurter-type sausages. *International Journal of Food Science and Technology* 42 (3): 366-372.
- 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.
- DESMOND, C., FITZGERALD, G. F., STANTON, C., & ROSS, R. P. (2004). Improved stress tolerance of GroESL-overproducing *Lactococcus lactis* and probiotic *Lactobacillus paracasei* NFBC 338. *Applied and Environmental Microbiology*, 70 (10): 5929-5936.
- DESMOND, E. (2006). Reducing salt: A challenge for the meat industry. *Meat science* 74 (1): 188-196.
- 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.
- FRANZ, C. M. A. P., & VON HOLY, A. (1996). Thermotolerance of meat spoilage lactic acid bacteria and their inactivation in vacuum-packaged Vienna sausages. *International Journal of Food Microbiology* 29 (1): 59-73.
- GALLE, S., & ARENDT, E. K. (2014). Exopolysaccharides from sourdough lactic acid bacteria. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 54 (7): 891-901.
- 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.
- JÁUREGUI, C. A., REGENSTEIN, J. M., & BAKER, R. C. (1981). A simple centrifugal method for measuring expressible moisture, a water-binding property of muscle foods. *Journal of Food Science* 46 (4): 1271-1271.
- LAWLESS, H. & HEYMANN, H. (2010). *Sensory Evaluation of Food. Principles and practices* 2nd Edition. Nueva York, Springer, pp. 79-84.
- 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.
- MALANG, S. K., MAINA, N. H., SCHWAB, C., TENKANEN, M., & LACROIX, C. (2015). Characterization of exopolysaccharide and ropy capsular polysaccharide formation by *Weissella*. *Food microbiology* 46: 418-427.
- NIAMSUP, P., SUJAYA, I. N., TANAKA, M., SONE, T., HANADA, S., KAMAGATA, Y., & YOKOTA, A. (2003). *Lactobacillus thermotolerans* sp. nov., a novel thermotolerant

- species isolated from chicken faeces. *International journal of systematic and evolutionary microbiology* 53 (1): 263-268.
- 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): 122-131.
- PANERAS, E. D., BLOUKAS, J. G., & PAPADIMA, S. N. (1996). Effect of meat source and fat level on processing and quality characteristics of frankfurters. *LWT-Food Science and Technology* 29 (5): 507-514.
- PAPADIMITRIOU, K., ALEGRÍA, Á., BRON, P. A., DE ANGELIS, M., GOBETTI, M., KLEEREBEZEM, M. & TURRONI, F. (2016). Stress physiology of lactic acid bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 80 (3): 837-890.
- PARRA-HUERTAS, R. A. (2010). Review. Bacterias ácido Lácticas: papel funcional en los alimentos. *Facultad de Ciencias Agropecuarias* 8 (1): 93-105.
- PÉREZ-CHABELA, M. D. L., TOTOSAUS, 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., DÍAZ-VELA, J., REYES-MENÉNDEZ, C. V., & TOTOSAUS, A. (2013). Improvement of moisture stability and textural properties of fat and salt reduced cooked sausages by inoculation of thermotolerant lactic acid bacteria. *International Journal of Food Properties* 16 (8): 1789-1808.
- PETRACCI, M., BIANCHI, M., MUDALAL, S., & CAVANI, C. (2013). Functional ingredients for poultry meat products. *Trends in Food Science and Technology* 33 (1): 27-39.
- RAMÍREZ-CHAVARÍN, N. L., WACHER-RODARTE, C., & PÉREZ-CHABELA, M. L. (2010). Characterization and identification of thermotolerant lactic acid bacteria isolated from cooked sausages as bioprotective cultures. *Journal of Muscle Foods* 21(3): 585-596.
- RAMÍREZ-CHAVARIN, M. L., WACHER, C., ESLAVA-CAMPOS, C. A., & PÉREZ-CHABELA, M. L. (2013). Probiotic potential of thermotolerant lactic acid bacteria strains isolated from cooked meat products. *International Food Research Journal* 20 (2): 991-1000.
- RAMOS, N. A. G., & FARÍAS, M. E. (2001). Stability of meat emulsion with non-meat proteins. In *Proceedings of the eighth international congress on engineering and foods-ICEF, Vol. 8, pp. 643-647.*
- RUAS-MADIEDO, P., HUGENHOLTZ, J., & ZOON, P. (2002). An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *International Dairy Journal* 12 (2): 163-171.

- SHAND, P. J. (2000). Textural, water holding, and sensory properties of low-fat pork bologna with normal or waxy starch hull-less barley. *Journal of Food Science* 65 (1): 101-107.
- SMITH, D. M. (2001). Functional properties of muscle proteins in processed poultry products. En: *Poultry meat processing*, Owens, C.M. (Ed). Nueva York, Taylor & Francis, pp. 181-194.
- SZCZESNIAK, A. S. (1963). Classification of textural characteristics. *Journal of Food Science* 28 (4): 385-389.
- TOTOSAUS, A. (2004). Functionality of glycosylated heart surimi and heat precipitated whey proteins in meat batters. *Journal of Muscle Foods* 15 (4): 256-268.
- VICTORIA-LEÓN, T., TOTOSAUS, 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.
- VISESSANGUAN, W., BENJAKUL, S., RIEBROY, S. & THEPKASIKUL, P. (2004). Changes in composition and functional properties of proteins and their contributions to Nham characteristics. *Meat science* 66 (3): 579-588.
- VISESSANGUAN, W., BENJAKUL, S., SMITINONT, T., KITTIKUN, C., THEPKASIKUL, P., & PANYA, A. (2006). Changes in microbiological, biochemical and physico-chemical properties of Nham inoculated with different inoculum levels of *Lactobacillus curvatus*. *LWT-Food Science and Technology* 39 (7): 814-826.
- YUKSEKDAG, Z. N., & ASLIM, B. (2010). Assessment of potential probiotic-and starter properties of *Pediococcus spp.* isolated from Turkish-type fermented sausages (sucuk). *Journal Microbiology Biotechnology* 20 (1): 161-168.