

Recibido: 19/11/2016; Aceptado: 10/12/2016

Se autoriza la reproducción total o parcial de este artículo, siempre y cuando se cite la fuente completa y su dirección electrónica.

<http://www.revistacentros.com>

indexada en



http://www.latindex.unam.mx/buscador/ficPais.html?opcion=1&clave_pais=33



BACTERIAS LÁCTICAS AISLADAS DE CHORIZOS TIPO PANAMEÑO PRODUCIDOS EN FORMA ARTESANAL EN LA REGIÓN DE AZUERO EN PANAMÁ

LACTIC BACTERIA ISOLATED FROM PANAMANIAN TYPE SAUSAGES PRODUCED IN THE ARTISANAL FORM IN AZUERO REGION, PANAMA.

Pedro Ruiz, Mayra Mendoza y José J. Him F

Centro Regional Universitario de Veraguas, Universidad de Panamá, Santiago de Veraguas, Panamá. E-mail: jjhimf@hotmail.com

RESUMEN

En el año 1995 se hizo un estudio de la presencia de bacterias lácticas en embutidos cárnicos de Panamá. Las bacterias lácticas se pueden encontrar en los embutidos cárnicos en diversas proporciones. Si esta población de bacterias llega a ser muy alta, deteriora estos alimentos; pero, por otro lado, ellas compiten con bacterias patógenas que pueden afectar a los consumidores. En este estudio se tomó una muestra de 19 embutidos cárnicos artesanales de 4 casas productoras de la región de Azuero en Panamá. Se aislaron 380 cepas de bacterias lácticas en agar MRS bajo condiciones de

microaerobiosis en una jarra GASPAC. Las cepas aisladas eran analizadas por tinción de Gram y prueba de catalasa. Todas las cepas resultaron ser bacilos Grampositivos, catalasa negativa. El recuento de bacterias lácticas arrojó un promedio de 7.1×10^8 UFC/g de embutido.

Palabras claves: Bacterias lácticas, *Lactobacillus*, embutidos, carnes.

ABSTRACT

In 1995 was made a study of lactic acid bacteria in sausages of Panamá. Lactic bacteria can be found in sausages in a wide variety of proportions. But, if the bacteria's population became too high, it brings negative effects to the sausages. However, these bacteria can compete with pathogenic bacteria that can affect consumers directly. In this study, a sample of 19 sausages was taken. All of them came from four different producers that make it manually and are located at the Azuero's region in the Republic of Panama. During the process, 380 strains of lactic bacteria were isolated in MRS agar in a GASPAC jar under microaerobiosis conditions. The isolated strains were analyzed with Gram stain and catalase's proof. All the strains were Grampositive rods, and negative to catalase. The count of lactic bacteria gave us an average of 7.1×10^8 UFC/g of sausage.

Key words: lactic bacteria, *Lactobacillus*, sausages, meat.

INTRODUCCIÓN

Los productos cárnicos pueden albergar un gran número de microorganismos. Entre estos microorganismos, algunos pueden ser patógenos y otros inocuos y hasta beneficiosos, porque o bien compiten con los patógenos, o bien producen un mejor sabor en los alimentos (Ahmed *et al.*, 1986; Nielsen *et al.*, 1990). Las técnicas de producción de embutidos cárnicos utilizan cultivos iniciadores de bacterias para fermentar las carnes y mejorar su sabor y aroma (Smith y Palumbo, 1981 y 1983; Bacus, 1984 y 1986). Estas bacterias también actúan como inhibidores de patógenos y de organismos responsables del deterioro de los embutidos (Gibbs, 1987). Entre los cultivos iniciadores en la fermentación de carnes están los lactobacilos (aunque no constituyen el único género de bacterias empleadas para tal propósito).

Los lactobacilos son bacilos largos y delgados, que en la mayoría de las especies forman cadenas. Son microaerofílicos (algunos son anaerobios estrictos), catalasa negativa, fermentan azúcares con la producción de ácido láctico (Frazier y Westhoff, 1978). Estas bacterias son acidúricas por lo que trabajan cuando baja el pH (Rogosa y Sharpe, 1959; Kandler y Weiss, 1986; Sanz *et al.*, 1988; Korkeala y Mäkela, 1989). Además de mejorar el sabor, los lactobacilos ayudan a la reducción de nitratos, disminuyendo la posibilidad de formación de nitrosaminas (Smith y Palumbo, 1983); también, ayudan a inhibir la flora natural, la cual incluye bacterias de descomposición y patógenos, tales como *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes* (Schaack y Marth, 1988a y 1988b; Vignolo *et al.*, 1989; Schillinger y Lücke, 1989; Park y Marth, 1972; Franck y Marth, 1977; Bacus, 1986). La inhibición puede ser por la reducción del pH o también por la producción de sustancias antimicrobianas conocidas como bacteriocinas (Carminati *et al.*, 1989; Schillinger y Lücke, 1989; Daeschel, 1989).

Los cultivos iniciadores son extraídos originalmente de los mismos productos cárnicos y seleccionados por sus mejores cualidades de fermentación y competitividad ante otros microorganismos no deseados. Este trabajo pretende establecer que en los productos panameños también pueden aislarse bacterias de este tipo que, posteriormente puedan usarse como cepas fermentadoras de productos cárnicos.

MATERIAL Y MÉTODOS

El tamaño de la muestra se calculó con la fórmula:

$$n = \frac{PQZ^2}{d^2}$$

El número de proporción utilizado en el cálculo del tamaño de la muestra fue obtenido utilizando estudios anteriores en los que se determinó la proporción de bacterias con capacidad de inhibir a los patógenos; este valor fue de 0.35, el coeficiente de confiabilidad se estableció en 1.93 y el margen de error en 0.03. Esto significa que se estimó muestrear 600 cepas de lactobacilos, obtenidas de un total de 30 embutidos (a

razón de 20 cepas por embutido). En este estudio se muestrearon 19 embutidos y se obtuvieron 380 cepas, con intención de añadir las restantes en investigaciones posteriores, de ser necesario.

Para el estudio, se escogió al chorizo tipo panameño crudo o semicrudo (ahumado levemente), el cual es producido en ciertas regiones de Panamá en forma artesanal, es decir, con equipo rudimentario y establecimientos improvisados. Se seleccionaron cuatro casas productoras de la región de Azuero. Se seleccionaron estos productos debido a su forma rudimentaria de producción, lo cual aumentaba la posibilidad de obtener cepas indígenas de lactobacilos. Se trató de obtener un total de 5 muestras de cada casa productora, pero de una de ellas sólo se obtuvieron 4. Las muestras se tomaron con 20 días de diferencia para asegurar que el producto provenía de lotes de producción diferentes.

Para el aislamiento de las cepas se diluyó 25 g de cada muestra en 225 ml de agua peptonada estéril al 0.1%. Esta mezcla se homogeneizó con una licuadora y se hicieron diluciones decimales que se sembraron en agar MRS (De Man *et al.*, 1960). Estos cultivos se incubaron en forma anaerobia por 72 horas a 30°C, al cabo de los cuales se realizó el aislamiento de las bacterias (Sobrino *et al.*, 1991). Las colonias fueron seleccionadas aleatoriamente usando el método de Harrigan (1976). Las colonias seleccionadas fueron rayadas en agar MRS e incubadas a 30°C por 24 horas en condiciones de microaerobiosis (Hernández y Rivera, 1992). A cada colonia se le hizo la tinción de Gram y la prueba de catalasa para asegurar que eran *Lactobacillus spp.*

A los resultados se les aplicó un análisis de varianza para determinar la similitud entre las casas estudiadas y para determinar la probabilidad de encontrar igual número de bacterias lácticas que en estudios anteriores.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De cada muestra analizada se obtuvo un recuento de bacterias y se seleccionaron 20 cepas de cada recuento para comprobar que eran bacterias lácticas con forma bacilar. Se obtuvieron un total de 380 cepas de bacterias lácticas (20 cepas de cada embutido), cultivadas en agar MRS. Todas ellas resultaron bacilos y cocobacilos Grampositivos y

catalasa negativos. Los recuentos de bacterias lácticas se pueden observar en el Cuadro 1. Estos recuentos son bastante altos, lo cual ayuda a obtener mayor cantidad de cepas de bacterias lácticas; pero es perjudicial para los embutidos; ya que estas bacterias constituyen una de las principales causas de la coloración verdosa que toman los embutidos cuando presentan deterioro por malas condiciones de mantenimiento. Probablemente, el origen de estas bacterias sea de los ambientes naturales en los cuales se desarrolla la actividad de producción. Estas bacterias, al ser originarias de estos lugares deben presentar mejor adaptación y competitividad que cepas comerciales que provienen de otros ambientes y condiciones de trabajo.

Los datos obtenidos se utilizaron para hacer un análisis de varianza en el **Cuadro 1**, y verificar si existía diferencia entre las casas productoras escogidas para el estudio.

Los datos de las concentraciones promedio de bacterias lácticas muestran que la casa 2 posee la concentración más alta de bacterias (1.81×10^9 bacterias / g, Cuadro 1). El análisis de varianza demuestra que existe una diferencia significativa entre las casas ($P < 0.05$, Cuadro 2). Debido a lo pequeño de la muestra se hizo una prueba de Tukey de rangos múltiples, la que determinó que las concentraciones de bacterias en las casas 1 y 2 son similares entre sí, al igual que entre las casas 3 y 4 (**Cuadro 2**).

Cuadro 1. Análisis de varianza de los resultados de recuentos de bacterias lácticas en embutidos tipo salchichón panameño. Los valores están dados en UFC / g.

Fuentes de variación	Suma de cuadrados	de gl	Cuadrado medio	Razón de varianza	de P
Entre muestras	2.706 x 10	3	9.02	4.74	0.0162 *
Dentro de muestras	2.86	15	1.9		
Total	5.56	18			

* Existe una diferencia significativa entre las casas productoras en cuanto al número de bacterias lácticas ($P < 0.05$).

Cuadro 2. Prueba de Tukey para comparar medias pareadas entre los grupos de bacterias lácticas

Casa o variable	Grupos Homogéneos
2	
1	
4	
3	

P < o > entre 2 y 1
P < entre 2 y 3
P < entre 2 y 4

Los resultados indican una similitud entre las casas 2 y 1. Estas, sin embargo, presentan mayor contenido de bacterias lácticas que las casas 4 y 3, las cuales son similares entre sí. En realidad, estos datos pueden servir para estimaciones probabilísticas al momento de elegir cuál de las casas debe ser muestreada en el futuro para extraer estas bacterias; pero la calidad de la cepa, en cuanto a competitividad y cambios deseados en el producto, sólo podrá ser vista cuando se hagan las pruebas directas en los sistemas de producción. Como se dijo anteriormente, la importancia de estas bacterias radica en su capacidad de competir con bacterias patógenas y de mejorar el sabor de los embutidos cárnicos.

CONCLUSIONES

Los resultados muestran que la probabilidad de encontrar bacterias lácticas en embutidos panameños fabricados artesanalmente es muy parecida a la que encontramos en otras regiones. Estas bacterias podrían tener las mismas cualidades descritas por otros autores y podrían ser seleccionadas por su capacidad de fermentación de carnes, producción de aromas, mejoramiento de textura; o por sus cualidades de competencia contra otros microorganismos, especialmente los patógenos. Pero como ya se mencionó, la generación desmedida de bacterias lácticas también puede contribuir al deterioro de estos productos, lo cual obliga a adoptar el control adecuado de su crecimiento en la fabricación de los embutidos.

El análisis de varianza muestra que existe una diferencia entre las casas estudiadas y esta diferencia se explica en la prueba de Tukey, la cual nos dice que las casas 1 y 2 tienen un promedio mayor que las casas 3 y 4, lo que indica que estas casas deben ser tomadas en cuenta en estudios posteriores para el análisis de cepas lácticas.

Es importante el haber encontrado estas bacterias en embutidos locales, ya que ellas provienen de ambientes y condiciones a las cuales están adaptadas. Estos factores son beneficiosos para el desarrollo de los cambios deseados en el proceso de producción de los comestibles. Dichas bacterias podrían ser utilizadas en la industria para fabricar embutidos más estables y evitar el uso de sustancias químicas que puedan representar un riesgo para la salud humana.

AGRADECIMIENTO

Nuestro más sincero agradecimiento a la Profesora María González de Him por su apoyo en la corrección de la traducción del resumen de este documento.

REFERENCIAS

Ahmed, AH, M. Moustafa y I.A. El - Bassiony (1986). Growth and survival *Yersinia enterocolitica*. **Food Techn.** (Sep),104-10.

Bacus, J. (1984). Update: meat fermentation. **Food Techn** (jun),59-63.

Bacus, J. (1986). Elaboración de productos cárnicos secos, semi-secos y fermentados. **Alimentos Procesados**. 5, 24-9.

Carminati, D., G. Giraffa y M.G. Bossi (1989). Bacteriocin – like inhibitors of *Streptococcus factis* against *Listeria monocytogenes*. **J food Prot**; 52,614-7

Daeschel, M.A (1989). Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives. **Food Tech**; (Jan),164-8.

De Man J.C., M. Rogosa y M.E. Sharpe (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. **J Appl Bact.** 23,130-5.

Franck, J.F. y E.H. Marth (1977). Inhibition of enteropathogenic *Escherichia coli* by homofermentative lactic acid bacteria in skim milk. **J Food Prot.** 40, 749-53.

- Frazier, W.C. y D.C. Westhoff (1978). **Microbiología de los Alimentos**. 3ª Edición. Editora Acribia. S.A. España. 585p.
- Gibbs, P.A. (1987). Novel uses for lactic acid fermentation in food preservation. *J Appl Bact*; (Symposium Supplement):51S-58S.
- Harrigan, W.F. y M.E. McClane (1976). **Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology**. Academic Press. New York. pg 47 - 49.
- Hernández, F. y P. Rivera (1992). A low cost method to produce a gaseous environment for the isolation of *Helicobacter pylori*. **Rev Inst Med Trop Sao Paulo**. 34:167-9.
- Kandler, O. y N. Weiss (1986). Genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, 212AL, In Sneath PHA,
- Mair NS, Sharpe ME, Holt JG (ed), **Bergey's Manual of Systematic Bacteriology**, Vol. 2. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, USA. 1208-1234.
- Korkeala, H. y P. Mäkela (1989). Characterization of lactic acid bacteria isolated from vacuum-packed cooked ring sausages. **Int J Food Microbiol** 9, 33-43.
- Nielsen, J.W., J.S. Dickson y J.D. Crouse (1990). Use of a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici* to inhibit *Listeria monocytogenes* associated with fresh meat. **Appl Environ Microbiol** 56, 2142-5.
- Park, H.S. y E.H. Marth. (1972). Behavior of *Salmonella typhimurium* in skim milk during fermentation by lactic acid bacteria. **J Milk Food Technol** 35,489-95.
- Rogosa, M. y M.E. Sharpe (1959). An approach to the classification of the lactobacilli. **J Appl Bacteriol** 22, 329-40.
- Sanz, B., D. Selgas, I. Parejo y J.A. Ordoñez (1988). Characteristics of lactobacilli isolated from dry fermented sausages. **Int J Food Microbiol** 6, 199-203.
- Schaack, M.M. y E.H. Marth (1988a). Behavior of *Listeria monocytogenes* in skim milk during fermentation with mesophilic lactic starter cultures. **J Food Prot** 51, 600-6.
- Schaack, M.M. y E.H. Marth (1988b). Behavior of *Listeria monocytogenes* in skim milk and in yogurt mix during fermentation by thermophilic lactic acid bacteria. **J Food Prot** 51, 607-14.
- Schillinger, U. y F.K. Lücke (1989). Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. **Appl Environ Microbiol** 55, 1901-5.

- Smith, J.L. y S.A. Palumbo (1981). Microorganisms as food additives. **J Food Prot** 44, 936-55.
- Smith, J.L. y S.A. Palumbo (1983). Use of starter cultures in meats. **J Food Prot** 46, 997-1006.
- Sobrino, O.J., J.M. Rodríguez, W.L. Moreira, M.F. Fernández, B. Sanz y P.E. Hernández (1991). Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from dry fermented sausages. **Intern J food Microbiol** 13, 1-10.
- Vignolo, G.M., A.P. Ruiz Holgado y G. Oliver (1989). Use of bacterial cultures in the ripening of fermented sausages. **J Food Prot** 52, 787-79.