

## Evaluación de Bacterias acidófilas como indicadores de inocuidad en aderezos

Gutiérrez Gutiérrez María de Lourdes<sup>1</sup>, Armas Garfias Claudia<sup>2</sup>, Alejo Iturvide Francisco<sup>2</sup>, Márquez Lucio María Azucena<sup>2</sup>

### RESUMEN

La inocuidad alimenticia son medidas durante el proceso industrial, asegurando que no representen un riesgo para la salud. Las empresas procesadoras realizan análisis microbiológicos garantizando que sus productos sean aptos para el consumo. Estos análisis son graduales y demorados es necesario contar con herramientas rápidas proporcionando resultados confiables. En este estudio se realizó la cuantificación de bacterias ácido lácticas evaluadas como parámetros microbiológicos mediante la normatividad y técnicas de conteo rápido de Placas Petrifilm™ identificando ventajas, contra métodos convencionales en muestras de aderezos. Los resultados de las muestras analizadas presentan contaminación que provoca alteración organoléptica por lo que se requieren acciones correctivas apreciando la demanda actual así como la divulgación del uso de alternativas presentes en el mercado.

### Palabras Clave

Bacterias Acido lácticas, Microorganismos Indicadores, Control de Calidad, Inocuidad Alimentaria

---

<sup>1</sup> Estudiante del programa de Ingeniería Bioquímica del Instituto Tecnológico Superior de Irapuato. Carretera Irapuato-Silao km 12.5, cp.: 36821, Guanajuato, Irapuato, Teléfono (01) 462 606 79 00. Correo: lulu.gt2@hotmail.com

<sup>2</sup> Profesores: Claudia Armas Garfias, Francisco Alejo Iturvide, Maria Azucena Márquez Lucio, Instituto Tecnológico Superior de Irapuato, Carretera Irapuato-Silao km 12.5, c.p:36821, Guanajuato, Irapuato. Teléfono: (01) 462 606 79 00. Correo: ([clarmas@itesi.edu.mx](mailto:clarmas@itesi.edu.mx); [fralejo@itesi.edu.mx](mailto:fralejo@itesi.edu.mx), [mamarquez@itesi.edu.mx](mailto:mamarquez@itesi.edu.mx)).

## INTRODUCCIÓN

Todas las personas tienen derecho a que los alimentos que consumen sean inocuos. Es decir que no contengan agentes físicos, químicos o biológicos en niveles o de naturaleza tal, que pongan en

peligro su salud. De esta manera se concibe a la inocuidad como un atributo fundamental de la calidad (Smid y col., 2013; Dunne y col., 2013); siendo por lo tanto fundamental que durante la producción de cualquier alimento, se tomen las medidas necesarias para garantizar dicha inocuidad. Para ello se recomienda implementar el sistema Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control (HACCP, por sus siglas en inglés). Este sistema se utiliza tanto en procesos de preparación de alimentos como en alimentos procesados. Lo cual implica conocimientos de las materias primas a utilizar, como su recepción y manipulación, los procesos de preparación y procesamiento y el conocimiento de los factores y situaciones que podrían ocasionar la contaminación del producto (Caballero, 1997).

Con la denominación de “bacterias ácido lácticas” (BAL) se generaliza a un grupo de bacterias mesófilas que fermentan azúcares como glucosa y lactosa para producir ácido láctico. Dentro de este grupo se reconoce la existencia de microorganismos aerobios, anaerobios y anaerobios facultativos. Las bacterias ácido lácticas tienen una amplia aplicación como cultivos iniciadores en una variedad de alimentos fermentados y como agentes potenciales de contaminación en la industria alimenticia (Cástulo y col., 2008).

A pesar de la utilidad que las BAL tienen en la industria, es difícil cultivarlas por la necesidad de una gran cantidad de requerimientos nutricionales. Se utilizan varios medios de cultivo para el aislamiento y recuento de estos microorganismos a partir de alimentos, entre los que se encuentran agar MRS (de Man-Rogosa-Sharpe); agar APN (Actidiona-polimixinanitrato); agar de Lee y el agar de Chalmers (Santillán, 2004).

Con el paso de los años se han estudiado debido a pruebas encontradas de su alto desarrollo en diversos alimentos no sometidos a tratamientos térmicos como es el caso de las salsas BBQ, aderezos y mayonesas, lo cual reduce el control de índice de calidad en los alimentos procesados enviados al consumo humano, para lo cual se han implementado sistemas que ayuden a lograr la mayor calidad (Marshall, y col., 2011).

Un producto contaminado puede llegar a ocasionar graves enfermedades en el consumidor. En general las enfermedades transmitidas por alimentos, la mayoría de las cuales de origen microbiano, constituyen uno de los principales problemas de salud pública a nivel mundial (Guillén y Sánchez, 2014).

Las técnicas microbiológicas en el sector de los alimentos, están dirigidas con mayor frecuencia a la detección de microorganismos indicadores de la posible presencia de patógenos o alterantes, los métodos convencionales de detección de microorganismos como la técnica del NMP, filtración por membrana, siembra

en profundidad o vertido en placa, requieren en primer lugar que el microorganismo objeto del análisis forme una colonia en un medio de cultivo, lo cual implica su preparación, esterilización de material, mano de obra suficiente, periodos de incubación relativamente largos, el empleo de cultivos de enriquecimiento o de recuperación y se debe disponer de equipos necesarios como incubadoras, neveras, autoclave, etc., (Ercsey, y col., 2012).

Ya que realizar un análisis microbiológico suele ser una tarea que consume gran cantidad de tiempo y trabajo, se ha presentado la necesidad de desarrollar métodos rápidos y fáciles para cuantificar y detectar microorganismos, debido a que en algunas ocasiones es necesario dar resultados rápidos, que permitan tomar decisiones lo más pronto posible, esto muchas veces no es posible, debido a que se debe esperar que los microorganismos crezcan en los medios de cultivo y lograr visualizar su presencia, siendo además muchos de ellos de crecimiento lento, los microorganismos de interés están presentes a menudo en cantidades muy pequeñas con respecto al resto de la microbiota acompañante, lo que implica un pre enriquecimiento previo en medios selectivos, finalmente, dependiendo del producto a analizar, es necesario realizar un previo tratamiento o purificación de los microorganismos (Gitau, y col., 2012)

Los métodos rápidos ofrecen la posibilidad de evitar algunos de estos pasos, con el ahorro de tiempo y trabajo. Pero no siempre se dispone de estos métodos y a veces demandan altos costos. Estos métodos son un conjunto de técnicas microbiológicas, bioquímicas, fisiológicas, inmunológicas y serológicas para el aislamiento más efectivo, la detección, caracterización y enumeración más rápida de microorganismos y sus productos en alimentos (Drebes, y col., 2012).

Puesto que los procedimientos tradicionales son laboriosos y requieren de mucho tiempo, para evitarlo se han desarrollado numerosas técnicas de recuento rápido y efectivo en las cuales se busca utilizar el menor número de procedimientos y ensayos posibles. Existen diversos métodos basados en la normatividad mexicana de los cuales son denominados tradicionales debido a su comprobación o estandarización estadística, unos de los métodos alternativos para la determinación de pruebas de recuento de aerobios son las denominadas Placas Petrifilm usadas para el recuento de bacterias ácido-lácticas en ciertos alimentos (Díaz, y col., 2009)

Se puede decir que un método rápido es aquel que proporciona resultados en un tiempo menor al método convencional y que además es sencillo y confiable. Actualmente en el mercado se encuentran disponibles diferentes productos para la detección rápida y efectiva de microorganismos indicadores en la industria de alimentos (Nero y col., 2006)

Los objetivos de este trabajo fueron evaluar las bacterias ácido lácticas como parámetro microbiológico en muestras de aderezos, basados para su cuantificación la Norma Mexicana y conocer la importancia de la higiene en la elaboración de alimentos, así como la importancia, fiabilidad y rapidez del uso de alternativas de conteo.

### Métodos y materiales

La totalidad de los análisis fueron realizados en el Laboratorio de Bioquímica y Microbiología del Instituto Tecnológico Superior de Irapuato (ITESI) ubicado en la ciudad de Irapuato, Guanajuato.

Para la realización de las pruebas microbiológicas se analizaron muestras de diversos aderezos (VVB, MSM, TC-NZ, AJN y MH). De cada muestra se realizaron tres replicas por cada dilución. Además se realizó un control negativo del medio empleado.

La dilución y homogenización de las muestras se realizó de acuerdo a la NOM-110-SSA1-1994.

Se siguió el procedimiento de la NOM-092-SSA1-1994 con la modificación para el método convencional del medio MRS para la cuantificación de la presencia de bacterias ácido lácticas.

Para el método de conteo por medio de placas Petrifilm™ se siguió el procedimiento de la NOM-092-SSA1-1994 con la modificación del medio MRS y el método de incubación establecido por el proveedor para la cuantificación de la presencia de bacterias ácido lácticas.

La expresión de resultados se realizó de acuerdo a lo establecido en la normatividad vigente.

## RESULTADOS

Los aderezos analizados fueron denominadas de la siguiente manera: MSM, VVB, TC-NZ, AJN y MH. Los resultados obtenidos de la cuantificación de bacterias ácido lácticas, como indicadores de inocuidad de las diferentes muestras analizadas, se expresan en base a la NOM-092-SSA1-1994 y como expresa el proveedor de Petrifilm™ dando como resultado los valores presentados en la Tabla 1.

**Tabla 1. Resultado del Análisis Microbiológico**

Parámetro/Método	MSM	VVB	TC-NZ	AJN	MH
Acido lácticas/ Petrifilm™	8 UFC/g	18 UFC/g	7 UFC/g	14 UFC/g	8 UFC/g
Acido lácticas/ convencional	9 UFC/g	17 UFC/g	5 UFC/g	16 UFC/g	12 UFC/g

---

Se puede observar que los valores obtenidos en el parámetro evaluado presentan gran cantidad de UFC/g siendo el aderezo denominado como VVB, el que presenta mayor cantidad de contaminación por bacterias ácido lácticas (18 UFC/g) en el método Petrifilm como en el convencional (17UFC/g) seguido el AJN evaluado, mientras que el MSM es el que presenta menor contaminación por estos microorganismos indicadores (8 UFC/g) en el método Petrifilm™ y (9 UFC/g) en el método convencional lo que representa que se requiere de una mejora en el proceso mediante sistemas de saneamiento en diversas áreas del proceso.

Así mismo se puede determinar que el uso de los métodos alternativos de cuantificación como lo son el Petrifilm™ nos da una visión más clara de la cantidad de unidades formadoras de colonias por gramo (UFC/g) de muestra sin embargo en el método convencional se tiene una discrepancia en los resultados esto al observar las colonias más expandidas por lo que los valores son estimados.

Lo que representa que no existe mucha variación en las cuantificaciones obtenidas tomando en cuenta el método aplicado. Todos los resultados obtenidos son el promedio de las diluciones realizadas tomados de la dilución  $10^{-5}$ )

Por otra parte se tiene que la contaminación encontrada por bacterias ácido lácticas nos da referencia de la higiene y sanitización tanto de los equipos como del personal, por lo que podemos decir que todos los aderezos analizados ponen en riesgo la salud del consumidor.

## CONCLUSIONES

Se concluye que la calidad microbiológica y sanitaria de los aderezos evaluados constituye un problema potencial para la salud de los consumidores, por la alta carga microbiana que contienen de acuerdo y en comparación a lo establecido en la Normatividad Mexicana. Debido a la globalización y competitividad entre las industrias han optado por tener certificaciones nacionales e internacionales que le den confianza al consumidor de la calidad del alimento por lo cual las bacterias ácido lácticas dan referencia de las buenas prácticas de manufactura que se llevan dentro de dicho proceso.

No existe un buen control de calidad en la elaboración del producto, lo cual lo hace como no apto para consumo humano. Es necesario que la empresa elaboradora de dichos aderezos, revise sus sistemas de producción y que valide sus procedimientos operacionales de sanidad mejorando así sus sistemas de calidad.

Es fundamental que se revise la carga microbiana de las superficies, equipos y utensilios, además de la materia prima y producto terminado, para establecer el origen de la contaminación. Aunque no se realiza un análisis estadístico se puede apreciar que los resultados obtenidos por cada uno de los métodos son similares en cuanto a la cantidad de UFC/g. El método rápido utilizado es un método simple y fácil de estandarizar. El ahorro de tiempo en los procesos de verificación de calidad en los procesos industriales han determinado el uso de métodos de conteo rápido como lo es Petrifilm™.

## REFERENCIAS

- Caballero, A.; Lengomín, María, E.; Grillo, M.; Arcia, J.; León, M. A. (1997). "Análisis de Riesgos y Puntos Críticos de Control en la inspección sanitaria de los alimentos". *Revista Cubana Aliment Nutr.* Volumen 11 Núm. 2, pp. 126-136.
- Cástulo, I., Del Campo, M. M., Gómez, H., Héctor, E., & Alanís, d. I. (2008). Bacterias ácido lácticas con capacidad antagonista y actividad bacteriocinogénica aisladas de quesos frescos. *Universidad de Guadalajara México*, vol. 6; pp. 1-17.
- Díaz, M., Rodríguez, C. Z., & Govin, Y. (2009). Identificación de *Enterococcus* como indicador más eficiente de las aguas utilizadas en los procesos. *Presentación en póster. Biotecnología' Habana, La Habana: Palacio de las Convenciones.*
- Drebes, T., Majolo, C., & Fröder, H. (2012). Evaluation of the use of Petrifilm™ EB count plates for the enumeration of *Enterobacteria* ceae in poultry samples. *Ciencia y Tecnología de Alimentos. Food Microbiology Laboratory.*
- Dunne, J. A., Lafferty K., D., Dobson, A. P., Hechinger, R. F., Martínez, N., Mc Laughlin, J. P., . . . Zander, D. C. (2013). Parasites Affect Food Web Structure Primarily through Increased Diversity and Complexity. *PLOS Biology.*
- Ercsey, R. M., Toroczka, Z., Lakner, Z., & Baranyi, J. (2012). Complexity of the International Agro-Food Trade Network and Its Impact on Food Safety. *PLOS One*, vol.7.
- Gitau, G. K., Bundi, R. M., Van leeuwen, J., & Mulei, C. M. (2012). Evaluation of Petrifilms™ as a diagnostic test to detect bovine mastitis organisms in Kenya. *Trop Animal Health Prod, Elsevier.*
- Guillén Domínguez Graciela y Sánchez Garay Martina. (2014) ¿Qué es la alimentación alimentaria Bacteriana? Boletín Epidemiológico del Sistema Nacional de Vigilancia Epidemiológica. Área de Publicaciones Dirección de Información Dirección General de Epidemiología Secretaría de Salud. No., 14; Vol., 31. Recuperado de: <http://www.epidemiologia.salud.gob.mx/doctos/boletin/2014/completo/sem14.pdf>.
- Marshall, B. M., & Levy, S. B. (2011). Food Animals and Antimicrobials: Impacts on Human Health. *Journal ASM., Clinical Microbiology Reviews.* .
- Nero, L. A., Beloti, V., Ferreira, B. M., Tassinari, O. M., Tamanini, R., & Gombossy, d. M. (2006). Comparison of Petrifilm Aerobic Count Plates and de Man–Rogosa–Sharpe agar for Enumeration of Lactic Acid Bacteria. *Journal of Rapid Methods and Automation in Microbiology.*
- Santillán, M. A. (2004). Aislamiento y caracterización de cepas bacterias ácido lácticas productoras de bacteriocinas. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo pp. 1-11.
- Smid, J. E., & Lacroix, C. (2013). Microbe–microbe interactions in mixed culture food fermentations. *Current Opinion in Biotechnology.*, Vol. 24, pp. 148–154.