

PROPIEDADES DE BATIDOS CÁRNICOS INOCULADOS CON BACTERIAS LÁCTICAS TERMOTOLERANTES PROBIÓTICAS Y HARINA DE CACAO COMO PREBIÓTICO: ALIMENTO SIMBIÓTICO

PROPERTIES OF MEAT BATTERS INCOULATED WITH PROBIOTIC THERMOTOLERANT LACTIC ACID BACTERIA AND CACAO FLOUR: SIMBIOTIC FOOD

Guadalupe Gómez Chávez¹, María de Lourdes Pérez Chabela², Alfonso Totosa^{1*}

¹Laboratorio de Alimentos. Tecnológico de Estudios Superiores de Ecatepec,

Av. Tecnológico s/n esq. Av. Central, Ecatepec C. P. 55210, Estado de México, MÉXICO. ²Departamento de Biotecnología, Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa.

Av. San Rafael Atlixco # 86, Iztapalapa C. P. 09270, Distrito Federal, MÉXICO.
Correo-e: atotosa@tese.edu.mx (*Autor para correspondencia)

RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue determinar el efecto prebiótico *in vitro* de la harina de cacao (*Theobroma cacao*) sobre el crecimiento de bacterias lácticas termotolerantes probióticas en un batido cárnico. Se adicionó harina de cacao a los batidos cárnicos inoculados con *P. pentosaceus* y se determinó su efecto sobre la viabilidad de esta bacteria, así como el efecto de la harina de cacao sobre la rancidez oxidativa, color instrumental y textura, además del conteo de bacterias lácticas durante quince días de almacenamiento a 4 °C (crecimiento *in situ*). El crecimiento *in vitro* utilizando harina de cacao como fuente de carbono fue aceptable, con conteos mayores al de glucosa como fuente de carbono. La rancidez oxidativa de las muestras con cacao fue menor al control. El color de las muestras con harina de cacao fue menos luminoso y menos rojo, pero más amarillo. La adición de harina de cacao provocó una textura menos dura pero más cohesiva, sin cambios en la elasticidad de las muestras. Los conteos de bacterias lácticas aumentaron con el tiempo de almacenamiento en las muestras con harina de cacao, por lo que ésta tuvo un efecto promotor del crecimiento de aquéllas. Por lo tanto, el uso de este tipo de bacteria en productos cárnicos cocidos resulta en un alimento con alto valor nutricional o simbiótico, que podría mejorar la flora intestinal con su consumo.

Palabras clave adicionales: Batidos cárnicos, probióticos, prebióticos, simbióticos

ABSTRACT

The aim of the current study was to establish the *in vitro* prebiotic effect of cacao flour (*Theobroma cacao*) on the growth of probiotic thermotolerant lactic acid bacteria in a meat batters. Cacao flour was added to meat batters inoculated with *P. pentosaceus*, in order to establish its effect on lactic acid bacteria viability, as well as its effect on oxidative rancidity, instrumental color, texture and lactic acid bacteria (*in situ*) growth during 15 days of storage at 4 °C. The *in vitro* growth of lactic acid bacteria using cacao flour as carbon source was acceptable compared with the growth obtained using glucose. Oxidative rancidity was diminished in cacao flour samples. The color of the samples was less bright and red, but more yellow. The addition of cacao flour produced a less hard and more cohesive texture, with no changes in elasticity parameters. Lactic acid bacteria counts increased during storage, having a growth promoting effect. Therefore, the use of this kind of bacteria in cooked meat products lead to a foodstuff with high nutritional or symbiotic value that enhance microbial intestinal flora due to its intake.

Additional key words: Meat batters, probiotics, prebiotics, symbiotic.

INTRODUCCIÓN

Las tendencias mundiales de la alimentación en los últimos años indican un interés acentuado de los consumidores hacia ciertos alimentos, que además del valor nutritivo aporten beneficios a las funciones del organismo humano. Estas variaciones en los patrones de alimentación generaron una nueva área de desarrollo en las ciencias de los alimentos y de la nutrición que corresponde a la de los alimentos funcionales. El término Alimento Funcional se refiere a aquellos alimentos procesados que contienen ingredientes que desempeñan un papel específico en la fisiología del organismo humano, más allá de su contenido nutrimental (Arai, 1996).

Los prebióticos son ingredientes alimentarios no digeribles que afectan beneficiosamente al hospedero estimulando el crecimiento y/o actividad de una o un número limitado de bacterias en el colon, mejorando así su salud (Schrezenmeir y Vrese, 2001; Charalampopoulos *et al.*, 2003; Staton *et al.*, 2005). Los probióticos son definidos como alimentos que contienen microorganismos vivos que activamente realizan la salud de los consumidores por mejorar el balance de la microflora en el intestino que provee beneficios para la salud, esto después de sobrevivir al tracto intestinal y colonizar el colon, llegando a ser flora dominante en el mismo (Pérez-Chabela y Ramírez-Chavarrín, 2007, Pérez-Chabela, 2008). Los prebióticos pueden mejorar el crecimiento y la supervivencia de los cultivos probióticos, influyendo en su crecimiento y producción de metabolitos.

Debido a la sinergia potencial entre probióticos y prebióticos, los alimentos que contienen una combinación de estos ingredientes se refieren a menudo como simbióticos (Gibson y Roberfroid, 1995). Los alimentos simbióticos contienen ingredientes probióticos y prebióticos, dieta que aumenta el número bacterias intestinales probióticas, mejorado por la presencia de prebióticos, promoviendo el cambio de la flora por bacterias probióticas que predominarán en el colon, lo cual causa un efecto benéfico, por lo que los productos cárnicos probióticos, prebióticos y simbióticos tienen un gran potencial en el diseño de nuevos productos (Arihara, 2006).

De manera general, el cacao está reconocido como importante fuente dietética de antioxidantes dado su elevado contenido en compuestos fenólicos: procianidinas y flavonoides principalmente (Wollgast y Anklam, 2000). Las dos características principales que contribuirían en mayor medida al papel saludable de la fibra de cacao serían, presumiblemente, su elevado contenido en fibra dietética y una elevada capacidad antioxidante derivada de su contenido en compuestos fenólicos. Se ha sugerido, además, que la cáscara de cacao puede ser una buena fuente de fibra dietética, con los valores reportados que van de 38 a 44 % de fibra dietética total como los polisacáridos no amiláceos (Martín-Cabrejas *et al.*, 1994; Serra-Bonvehí y Aragay-Benería, 1998). Por lo tanto, el grano de cacao entero presenta grandes beneficios en su composición para ser utilizado como ingrediente funcional.

Los productos cárnicos pueden ser modificados agregando ingredientes considerados benéficos para la salud, como prebió-

ticos y probióticos. El uso de este tipo de ingredientes ofrece la oportunidad de mejorar la calidad nutricional y cualidades nutritivas de los productos cárnicos (Fernández-Ginés *et al.*, 2003). A pesar de que los principales vehículos para el aporte de probióticos que se encuentran en el mercado son los productos lácticos, los cárnicos tienen potencial debido al bajo costo y alta demanda de productos emulsionados y cocidos como las salchichas.

El presente trabajo se desarrolló con objeto de evaluar el efecto de la harina de cacao tanto *in vitro* como *in situ* en el crecimiento de bacterias lácticas probióticas como fuente de carbono, es decir, prebiótico, y sobre las propiedades de batidos cárnicos tales como rancidez oxidativa, color instrumental y textura durante su almacenamiento a 4 °C durante 15 días.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención y análisis de la harina de cacao

Los granos de cacao (*Theobroma cacao*) fueron adquiridos en un mercado local del puerto de Tuxpan, Veracruz, México. Se desconocen las operaciones previas de recolección, preparación y limpieza. Los granos fueron molidos en un molino manual para granos y tamizado (número de malla 24) para obtener un fino polvo homogéneo y de menor tamaño de partícula, llamado "harina de cacao".

Se determinó la fibra total en la harina de cacao de acuerdo al Método Oficial AOAC (1998) 985.29, Fibra dietética total en alimentos, Método gravimétrico-enzimático. Se pesó un gramo de muestra en un matraz al que se le adicionaron 50 mL de buffer de fosfatos pH 6.0, se le agregó 0.10 mL de α -amilasa, se cubrió el matraz con papel aluminio y se colocó en baño maría a 95 °C por 15 min. Se dejó enfriar al matraz a temperatura ambiente. Posteriormente se ajustó el pH a 7.5, agregando aproximadamente 10 mL de NaOH 0.275 N; se preparó una solución de 50 mg mL⁻¹ de proteasa en buffer de fosfatos y se agregó 0.1 mL al matraz, se tapó y se incubó en el baño maría a 60 °C por 30 min, para después dejarse enfriar a temperatura ambiente. Se ajustó el pH a 4-4.6 agregando 10 mL de HCl 0.325 M y se adicionó 0.1 mL de aminoglucosidasa, se cubrió el matraz e incubó a 60 °C por 30 min. Se añadieron 4 volúmenes de etanol al 95 % al matraz. Se dejó reposar toda la noche para completar la precipitación. Se filtró y se pusieron a peso constante los crisoles con celita; luego se humedeció el celita con etanol al 78 %; posteriormente se aplicó un poco de solución, se lavó el residuo tres veces con 20 mL de etanol al 78 % y dos veces con 20 mL de etanol al 95 %; finalmente se lavó con 20 mL de acetona. Se secaron los crisoles en la estufa a 100 °C. **Después se enfriaron en un desecador a temperatura ambiente. Se registró el peso y se cuantificó el porcentaje de fibra por diferencia de peso.**

Se determinó la actividad prebiótica por el método de conteo viable en agar TPY (por sus siglas en inglés, Trypticase phytone Peptone Yeast extract, o bien, extracto de levadura y trip-ticosa de soya y peptona), inoculando *Pediococcus pentosaceus*,

microorganismo previamente aislado de productos cárnicos cocidos e identificado como termotolerante y probiótico (Victoria León *et al.*, 2006; Ramírez Chavarín *et al.*, 2010) y sustituyendo la glucosa por harina de cacao en diferentes porcentajes: 0.5, 1.0 y 1.5 g·L⁻¹. Se reportaron las UFC a las 12 h (Bustamante *et al.*, 2006).

Elaboración de salchichas

Para determinar el efecto prebiótico y antioxidante de la harina de cacao *in situ*, se utilizó una formulación de batido cárnico como sistema modelo. Se empleó una cepa de bacteria láctica previamente identificada y reportada como probiótica (Ramírez-Chavarín *et al.*, 2010), *P. pentosaceus*, en caldo MRS. La cepa se inoculó durante 24 h a 37 °C hasta alcanzar una densidad óptica de 1,000 a 600 nm. Se realizaron dos formulaciones, una llamada Control (sin harina de cacao) y otra con harina de cacao como prebiótico y antioxidante (Cuadro 1). Se pesaron los ingredientes de acuerdo a los porcentajes indicados; se molió en un procesador de alimentos la carne de cerdo, más la mitad del porcentaje indicado de hielo (previamente triturado) hasta obtener una pasta. Posteriormente se adicionaron las sales (NaCl, Sal cura y Fosfatos), la harina de trigo y la harina de cacao. Una vez obtenida la pasta, se incorporaron la otra mitad de hielo y el lardo. Al batido obtenido se adicionó las bacterias lácticas y se mezcló hasta obtener una pasta homogénea, y se procedió a embutir de forma manual en fundas de celulosa, cerrándose con hilo cáñamo por los extremos, para dejarse reposar posteriormente durante 15 min. Los embutidos se cocieron a 72 °C (temperatura interna del embutido) durante 10 min, y después de enfriar a temperatura ambiente se almacenaron al vacío a 4 °C para ser muestreados a los 1, 5, 10 y 15 días de almacenamiento.

CUADRO 1. Formulaciones para elaboración de los batidos cárnicos con harina de cacao y bacterias lácticas.

Ingredientes (%)	Control	Harina de cacao
Carne de Cerdo	50.0	50.0
NaCl	2.0	2.0
Sal Cura	0.40	0.40
Fosfatos	0.50	0.50
Harina de trigo	3.0	3.0
Lardo	10.0	10.0
Harina de cacao	0.00	0.15
Bacterias lácticas	5.0	5.0
Hielo	30.0	30.0

Determinación de rancidez oxidativa (valores TBA)

Las muestras se molieron finamente en una cápsula de porcelana. A 10 g de cada muestra se les agregaron 96.5 mL de agua destilada a 50±5 °C de temperatura, 1.5 mL de HCl 4N y 2 mL de sulfanilamida al 0.5 en 20 % HCl (v/v) y se mezclaron durante 2 min. La mezcla fue transferida a un matraz de bola de 250 mL de capacidad, y se le añadieron dos gotas de agente antiespumante. Se destiló hasta obtener 50 mL de destilado.

Se mezclaron 5 mL del destilado con 5 mL de reactivo 2-ácido tiobarbitúrico en un tubo de ensayo con tapa rosca, el cual se introdujo en agua hirviendo durante 35 min. La densidad óptica del cromógeno rosa formado fue medida en espectrofotómetro a 532 nm de longitud de onda, multiplicando los valores por 8.1 para obtener la concentración de malonaldehído en mg·kg⁻¹, valores del TBA (Thio Barbituric Acid, por las siglas en inglés del ácido tiobarbitúrico) (Shahidi *et al.*, 1985).

Determinación de color

El color se determinó adaptando la metodología reportada por Yam y Papadakis (2004). Se utilizó un escáner de cama plana y el software Adobe Photoshop® para convertir las imágenes escaneadas a las coordenadas Lab, obteniendo los parámetros de: luminosidad (*L), componente rojo (a*) y componente amarillo (b*). Los valores se estandarizaron de acuerdo a las siguientes fórmulas:

$$L^* = \frac{\text{luminosidad}}{225} \times 100 \quad (1)$$

$$a^* = \frac{240 a}{255} - 120 \quad (2)$$

$$b^* = \frac{240 b}{255} - 120 \quad (3)$$

Determinación de textura

Se determinó el análisis de perfil de textura por el método reportado por Bourne (1978, 1995) y Szczesniak (1963). Las muestras fueron estudiadas en un texturómetro LFRA-Brookfield 4500 (Brookfield Engineers, Middleboro), el cual fue equipado con una celda de 5 kg y una sonda de acrílico de 25 mm de diámetro. Las muestras se cortaron a 25 mm de longitud y se colocaron en el eje del centro del texturómetro, comprimiendo la muestra en un 50 % de su altura original en dos ciclos consecutivos. La velocidad del cabezal fue de 5 mm·s⁻¹ y

cinco segundos de espera para comenzar el segundo ciclo. El análisis de perfil de textura fue calculado a partir de las áreas formadas entre fuerza y tiempo, de acuerdo a: dureza, tomada como la fuerza necesaria para alcanzar una deformación dada; cohesividad o fuerza de los enlaces internos que proporcionan el cuerpo a la muestra; resorte o grado en el cual un producto regresa a su forma original una vez que ha sido comprimido; y resiliencia, considerada como la capacidad de recuperar la forma original después de haberse aplicado una fuerza de compresión.

Conteo de bacterias lácticas

Se molieron en un mortero 10 g de muestra de batido cárnico más 90 mL de agua destilada; posteriormente se filtró con una gasa estéril y se tomó un mL del sobrenadante, el cual se adicionó a un tubo con rosca con 9 mL de agua esterilizada. Se realizaron las diluciones pertinentes, sembrando en agar MRS e incubando a 32 °C durante 12 horas (De Man *et al.*, 1960), para

posteriormente realizar el conteo de colonias, para obtener las UFC·g⁻¹. Esto se realizó para muestra control o con cacao a los días 1, 5, 10 y 15.

Diseño experimental y análisis de resultados

Se utilizó un diseño factorial con las variables tratamiento (con o sin cacao) y tiempo de almacenamiento (1, 5, 10 y 15 días). Los resultados se analizaron en el paquete estadístico SAS versión 8.0 (SAS Systems, Cary, Carolina del Norte), determinando diferencia significativa ($P < 0.05$) entre medias mediante la prueba de Duncan. Se utilizó el siguiente modelo:

$$y_{ij} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \epsilon_{ij} \quad (4)$$

Donde y_{ij} representan las variables respuesta para el i -ésimo tratamiento (control o con harina de cacao) al j -ésimo día de almacenamiento (5, 10 o 15 días); μ es la media total, α_i y β_j son los efectos principales por el tratamiento y día de almacenamiento, respectivamente, ϵ_{ij} es el error residual asumiendo una distribución Normal con una varianza σ^2 de cero (Der y Everitt, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Caracterización de la harina de cacao

El contenido de fibra dietética total en la harina de cacao encontrada en este trabajo fue de 51.2 %, lo cual representa un porcentaje mayor a lo reportado por Martín-Cabrejas *et al.* (1994), Serra-Bonvehí y Aragay-Benería (1998), quienes encontraron valores para el cacao con cáscara entre 38 y 44 % de fibra dietética total, respectivamente. Sin embargo, el contenido de fibra total reportado por Lecumberri *et al.* (2007) fue superior al 60 % de la masa seca. Esto significa que la harina obtenida es una buena fuente de fibra dietética, por lo que su uso en alimentos podría mejorar la calidad nutricional y enriquecer sus propiedades funcionales.

En la actividad prebiótica, el crecimiento de las bacterias fue mayor con la adición de harina de cacao, probablemente debido a que la bacteria láctica puede metabolizarla y promueve además su crecimiento (Cuadro 2). Concentraciones bajas de harina de cacao (0.05 %) tuvieron valores de crecimiento de bacterias similares al de utilizar glucosa (0.10 %) como fuente de carbono. Por estos resultados se decidió utilizar 0.15 % en la formulación de los batidos cárnicos, ya que el conteo de bacterias lácticas fue mayor.

Propiedades de los batidos cárnicos inoculados

El Cuadro 3 muestra los resultados del análisis de medias a los resultados obtenidos. Los valores TBA aumentaron con el tiempo de almacenamiento, sobre todo después de los 10 días. Las muestras Control tuvieron valores mayores que las muestras con harina de cacao, por lo que posiblemente la incorporación de este ingrediente funcional disminuyó la oxidación de lípidos, derivado de los altos porcentajes de compuestos antioxidantes como catequinas, antocianinas y pro-antocianidinas, además de flavonoides del cacao (Wollgast y Anklam, 2000; Ramiro-Puig y Castell, 2009), los cuales probablemente redujeron la formación de malonaldehído.

La luminosidad de las muestras disminuyó con el tiempo de almacenamiento, donde después de los cinco días fueron más oscuras. Del mismo modo, la incorporación de harina de cacao resultó en una coloración menos luminosa. El componente rojo de color aumentó con el tiempo de almacenamiento, con valores mayores para las muestras control. En contraste, la coloración amarilla disminuyó al pasar el tiempo de almacenamiento, donde las muestras con harina de cacao fueron más amarillas. Se ha reportado que la incorporación de fibra modifica el color de productos cárnicos cocidos, haciéndolos más amarillos, menos luminosos y menos rojos (Grigelmo-Miguel *et al.*, 1999; Fernández-Ginés *et al.*, 2004; García *et al.*, 2007). Del mismo modo, probablemente en los compuestos ricos en flavonoides y taninos del cacao, que poseen una coloración café (Abbiola y Tewe, 1991; Bonvehí y Jordá, 1998; Ramiro-Puig y Castell, 2009), la luminosidad y la tonalidad roja se vieron disminuidas, aumentando, en contraste, la coloración amarilla con la incorporación de la harina de cacao.

La dureza de las muestras fue menor a los 15 días de almacenamiento, con valores menores de dureza para las muestras con harina de cacao. La cohesividad aumentó a los 15 días de almacenamiento, con valores menores para las muestras con harina de cacao. El resorteo y la resiliencia no tuvieron variaciones durante el almacenamiento, ni tampoco entre tratamientos. De este modo, la incorporación de la harina de cacao disminuyó la dureza pero aumentó la cohesividad de las muestras, sin modificar el resorteo ni la resiliencia. Esto es, los batidos cárnicos con este ingrediente funcional fueron más dúctiles, sin afectar las características de elasticidad de las muestras. Se ha reportado también que la adición de fibra hace a los productos más suaves (García *et al.*, 2007). La fibra dietética posee una alta capacidad de hidratación y retención de agua, y dado que el cacao contiene aproximadamente un 10.09 % de fibra soluble dentro de las cuales

CUADRO 2. Crecimiento de *P. pentosaceus* con glucosa o harina de cacao como fuente de carbono.

Fuente de carbono	UFC mL ⁻¹
Glucosa al 0.10 %	1.60x10 ⁹
Harina de cacao al 0.05 %	1.84x10 ⁹
Harina de cacao al 0.10 %	1.94x10 ⁹
Harina de cacao al 0.15 %	2.08x10 ⁹

CUADRO 3. Análisis de medias de los resultados de color, dureza, rancidez oxidativa y conteo de bacterias lácticas por efecto de la incorporación de harina de cacao en la formulación de los batidos cárnicos.

	Tiempo de almacenamiento (días)							
	1		5		10		15	
	Control	Harina cacao	Control	Harina cacao	Control	Harina cacao	Control	Harina cacao
Valores TBA	0.210 ^{A,c}	0.162 ^{B,c}	0.283 ^{A,c}	0.170 ^{B,c}	0.315 ^{A,b}	0.210 ^{B,b}	0.740 ^{A,a}	0.520 ^{B,a}
Luminosidad (L*)	68.74 ^{A,a}	63.82 ^{B,a}	68.28 ^{A,b}	65.26 ^{B,b}	66.74 ^{A,c}	60.82 ^{B,c}	64.02 ^{A,c}	61.94 ^{B,c}
Rojo (a*)	7.72 ^{A,c}	7.05 ^{B,c}	9.21 ^{A,b}	8.75 ^{B,a}	10.48 ^{A,a}	9.44 ^{B,a}	10.57 ^{A,a}	9.66 ^{B,a}
Amarillo (b*)	12.61 ^{B,a}	14.73 ^{A,a}	12.28 ^{B,b}	13.49 ^{A,b}	11.04 ^{B,b}	12.96 ^{A,b}	11.83 ^{B,c}	12.47 ^{A,c}
Dureza (N)	29.73 ^{A,a}	20.66 ^{B,a}	29.10 ^{A,a}	23.06 ^{B,a}	28.90 ^{A,a}	23.06 ^{B,a}	27.80 ^{A,b}	22.86 ^{B,b}
Cohesividad	0.706 ^{B,b}	0.796 ^{A,b}	0.701 ^{B,a}	0.785 ^{A,b}	0.717 ^{B,b}	0.786 ^{A,b}	0.711 ^{B,a}	0.791 ^{A,a}
Resorteo	1.002 ^{A,a}	1.001 ^{A,a}	1.000 ^{A,a}	1.000 ^{A,a}	1.000 ^{A,a}	1.000 ^{A,a}	0.998 ^{A,a}	1.000 ^{A,a}
Resilancia	0.321 ^{A,a}	0.340 ^{A,a}	0.394 ^{A,a}	0.385 ^{A,a}	0.378 ^{A,a}	0.367 ^{A,a}	0.394 ^{A,a}	0.384 ^{A,a}
Log UFC/gs	2.82 ^{B,d}	2.93 ^{A,d}	3.19 ^{B,c}	4.36 ^{A,c}	5.47 ^{B,b}	7.86 ^{A,b}	6.23 ^{B,a}	8.75 ^{A,a}

^{A,B} Medias con la misma letra en el mismo renglón no son significativamente diferentes a una $P > 0.05$ para tratamiento.

^{a,b} Medias con la misma letra en el mismo renglón no son significativamente diferentes $P > 0.05$ para tiempo de almacenamiento.

hay pectinas, éstas podrían favorecer la textura del batido cárnico (Lecumberri *et al.*, 2007). De este modo, debido posiblemente a la fibra contenida en la harina de cacao, las interacciones proteína-agua y proteína-proteína dentro de la matriz proteica miofibrilar son modificadas, lo que en cierta medida desfavorece la fuerza de gel del producto final (Lin *et al.*, 1988; Grigelmo-Miguel *et al.*, 1999).

Los conteos de bacterias lácticas aumentaron con el tiempo de almacenamiento, y la incorporación de harina de cacao mejoró su crecimiento al presentar valores mayores al control. La presencia de fibra modifica el crecimiento de bacterias lácticas en productos cárnicos como la boloña (Fernández-Ginés *et al.*, 2003). Esto podría significar que la harina de cacao tiene un efecto promotor del crecimiento de bacterias lácticas termotolerantes probióticas. Estas bacterias ácido-lácticas aisladas de productos cárnicos cocidos (Victoria-León *et al.*, 2006; Pérez-Chabela *et al.*, 2008) e identificadas como termotolerantes y probióticas (Ramírez-Chavarrín *et al.*, 2010) pueden ser empleadas como cultivos iniciadores en productos cárnicos cocidos. Estas bacterias, dentro de las cuales está el *P. pentosaceus* utilizado, no producen mayores cambios en el color, textura o aceptación del consumidor, probablemente debido a su metabolismo homofermentativo. Cuando se inoculan durante la elaboración de los batidos cárnicos y antes del tratamiento térmico, sus características termotolerantes probablemente les permiten llegar a ser flora dominante, por lo que podrían ser utilizadas como cultivos bioprotectores para mejorar la seguridad microbiológica de los productos cárnicos cocidos, ya que el número de enterobacterias disminuye debido a su presencia (Pérez-Chabela *et al.*, 2008).

La prevalencia de bacterias ácido-lácticas en productos cárnicos emulsionados y empacados al vacío a temperaturas de refrigeración depende de varios factores intrínsecos y extrínsecos, como composición, actividad de agua, método de empaque y temperatura de almacenamiento. Este dominio de las bacterias lácticas puede extenderse hasta por 25 días a temperaturas de refrigeración (Korkeala *et al.*, 1989; Samelis *et al.*, 2000; Cayré

et al., 2003). De este modo, al ser anaerobias microtolerantes, tienen un buen desarrollo en productos cárnicos empacados al vacío, al igual que las enterobacterias, pero a estas condiciones de almacenamiento las bacterias lácticas predominan sobre las enterobacterias a temperaturas de refrigeración (Von Holy *et al.*, 1991).

CONCLUSIONES

Debido a sus propias características benéficas, tanto en el aporte de ingredientes funcionales (flavonoides, fibra, etcétera) y como posible componente prebiótico (ya sea *in vitro* o *in situ*), el consumo del cacao en batidos cárnicos cocidos inoculados con bacterias lácticas termotolerantes resulta de alto valor nutricional, ya que, además de aportar los nutrientes propios de la salchicha, al ser un alimento simbiótico podría mejorar la flora intestinal.

LITERATURA CITADA

- Abbiola S. S.; Tewe O. 1991. Chemical evaluation of cocoa by-products. *Tropical Agriculture (Trinidad)* 68: 335-336.
- AOAC. 1998. Official Method 950.46: Moisture in meat products. Official Methods of Analysis of AOAC International. Washington D.C.: Association of Official Analytical Chemists, CD-ROM.
- Arai S. 1996. Studies on functional foods in Japan. State of the art. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry* 60: 9-15.
- Arihara K. 2006. Strategies for designing novel functional meat products. *Meat Science* 74: 219-229.
- Bonvehí J. S.; Jordá R. E. 1998. Constituents of cocoa husks. *Z. Naturforsch.* 53: 785-792.
- Bourne M. C. 1978. Texture profile analysis. *Food Technology* 32(7): 62-66, 72.
- Bourne M. C. 1995. Texture profile analysis- methodology interpretation clarified. *Journal of Food Science* 60: vii.
- Bustamante P.; Mayorga L.; Ramírez H.; Martínez P.; Barranco E.; Azaola A. 2006. Evaluación microbiológica de compuestos con actividad prebiótica. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 37(2): 5-9.
- Cayré M. A.; Vignolo G.; Garro O. 2003. Modeling lactic acid bacteria growth in vacuum-packaged cooked meat emulsions stored at three tem-

- peratures. *Food Microbiology* 20: 561-566.
- Charalampopoulos D.; Pandiella S. S.; Webb C. 2003. Evaluation of the effect of malt, wheat and barley extracts on the viability of potentially probiotic lactic acid bacteria under acid conditions. *International Journal of Food Microbiology* 82: 133-141.
- De Man J. C.; Rogosa M.; Sharpe M. E. 1960. A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology* 23: 130-135.
- Der G.; Everitt B. S. 2002. *Handbook of Statistical Analyses Using SAS*. Chapman and Hall/CRC, Boca Raton: 101-116.
- Fernández-Ginés J. M.; Fernández-López J.; Sayas-Barberá E.; Sendra E.; Pérez-Álvarez J. A. 2003. Effect of storage conditions on quality characteristics of bologna sausages made with citrus fiber. *Journal of Food Science* 68: 710-715.
- Fernández-Ginés J. M.; Fernández-López J.; Sayas-Barberá E.; Sendra E. Pérez-Álvarez J. A. 2004. Lemon albedo as a new source of dietary fiber: Application to bologna sausages. *Meat Science* 67: 7-13.
- García M. L.; Cáceres E.; Selgas M. D. 2007. Utilisation of fruit fibres in conventional and reduced-fat cooked-meat sausages. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 87: 624-631.
- Gibson G. R.; Roberfroid M. B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition* 125: 1401-1412.
- Grigelmo-Miguel N.; Abadías-Serós M. I.; Martín-Belloso O. 1999. Characterisation of low-fat high-dietary fibre frankfurters. *Meat Science* 52: 247-256.
- Korkeala H.; Alanko T.; Makela P.; Lindroth S. 1989. Shelf-life of vacuum-packed cooked ring sausages at different chill temperatures. *International Journal of Food Microbiology* 9: 237-247.
- Lecumberri E.; Mateos R.; Izquierdo-Pulido M.; Rupérez P. 2007. Dietary fibre composition, antioxidant capacity and physico-chemical properties of a fibre-rich product from cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Food Chemistry* 104: 948-954.
- Lin K. C.; Keeton J. T.; Gilchrist C. L.; Cross H. R. 1988. Comparisons of carboxymethyl cellulose with differing molecular features in low fat frankfurters. *Journal of Food Science* 53: 1592-1595.
- Martín-Cabrejas M. A.; Valiente C.; Esteban R. M.; Molla E.; Waldron K. 1994. Cocoa hull: a potential source of dietary fiber. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 66: 307-311.
- Pérez-Chabela M.L. 2008. Probióticos en productos cárnicos. *Nacameh* 2 (1): 53-62.
- Pérez-Chabela M.L.; Ramírez-Chavarrín N.L. 2007. Utilización de bacterias lácticas termoresistentes como probióticos en productos cárnicos cocidos. *Nacameh* 1 (2): 87-96.
- Pérez-Chabela M.L.; Totosaus A.; Guerrero I. 2008. Evaluation of thermotolerant capacity of lactic acid bacteria isolated from commercial sausages and the effects of their inoculation on the quality of cooked sausages. *Ciencia e Tecnología de Alimentos, Campañas* 28 (1): 132-138.
- Ramírez-Chavarrín N. L.; Wachter-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: 585-596.
- Ramiro-Puig E.; Castell M. 2009. Cocoa: antioxidant and immunomodulator. *British Journal of Nutrition* 101: 931-940.
- Samelis J.; Kakouri A.; Rementzis J. 2000. Selective effect of the product type and the packaging conditions on the species of lactic acid bacteria dominating the spoilage microbial association of cooked meats at 4 °C. *Food Microbiology* 17: 329-340.
- Schrezenmeier J.; Vrese M. 2001. Probiotics, prebiotics, and symbiotic-approaching a definition. *American Journal of Clinical Nutrition* 73 (Suppl.): 361-364.
- Serra-Bonvehí J.; Aragay-Benería M. 1998. Composition of dietary fibre in cocoa husk. *European Food Research and Technology* 207: 105-109.
- Shahidi F.; Rubin L.; Diosady L.; Wood F. 1985. Effect of sulfanilamide on TBA values of cured meats. *Journal of Food Science* 50: 274-275.
- Staton C.; Ross R. P.; Fitzgerald G. F.; Van Sideren D. 2005. Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites. *Current Opinion in Biotechnology* 16: 198-203.
- Szczeciński A. S. 1963. Classification of textural characteristics. *Journal of Food Science* 28: 385-389.
- 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.
- Von Holy A.; Cloete T. A.; Dykes G. A. 1991. Quantification and characterization of microbial populations associated with spoil, vacuum packed Vienna sausages. *Food Microbiology* 8: 95-104.
- Wollgast J.; Anklam E. 2000. Review on polyphenols in *Theobroma cacao*: changes in composition during the manufacture of chocolate and methodology for identification and quantification. *Food Research International* 33: 423-47.
- Yam K. L.; Papadakis S. E. 2004. A simple digital imaging method for measuring and analyzing color of food surfaces. *Journal of Food Engineering* 61: 137-142.