

Efecto de limpieza profunda sobre bacterias ácido lácticas y *Leuconostoc* en un proceso de producción de base de helado

Bravo Pantaleón C.L.¹ • Miranda Castilleja D.E.¹ • Hernández Barrales E.²
Rodríguez Patiño, E.² • Arvizu Medrano S.M.^{1*}

Palabras clave: deterioro microbiano, higienización, alimentos lácteos azucarados
Key words: microbial spoilage, sanitization, sugary dairy products

Introducción

La seguridad alimentaria es uno de los grandes desafíos que se enfrenta hoy en día a nivel mundial, debido a la creciente población y a la pérdida de alimentos en su cadena de suministros. Según la FAO, se desperdicia un tercio de los alimentos que se producen, es decir, 1300 millones de toneladas anuales, siendo el deterioro una de las causas. Se estima que aproximadamente el 14 % de estos alimentos se encuentran en proceso de deterioro antes de llegar a los consumidores finales, causando pérdidas económicas a lo largo de la cadena [1]. El deterioro es un proceso complejo que puede deberse a causas microbianas, químicas o físicas, las bacterias son responsables de

los más rápidos y diversos procesos de deterioro en los alimentos [2,3]. Este fenómeno puede deberse a distintos factores como materias primas de baja calidad, condiciones de procesamiento insuficientes, transporte, inadecuado manejo higiénico por parte del personal que los elabora, así como almacenamiento del producto que propicien el desarrollo microbiano [4].

El deterioro puede presentarse en cualquier tipo de productos, pero hay una mayor afinidad por productos mínimamente procesados (frutas, verduras, etc.) y aquellos con alto contenido de nutrientes (carne, leche, etc.), por ser ambientes favorables para que

1 Facultad de Química. Universidad Autónoma de Querétaro. Cerro de las Campanas s/n, Centro Universitario, 76010, Santiago de Querétaro, Querétaro, México. Tel. +52 442 192 1200

2 Empresa colaboradora

* sofia.arvizu@uaq.edu.mx



los microorganismos desarrollen.

Los productos lácteos azucarados son alimentos altamente susceptibles al desarrollo microbiano, principalmente por su contenido de nutrientes, el favorable nivel de actividad de agua y en la mayoría de ellos a su pH cercano a la neutralidad. Estos alimentos pueden fungir como insumos para la elaboración de una gran variedad de productos de repostería o panificación, como es el caso de las bases de helado y los jarabes de leche, los cuales representan el 22 % del total de producción de los productos lácteos [5]. Las bacterias ácido lácticas (BAL) son uno de los principales grupos bacterianos que se encuentran presentes en estos productos y que pueden causar alteraciones no deseables, como mal olor, aumento de viscosidad, acidificación y gasificación [6]. Se ha señalado que los ambientes de procesamiento de los alimentos deben de considerarse como una fuente importante de contaminación, debido a procedimientos de limpieza y desinfección insuficientes o probable contaminación cruzada en las áreas de producción. Cuando se detecta un brote de deterioro, las empresas suelen reforzar los procedimientos de limpieza y desinfección del proceso y es relevante evaluar de manera cuantitativa el impacto de las medidas aplicadas [7]. Por tal motivo el objetivo de este trabajo consistió en la evaluación de la aplicación de procedimientos de higienización intensivos y frecuentes en un proceso de producción de bases de helado.

Metodología

Se realizó la recolección de 87 muestras de 3 tipos dentro del proceso de producción de base de helados: líquidos de proceso (LP), superficies de equipos (s) y producto terminado (PT). El muestreo se realizó en dos etapas, previo y posterior a una serie de etapas de higienización del proceso de producción de los alimentos. La higienización consistió en procesos semanales de lavado y desinfección usando desinfectantes ácido y básicos de manera alternada sobre superficies de equipo y tuberías que fueron desmontados. Adicionalmente se realizó una única recolección de muestras de materia prima (n=14). Las muestras fueron trasladadas al laboratorio y procesadas dentro de las 2 h posteriores a la recolección.

Obtención de muestras

Líquidos de proceso y materia prima: asépticamente se llenaron bolsas estériles de muestreo para las muestras líquidas, en el caso de muestras sólidas, se utilizaron instrumentos propios del proceso.

Superficies de equipos: se utilizaron esponjas hidratadas en caldo neutralizante y diluyente de peptona (1%), las cuales se frotaron sobre las diferentes superficies (~100 cm²) para posteriormente ser colocadas en bolsas estériles.

Producto terminado: se tomaron tres alícuotas de productos terminados deteriorados contenidos en cubetas, a tres distancias de profundidad (superficie, medio y fondo), para producto al final de la línea de producción (recién elaborado) se tomó solo una muestra de manera aséptica; adicionalmente se tomaron muestras de producto terminado en condiciones de abuso de temperatura. Todas las muestras fueron colocadas en bolsas estériles.

Recuento de bacterias ácido lácticas (BAL)

De manera aséptica, se homogenizaron y pesaron 10g/10 ml de cada una de las muestras recolectadas en bolsas estériles y se les añadió 90 ml de diluyente de peptona, la mezcla se homogenizó en Stomacher® a velocidad media durante 1 min. De la suspensión resultante se realizaron diluciones decimales consecutivas y se tomaron 100 µl de diluciones seleccionadas para ser inoculadas en placas de agar MRS (Man, Rogosa y Sharpe) mediante la técnica de extensión en superficie y se incubaron a 30 °C ± 2 por 48 h.

Detección de *Leuconostoc*

De cada muestra homogenizada se tomó 1 ml y se enriqueció en 9 ml de caldo MRS (30 °C ± 2 por 24-48 h), una alícuota de 1 ml se empleó para extraer ADN y realizar una prueba de PCR para la detección de *Leuconostoc* previamente validada en alimentos, se utilizaron los iniciadores *Leuc A* (CAC TTT GTC TCC GAA GAG) y *Leuc S* (AAG CAG TGT TGT ATG GGA) bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial 94°C/ 5 min, 35 ciclos a 94°C/ 30 s, alineación 56°C/ 45 s, extensión 72°C/ 45 s y una extensión final de 72°C/ 5 min [8].

Resultados y discusión

Del total de muestras analizadas antes de las limpiezas, las muestras de producto terminado mostraron las más altas concentraciones de BAL, con un máximo de 8.1 Log UFC/ g y una media de 4.23 Log UFC/ g; las concentraciones más altas (>7 Log UFC/ g) correspondieron a producto deteriorado, mientras que los productos recién elaborados en su mayoría estuvieron por debajo del límite de detección (< 2 Log UFC/ g); posterior a la limpieza se observó una clara disminución en cuanto al contenido de BAL, la mayoría de los recuentos fueron inferiores al límite de detección (2 Log UFC/ g), con una media de 2.3 Log UFC/ g (Figura 1).

Las muestras que tuvieron las concentraciones más bajas de BAL fueron las superficies de equipos, con recuentos inferiores al límite de detección (2 Log UFC/ área), después de las limpiezas las concentraciones aumentaron ligeramente, teniendo una media de 2.4 Log UFC/ área. Por su parte, los líquidos en proceso no mostraron diferencias claras en la concentración de BAL antes y después de las limpiezas (media: 1.8 - 2.0 Log UFC/ ml); sin embargo, se observó una menor variación en las poblaciones microbianas después de las limpiezas.

En cuanto a las muestras analizadas de materia prima todas mostraron concentraciones de BAL inferiores al límite de detección (2 Log UFC/ g) y se detectó

una incidencia de 35.7 % para *Leuconostoc* (Tabla 1). Los sólidos de mantequilla y suero, materias prima clave en la elaboración del producto, fue en donde se detectó *Leuconostoc*. Las poblaciones que ingresan del microorganismo deteriorador al alimento mediante las materias primas son discretas, pero pueden presentarse en el proceso condiciones que favorezcan su sobrevivencia y desarrollo y que impacten en la vida útil del alimento.

La incidencia de *Leuconostoc* en las muestras analizadas fue sorprendente, desde un 20.0 % hasta un 42.9 % siendo el PT las de mayor porcentaje, seguido de LP y por último S (Tabla 2). Entre las muestras se observó una relación entre la concentración de BAL con la presencia de *Leuconostoc* antes de la limpieza, pero no posterior a esta. Hubo una disminución de aproximadamente el 20 % de la incidencia de *Leuconostoc* en todas las muestras analizadas posterior a las limpiezas, siendo las muestras de S en donde la incidencia fue 0 %. La higienización intensa sobre superficies de difícil acceso favorece la eliminación de reservorios de microorganismos en el proceso. Si posterior a la limpieza las BAL o *Leuconostoc* cuentan con una cantidad mínima nutrientes en su entorno, tendrán oportunidad de desarrollar y podrían adherirse, formar biopelículas y persistir en las diferentes áreas de producción.

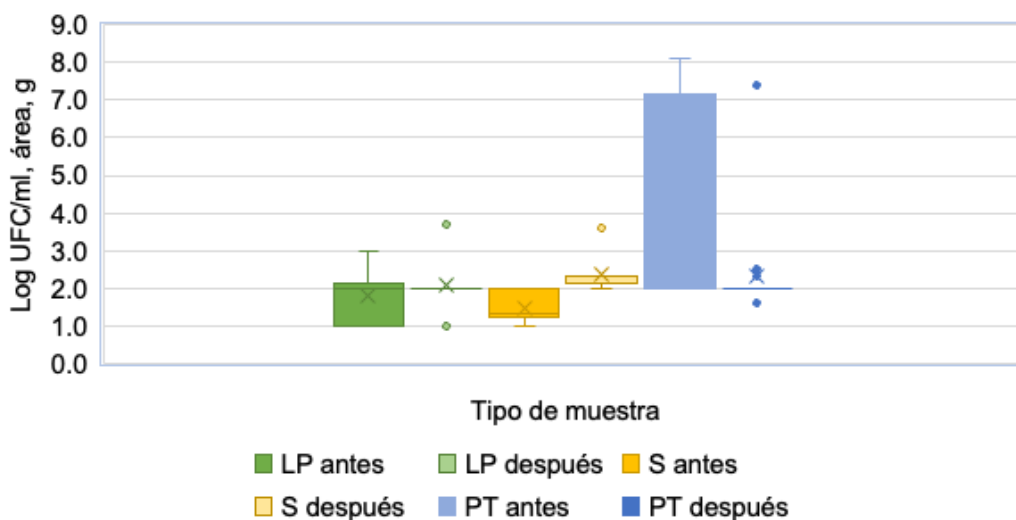


Figura 1. Recuentos de BAL antes y después del proceso de higienización

Tabla 1. Recuento de BAL e incidencia de *Leuconostoc* en materia prima

Materias primas	Log UFC/ml o g	<i>Leuconostoc</i>
Sólidos de mantequilla 1	< 2	Positivo
Sólidos de mantequilla 2	< 2	Positivo
Suero 1	< 2	Positivo
Suero 2	< 2	Positivo
Suero 3	< 2	Positivo
Leche en polvo	< 2	Negativo
Leche en polvo	< 2	Negativo
Alta fructosa	< 2	Negativo
Azúcar estándar	< 2	Negativo
Glucosa 43°	< 2	Negativo
L1	< 2	Negativo
L2	< 2	Negativo
L3	< 2	Negativo
L4	< 2	Negativo

Tabla 2. Incidencia de *Leuconostoc* en proceso de producción de base de helado

Tipo de muestras	% Incidencia de <i>Leuconostoc</i>	
	Pre higienización	Post higienización
Líquidos de procesos	35.3	11.1
Superficies de equipos	20.0	0
Producto terminado	42.9	19

Conclusión

Las limpiezas profundas y eficientes disminuyen el aporte de microorganismos (deterioradores o patógenos) de las superficies y equipos a los alimentos. *Leuconostoc* fue capaz de sobrevivir en diferentes áreas de producción posterior a las limpiezas, se requiere minimizar la probabilidad de que el microorganismo desarrolle para lograr una vida útil suficiente para la comercialización y consumo de los productos.

Agradecimientos

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada a Cinthya Lizbeth Bravo Pantaleón para la realización de los estudios de maestría.

Referencias

1. FAO. Pérdidas y desperdicio de alimentos en el mundo— Alcance, causas y prevención. Roma. Published online 2012:42.
2. Sahu M, Bala S. Food Processing, Food Spoilage and their Prevention: An Overview. *Int J Life-Sci Sci Res.* 2017;3(1). doi:10.21276/ijlssr.2017.3.1.1
3. Dousset X, Jaffrès E, Zagorec M. Spoilage: Bacterial Spoilage. In: Caballero B, Finglas PM, Toldrá F, eds. *Encyclopedia of Food and Health.* Academic Press; 2016:106-112. doi:10.1016/B978-0-12-384947-2.00649-8
4. Odeyemi OA, Alegbeleye OO, Strateva M, Stratev D. Understanding spoilage microbial community and spoilage mechanisms in foods of animal origin. *Compr Rev Food Sci Food Saf.* 2020;19(2):311-331. doi:10.1111/1541-4337.12526
5. INEGI. Banco de Información Económica. Published 2020. Accessed May 17, 2022. <https://www.inegi.org.mx/app/indicadores/>
6. Xu Z, Luo Y, Mao Y, et al. Spoilage Lactic Acid Bacteria in the Brewing Industry. *J Microbiol Biotechnol.* 2020;30(7):955-961. doi:10.4014/jmb.1908.08069
7. De Oliveira Mota J, Boué G, Prévost H, et al. Environmental monitoring program to support food microbiological safety and quality in food industries: A scoping review of the research and guidelines. *Food Control.* 2021;130:108283. doi:10.1016/j.food-cont.2021.108283
8. Macián M c., Chenoll E, Aznar R. Simultaneous detection of *Carnobacterium* and *Leuconostoc* in meat products by multiplex PCR. *J Appl Microbiol.* 2004;97(2):384-394. doi:10.1111/j.1365-2672.2004.02317.x