

UNIVERSIDAD DE BURGOS

ESCUELA DE DOCTORADO

TESIS DOCTORALES

TÍTULO: CHARACTERIZATION OF THE SPOILIAGE OF VACUUM-PACKGED "MORCILLA DE BURGOS"
"CARACTERIZACIÓN DEL PROCESO DE DETERIORO DE LA MORCILLA DE BURGOS ENVASADA AL VACIO"

AUTORA: GÓMEZ ROJO, ÉRICA MARÍA

PROGRAMA DE DOCTORADO: AVANCES EN CIENCIA Y BIOTECNOLOGÍA ALIMENTARIAS

FECHA LECTURA: 24/02/2015

HORA: 11:00

CENTRO LECTURA: ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR. SALÓN DE GRADOS. CAMPUS LA MILANERA

DIRECTOR: JORDI ROVIRA CARBALLIDO

TRIBUNAL: MIGUEL PRIETO MARADONA
ISABEL JAIME MORENO
DANILO ERCOLINI
DAVID RODRÍGUEZ LÁZARO
LORENA ROMERO SANTACREU

RESUMEN: En la actualidad, existe una creciente demanda por parte de los consumidores, de alimentos de calidad, seguros, saludables, con menor cantidad de aditivos, frescos (mínimamente procesados), con sabores naturales e innovadores y con mayor vida útil. Los productores deben proporcionar alimentos que cumplan dichas características garantizando productos de calidad desde el punto de vista microbiológico y sensorial durante el tiempo estimado de vida útil. Una de las causas más comunes de la disminución de la vida útil es el deterioro microbiano, el cual supone una grave preocupación para los fabricantes ya que genera graves pérdidas económicas. Por ello, la presente tesis tiene como objetivo profundizar en el conocimiento del proceso de deterioro microbiológico de los productos cárnicos, fundamentalmente de la morcilla de Burgos, así como en el desarrollo de nuevas técnicas para la identificación de la microbiota deteriorante. Este objetivo principal se dividió en tres objetivos parciales: (1) caracterizar e identificar la microbiota responsable del deterioro "típico" de la morcilla de Burgos evaluando los principales focos de contaminación y vehículos de dispersión de la microbiota responsable de este deterioro, (2) analizar las causas de la aparición de un proceso de deterioro "atípico" en la morcilla de Burgos y en otros productos cárnicos envasados al vacío y (3) desarrollar nuevas técnicas para la identificación y cuantificación de *Weissella viridescens*, la cual es una de las principales bacterias ácido lácticas (BAL) asociadas al deterioro de la morcilla de Burgos y de otros productos cárnicos cocidos. En primer lugar, *Leuconostoc mesenteroides* fue identificado como la BAL responsable del deterioro "típico" de la morcilla de Burgos, para todos los productores analizados en las diferentes zonas de la provincia de Burgos mediante la técnica de ribotipado. Seguida de una baja proporción, en algunos de ellos, de *W. viridescens*, así como de otras BAL, revelando que cada productor presentaba porcentajes variables de especies y de ribotipos de *L. mesenteroides* deteriorantes. Del mismo modo, mediante el uso de la electroforesis en gel de campo pulsado (PFGE), se determinó que cada productor poseía sus propios PFGE tipos deteriorantes de *L. mesenteroides*, los cuales no presentaban relación ni con el producto, ni con la zona de elaboración, dependiendo por tanto únicamente de las características de elaboración de cada productor. Sin embargo, las características sensoriales asociadas al crecimiento de *L.*

mesenteroides como pérdida de vacío, exudado blanco, ligera presencia de limosidad, pérdida de color y olores ácidos, aparecieron al final de la vida útil y fueron comunes a todos los productores. Este hecho sugiere que aunque todos los productores muestran un patrón de deterioro microbiológico distinto, en cuanto al perfil de especies y cepas, estos microorganismos actúan de forma similar en este tipo de productos bajo las condiciones de almacenamiento analizadas, indicando que el producto juega un importante papel en el proceso de deterioro.

En lo que se refiere a las posibles fuentes de contaminación y vehículos de dispersión de la microbiota responsable del deterioro de la morcilla de Burgos, se analizaron dos fábricas de elaboración de este producto. Se observó, tanto mediante técnicas de ribotipado como de PFGE, una gran diversidad de BAL que fue introducida al proceso de elaboración a través de las materias primas, la cual fue disminuyendo a lo largo de la línea de elaboración, presentando cada fábrica su propia “house-microbiota”. *L. mesenteroides* fue identificado mediante ribotipado como la BAL mayoritaria a lo largo de todo el proceso de elaboración en ambas fábricas, tanto en las materias primas, en las muestras ambientales, así como en el producto final y deteriorado. Además, mediante el empleo del PFGE se pudo relacionar en ambas fábricas, los PFGE tipos deteriorantes de *L. mesenteroides* con los identificados en las muestras arroz. Estos resultados sugieren que esta materia prima puede actuar como foco de contaminación primario de cepas de *L. mesenteroides*, y que el ambiente junto con la manipulación del producto por parte de los operarios (fundamentalmente a través de los guantes) y las superficies de trabajo favorecen la contaminación cruzada post-cocción del producto final.

Por otro lado, se analizó un episodio de deterioro “atípico” de la morcilla de Burgos caracterizado por un notable hinchamiento de los envases así como por una abundante presencia de limosidad alrededor del producto, previo a la fecha de caducidad. Las técnicas de ribotipado revelaron un cambio en el patrón deteriorante de la morcilla, en el cual se identificó una amplia diversidad de especies de BAL, en comparación con el patrón de deterioro “típico” descrito previamente. El análisis de las causas de la aparición de este deterioro “atípico” reveló que la introducción al ambiente de elaboración de cepas de *W. viridescens* estaba relacionada con la recepción de manteca refrigerada en condiciones inadecuadas. La capacidad de esta materia prima de dispersar la contaminación, debido a su bajo punto de fusión, junto con una mayor resistencia al tratamiento térmico de las cepas de *W. viridescens* y a su menor inhibición por parte de otras BAL presentes en la morcilla, favorecieron el crecimiento y la supervivencia de esta especie a lo largo del proceso de elaboración y en el producto deteriorado. Este hecho postula a *W. viridescens* como un posible factor clave que provoca la aparición del deterioro “atípico” de la morcilla de Burgos. En un trabajo posterior, se estudió si este patrón de deterioro “atípico” observado en la morcilla era común a otros productos cárnicos envasados al vacío, como la carne de vacuno “Wagyu” y las salchichas tipo Frankfurt, en los que también se producía un notable hinchamiento de los envases. El análisis de estos productos reveló que cada producto presentaba su propio patrón de deterioro, tanto desde el punto de vista sensorial como microbiológico, poniendo de manifiesto la influencia del tipo de producto y del tipo de procesado en el proceso de deterioro.

Finalmente, con el objetivo de detectar de forma rápida y fiable los microorganismos deteriorantes en los productos cárnicos sobre todo en la morcilla de Burgos y poder identificar su origen reduciendo los episodios “atípicos” de deterioro y las graves consecuencias económicas que llevan consigo, se ha desarrollado una nueva herramienta específica, sensible, económica y rápida para la detección y cuantificación de *Weissella viridescens*. El diseño de los “primers” y de la sonda Taqman específicos para *W. viridescens*, basados en una secuencia del gen *RecN*, ha permitido desarrollar un método de PCR a tiempo real (qPCR), mediante el cual se establecieron unos límites de detección y cuantificación en 0.082 pg para el DNA puro de *W.*

viridescens y unos límites de detección y cuantificación de 8 UFC por reacción y 80 UFC por reacción, respectivamente, para *W. viridescens* inoculada en morcilla.

