

Artículo recibido 7 de mayo de 2025.

Artículo aceptado 13 de agosto de 2025.

Artículo publicado 5 de octubre de 2025.

## **Microbiota regional en embutidos fermentados: Caracterización de *Staphylococcus spp.* con potencial biotecnológico**

Sanchez, Ludmila M.<sup>1</sup>; Sanabria, Ernesto O.<sup>1</sup>; Palavecino Prpich, Noelia Z.<sup>1</sup>; Galante, Nadia S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratorio de Microbiología de Alimentos. Instituto de Investigaciones en Procesos Tecnológicos Avanzados (INIPTA, CONICET-UNCAUS), Comandante Fernández 755, Pres. Roque Sáenz Peña, Chaco, Argentina.

[lsanchez@uncaus.edu.ar](mailto:lsanchez@uncaus.edu.ar), [sanabria@uncaus.edu.ar](mailto:sanabria@uncaus.edu.ar), [noe@uncaus.edu.ar](mailto:noe@uncaus.edu.ar), [nadiagalante@uncaus.edu.ar](mailto:nadiagalante@uncaus.edu.ar)

ORCID Ludmila Sanchez 0009-0002-0181-7031

ORCID Ernesto Sanabria 0000-0003-2652-4737

ORCID Noelia Palavecino Prpich 0000-0001-9998-6268

ORCID Nadia Galante 0000-0003-4635-7438

### **Resumen**

Los embutidos fermentados del Noreste Argentino (NEA) se elaboran de forma artesanal, lo que les confiere características sensoriales únicas, pero también una microbiota variable. Con el fin de contribuir al desarrollo de cultivos iniciadores autóctonos que permitan mejorar y estandarizar estos productos, se seleccionaron tres cepas de cocos coagulasa negativa (CCN): *Staphylococcus* (S.) *xylosus* ACU-12, *S. warneri* ACU-25 y ACU-26, previamente caracterizadas en términos de propiedades tecnológicas, seguridad e identidad. Para ampliar el conocimiento sobre las propiedades tecnológicas que permitan posicionarlos como potenciales *starters* cárnicos, el presente trabajo tuvo como finalidad caracterizar cuantitativamente las actividades catalasa y nitrato reductasa, así como evaluar su capacidad de conservación mediante liofilización y su estabilidad durante el almacenamiento. La evaluación de la actividad catalasa evidenció resultados similares entre las tres cepas. Por otro lado, *S. xylosus* ACU-12 y *S. warneri* ACU-25 mostraron mayor actividad nitrato

reductasa a 20 °C, mientras que a 30 °C la actividad de *S. xylosus* ACU-12 fue más alta. La conservación de los cultivos mediante lyofilización fue favorecida por el uso de leche descremada en polvo como crioprotector, especialmente en *S. xylosus* ACU-12, que mostró una alta viabilidad celular post-lyofilización y durante el almacenamiento. Estos resultados refuerzan el valor de estas cepas como candidatas promisorias para su aplicación tecnológica, y aportan información útil para su futura implementación como cultivos iniciadores en la producción de embutidos fermentados regionales.

*Palabras claves:* embutidos regionales, cultivos iniciadores autóctonos, cocos coagulasa negativa, propiedades tecnológicas.

### **Abstract**

*Regional Microbiota in Fermented Sausages: Characterization of *Staphylococcus* spp. with Biotechnological Potential*

Fermented sausages from Northeastern Argentina (NEA) are artisanally crafted, which gives them unique sensory characteristics but also results in a variable microbiota. In order to support the development of native starter cultures aimed at improving and standardizing these products, three coagulase-negative staphylococci (CNS) strains were selected: *Staphylococcus* (S.) *xylosus* ACU-12, *S. warneri* ACU-25, and *S. warneri* ACU-26, previously characterized in terms of technological properties, safety and identity. To further understand the technological properties that could position them as potential starters for meat fermentations, this study aimed to quantitatively assess catalase and nitrate reductase activities, as well as to evaluate their preservation capacity through lyophilization and stability during storage. Catalase activity showed similar results among the three strains. In contrast, *S. xylosus* ACU-12 and *S. warneri* ACU-25 exhibited higher nitrate reductase activity at 20 °C, while *S. xylosus* ACU-12 stood out at 30 °C. Preservation of the cultures by lyophilization was enhanced by the use of skim milk powder as cryoprotectant, particularly in *S. xylosus* ACU-12, which showed high cell viability both after lyophilization and during storage. These results reinforce the value of the studied strains as promising candidates for technological application and provide useful information for their future use as starter cultures in the production of regional fermented sausages.

**Keywords:** traditional fermented sausages, autochthonous starter cultures, coagulase-negative cocci, technological properties.

## INTRODUCCIÓN

La elaboración de productos cárnicos fermentados representa una tradición en distintas regiones del mundo, que ha permitido conservar sus características organolépticas típicas (Simonová et al., 2006; Chen et al., 2025). En la región del Noreste Argentino (NEA), los productos cárnicos fermentados son elaborados artesanalmente siguiendo recetas y técnicas ancestrales de los primeros pobladores (inmigrantes de Europa Oriental, España e Italia). En este contexto, las fermentaciones cárnicas se producen por el crecimiento espontáneo de la microbiota indígena. Sin embargo, la homogeneidad en la calidad y la seguridad higiénica del alimento pueden verse afectadas por estas condiciones, resultando en productos carentes de atributos organolépticos deseados e inseguros (Ojha et al., 2015; Stavropoulou et al., 2018).

Como solución a esta problemática, el uso de cultivos iniciadores o *starters* nativos en la elaboración de productos cárnicos fermentados representa una herramienta útil para garantizar la seguridad alimentaria y estandarizar las propiedades del producto final sin afectar sus características sensoriales típicas (Palavecino Prpich et al., 2021).

Los microorganismos más competentes para ser utilizados como *starters* nativos son los aislados de los productos locales, debido a que se encuentran convenientemente adaptados a las condiciones ecológicas, ambientales y de procesamiento, así pues, son capaces de desarrollarse de manera más eficiente y dominar la microbiota presente en la materia prima (Coccolin et al., 2011).

Las bacterias lácticas (BL) y los cocos coagulasa negativa (CCN) son los microorganismos más comúnmente usados como cultivos iniciadores en las fermentaciones cárnicas (Casquete et al., 2011). Las BL seleccionadas frecuentemente pertenecen a los géneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus* y *Enterococcus* (Fraqueza et al., 2016), mientras que *Staphylococcus* (*S.*) *xylosus*, *S. carnosus* y *Kocuria* spp. son los CCN más utilizados (Chen et al., 2025; Laranjo et al., 2019; Stavropoulou et al., 2018).

El principal rol tecnológico de las BL es la acidificación de la matriz, lo que contribuye a la seguridad microbiológica, la textura y el perfil sensorial del producto (Chen et al., 2025; Laranjo et al., 2017). Mientras que los CCN se destacan por sus actividades

enzimáticas, en particular la actividad nitrato reductasa, responsable del desarrollo y estabilización del color rojo característico de estos productos (Sánchez Mainar & Leroy, 2015). Además, su actividad catalasa puede desempeñar un rol protector frente a la oxidación lipídica, favoreciendo la estabilidad y calidad del producto final (Barrière et al., 2001; Chen et al., 2025; Liu et al., 2025).

En este contexto, el grupo de investigación del Laboratorio de Microbiología de Alimentos (LMA) del INIPTA-CONICET-UNCAUS, llevó a cabo la caracterización y selección de cepas de BL y CCN nativas con propiedades tecnológicas útiles y atributos de seguridad adecuados (Palavecino Prpich et al., 2015a). Entre las propiedades tecnológicas se evaluaron la cinética de crecimiento y acidificación, actividad nitrato reductasa, el crecimiento a diferentes temperaturas, pH y concentraciones de sal, así como actividades proteolítica y lipolítica. Los atributos de seguridad incluyeron la resistencia a antibióticos, la producción de aminas biógenas y la detección de genes que codifican para la producción de enterotoxinas estafilocócicas. Dentro de los CCN, se seleccionaron tres cepas que fueron identificadas por secuenciación del gen ARNr 16S como *S. xylosus* ACU-12 y *S. warneri* ACU-25 y ACU-26. Esta selección consideró el perfil tecnológico de las cepas en base a pruebas cualitativas.

En consecuencia, la evaluación cuantitativa de propiedades tecnológicas como actividad catalasa y nitrato reductasa, así como la capacidad de conservación de los cultivos por liofilización y su estabilidad durante el almacenamiento resulta necesaria para ampliar el conocimiento de las características de estos microorganismos y direccionar su potencial aplicación como *starters* autóctonos. Por ello, el objetivo de este trabajo fue caracterizar cuantitativamente estas propiedades tecnológicas en las tres cepas nativas de CCN seleccionadas de productos cárnicos fermentados artesanales.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### *Microorganismos y condiciones de cultivo*

Los microorganismos *S. xylosus* ACU-12, *S. warneri* ACU-25 y ACU-26 se conservan en el cepario del LMA a -80 °C, en Trypticasa Soya Caldo (TSC) (Britania, Argentina), suplementado con 20% (v/v) de glicerol (Cicarelli, Argentina) como agente

crioprotector. Para su empleo, las cepas fueron activadas mediante repiques sucesivos en TSC e incubadas por 24 h a 37 °C.

#### *Actividad nitrato reductasa*

La actividad nitrato reductasa se cuantificó utilizando la técnica descrita por Smibert y Krieg (1994). Brevemente, se centrifugó una alícuota de un cultivo de 24 h (15 min, 13.000 rpm, 4 °C; Dragon Lab, China), el *pellet* celular se resuspendió en *buffer* de inducción (triptona 10 g/L, KNO<sub>3</sub>, 1 g/L; cisteína, 1 g/L; pH 7,0) a fin de alcanzar una DO<sub>540</sub> = 1.

Una fracción de la suspensión celular fue utilizada para determinar el peso seco, mientras que otra fracción de 1 mL, cubierta con una capa de aceite mineral estéril para inducir la actividad nitrato reductasa, fue incubada 2 h a 20 y 30 °C. Como control 1 mL de la suspensión celular se mantuvo en baño de hielo por 2 h. Luego, estas fracciones se centrifugaron y las células se permeabilizaron utilizando 500 µL de *buffer* de reacción (5,05 g/L KNO<sub>3</sub>, 8,61 g/L K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 5,8 g/L NaCl; pH 7,0) y 30 µL de una mezcla de acetona-tolueno (9:1). Los tubos se agitaron por 3 min y se dejaron reaccionar 30 min a 20 y 30 °C. Una alícuota de 100 µL de las muestras se transfirió a un nuevo tubo donde se adicionaron 2 mL de agua, 1 mL de solución A (0,8 mg de ácido sulfanílico en 100 mL de ácido acético 5 N) y 1 mL de solución B (0,6 mg de diclorhidrato de 1-naftilendiamina en 100 mL de ácido acético 5 N). Se midió la absorbancia a 540 nm (Cary UV-Visible 60, Agilent Technologies, Estados Unidos). La actividad relativa fue calculada como la relación entre la DO<sub>540</sub>/mg de peso seco.

#### *Actividad catalasa*

Se utilizó el método espectrofotométrico descrito por Götterup et al. (2007). Las cepas activas fueron incubadas en caldo TSC a 37 °C hasta alcanzar una densidad óptica DO<sub>600</sub> = 0,5. Una alícuota de 0,2 mL de suspensión celular se mezcló con 2,8 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30 mM (0,34 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> con 100 mL de *buffer* fosfato) en *buffer* fosfato 50 mM pH 7,0 (6,81 g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 8,9 g/L Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1:1,55). La actividad catalasa fue monitoreada espectrofotométricamente siguiendo la descomposición del peróxido de hidrógeno a 240 nm durante 3 min a temperatura ambiente. Como blanco de lectura se utilizaron los mismos volúmenes de suspensión celular y *buffer* fosfato sin la adición de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a fin de eliminar las posibles interferencias de los componentes celulares y del medio. La actividad fue cuantificada como la diferencia entre las concentraciones inicial y final de peróxido de

hidrógeno en ese intervalo. Los resultados fueron expresados en unidades arbitrarias (UA:  $\mu\text{mol de H}_2\text{O}_2$  degradado. $\text{min}^{-1}.\text{mL}^{-1}$ ).

#### *Conservación por liofilización*

Para evaluar la resistencia de los microorganismos a la liofilización y su estabilidad durante el almacenamiento, un cultivo activo de cada CCN fue centrifugado (10.000 rpm, 10 min, 4 °C) y lavado dos veces con solución fisiológica estéril (0,85% p/v), a fin de remover el medio de cultivo. Las células obtenidas se mezclaron (1:1) con un medio crioprotector preparado con leche descremada en polvo al 10% (p/v), o con agua destilada estéril (control). Las mezclas se dispensaron en crioviales y se almacenaron a -80 °C (Presvac, Argentina) durante 24 h, antes de ser transferidas al liofilizador (Scientz-10N, China). La liofilización consistió en un secado primario a -30 °C y 3.00 mbar durante 36 h, seguido de un secado secundario a 20 °C y 3.00 mbar durante 12 h. Posteriormente, los viales se sellaron al vacío y se almacenaron a 4 °C por 180 días. La viabilidad celular (UFC/mL) se determinó por recuento en placa en Tripticasa Soya Agar (TSA; Britania, Argentina), y posterior incubación a 37 °C por 48 h. Los recuentos se efectuaron antes de la liofilización, inmediatamente después del proceso de secado y a diferentes intervalos de tiempo durante el almacenamiento. La tasa de supervivencia (TS), expresada como porcentaje de la población inicial, se utilizó para evaluar la resistencia al proceso de liofilización, mientras que la velocidad de degradación ( $k$ ,  $\text{día}^{-1}$ ), obtenida mediante el ajuste a un modelo cinético de primer orden, permitió analizar la estabilidad de los cultivos durante el almacenamiento.

#### *Análisis estadístico*

Los resultados fueron expresados como el valor medio de las determinaciones  $\pm$  la desviación estándar y se compararon estadísticamente por medio del análisis de la varianza (ANOVA) de una vía. Cuando el análisis indicó diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) se utilizó el test de Tukey para separar las medias. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software Statgraphics Plus 4.0 (Statistical Graphics Co., Rockville, Maryland, USA).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **Actividad nitrato reductasa**

Esta actividad enzimática es el principal criterio de selección para cepas de CCN como *starter* cárnico, ya que es la responsable del desarrollo del color rojo característico de

los embutidos fermentados. La enzima nitrato reductasa cataliza la reacción química a medida que transcurre el proceso de fermentación y convierte el nitrato en nitrito. Luego, el nitrito se reduce a óxido nítrico que reacciona con la mioglobina para dar nitrosomioglobina, responsable de la pigmentación deseada (Khusro & Aarti, 2022).

La cuantificación de esta actividad enzimática resultó fundamental para la caracterización de las cepas seleccionadas. La evaluación se realizó a 20 °C y 30 °C, y los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 1. Todas las cepas evaluadas exhibieron la capacidad de reducir nitrato cuando fueron incubadas a 30 °C; *S. xylosus* ACU-12 presentó la mayor actividad, seguida por *S. warneri* ACU-25, mientras que el valor más bajo se registró para *S. warneri* ACU-26. Por otro lado, luego de la incubación a 20 °C, la actividad nitrato reductasa se redujo significativamente en todos los casos. Los valores correspondientes a *S. xylosus* ACU-12 y *S. warneri* ACU-25 no presentaron diferencias significativas entre ellos, alcanzando un valor promedio de  $18,94 \pm 4,76$  DO<sub>540</sub>/mg peso seco, en tanto que para *S. warneri* ACU-26 no se registró actividad enzimática a esta temperatura. Por otra parte, el control no evidenció actividad reductora.

Tabla 1. Propiedades tecnológicas evaluadas en tres cepas de CCN.

Cepa	Actividad nitrato		Actividad catalasa (UA)	k (día <sup>-1</sup> )		
	reductasa (DO <sub>540</sub> /mg peso seco)			(UA)	Agua descremada	
	20 °C	30 °C				
<b>ACU-12</b>	16,57±8,78 <sup>a</sup>	92,24±3,63 <sup>a</sup>	20,4±5,80 <sup>a</sup>	0,0005±0,0001 <sup>cB</sup>	0,0115±0,0007 <sup>cA</sup>	
<b>ACU-25</b>	16,93±3,64 <sup>a</sup>	61,93±5,76 <sup>b</sup>	31,93±12,75 <sup>a</sup>	0,0199±0,0001 <sup>aB</sup>	0,0214±0,0002 <sup>bA</sup>	
<b>ACU-26</b>	ND	28,58±3,25 <sup>c</sup>	21,3± 5,93 <sup>a</sup>	0,0167±0,0000 <sup>bB</sup>	0,0236±0,0004 <sup>aA</sup>	

Los valores observados corresponden al valor medio de las determinaciones ± la desviación estándar. Letras diferentes (a-c) dentro de la misma columna indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) de acuerdo con el test de Tukey.

Letras diferentes (A-B) dentro de la misma fila indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) de acuerdo con el test de Tukey.

Resultados similares fueron reportados por Rebecchi et al. (2020), quienes evaluaron cepas de *S. xylosus* y *S. warneri* aisladas de embutidos de llama: mientras que las cepas de *S. xylosus* mostraron capacidad reductora, esta actividad fue menor o estuvo ausente en cepas de *S. warneri*. De forma análoga, otros autores (Götterup et al., 2007; Leroy et al., 2016; Sánchez Mainar & Leroy, 2015) destacan que la actividad nitrato reductasa es frecuente en *S. xylosus* pero menos común en otras especies como *S. warneri*.

En cuanto al efecto de la temperatura, numerosos trabajos coinciden en que esta actividad enzimática se incrementa a partir de los 30 °C (Casaburi et al., 2005; Essid et al., 2007), e incluso puede mantenerse hasta los 35 °C en ciertas cepas de *S. xylosus* (Cruxen et al., 2017). Sin embargo, estas temperaturas no representan las condiciones reales de los procesos de fermentación cárnica, que suelen realizarse a temperaturas inferiores. En la región NEA la fermentación de los productos cárnicos se realiza a temperaturas comprendidas entre 18 y 22 °C (Palavecino Prpich et al., 2015b). En este contexto, la actividad observada a 20 °C en *S. xylosus* ACU-12 y *S. warneri* ACU-25, aunque menor que la registrada a 30 °C, resulta alentadora por su mayor adecuación a las condiciones

tecnológicas, ya que durante la manufactura de los embutidos fermentados las cepas deberán desarrollarse a estas temperaturas y expresar su actividad nitrato reductasa en tales condiciones.

A modo de referencia, Landeta et al. (2013) seleccionaron cepas de *S. equorum* (IFIJ23 e IFIJ30) en base a su actividad nitrato reductasa, con valores de 8,58 y 15,26 DO<sub>540</sub>/mg de peso seco a 30 °C, menores a los reportados en este estudio a 20 °C. Estos antecedentes refuerzan la importancia de evaluar esta actividad en condiciones próximas a la aplicación industrial. Por último, la realización de los ensayos bajo condiciones de anaerobiosis también contribuyó a potenciar la capacidad reductora de las cepas (Essid et al., 2007), ya que los CCN emplean el nitrato como aceptor final de electrones durante la respiración anaeróbica (Khusro et al., 2020), un mecanismo relevante en matrices cárnicas fermentadas.

### Actividad catalasa

La presencia de actividad catalasa es una característica deseable en cepas utilizadas como cultivos *starter* para productos cárnicos fermentados, ya que contribuye a la reducción de la oxidación lipídica y, por lo tanto, a la preservación del color del producto final (Götterup et al., 2007; Liu et al., 2025).

Para evaluar esta actividad en las cepas estudiadas, se midió la descomposición del peróxido de hidrógeno mediante la disminución de absorbancia a 240 nm, atribuida a la acción de la catalasa asociada al sedimento celular. La DO<sub>240</sub> se empleó como indicador de la concentración de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, en concordancia con la ley de Lambert-Beer (Beers & Sizer, 1952). En esta región del espectro, los productos de la reacción (oxígeno y agua), así como la catalasa en las concentraciones producidas, no presentan absorbancia significativa; por lo tanto, la absorción en la región UV es una medida directa de la concentración de peróxido en el sistema peróxido-catalasa.

Los resultados obtenidos (Tabla 1) mostraron que las tres cepas evaluadas fueron capaces de descomponer el peróxido de hidrógeno. El análisis estadístico no mostró diferencias significativas entre los valores de actividad catalasa obtenidos para los tres microorganismos. La elevada dispersión de los resultados ha sido reportada previamente y podría atribuirse tanto a diferencias fisiológicas entre cepas (Essid et al., 2007; Marty et al.,

2012; Mauriello et al., 2004), como a la alta sensibilidad del método espectrofotométrico empleado, (Aebi, 1974).

Los resultados obtenidos en este estudio concuerdan con los reportados por diversos autores. Essid et al. (2007) y Mauriello et al. (2004) observaron actividad catalasa en múltiples cepas de *S. xylosus*, alcanzando valores máximos de 27,60 UA y 25,4 UA, respectivamente. De forma análoga, Mauriello et al. (2004) y Landeta et al. (2013) detectaron actividad catalasa en cepas de *S. warneri*, con niveles comparables a los obtenidos en este trabajo.

Por otro lado, en el estudio de Landeta et al. (2013), se seleccionaron cepas de *S. carnosus* y *S. equorum* por su elevada actividad catalasa, con valores de hasta 14,1 UA y 22,5 UA, respectivamente. Estos antecedentes respaldan el potencial tecnológico de las cepas aquí evaluadas, particularmente en relación con su capacidad para prevenir la oxidación lipídica en matrices cárnicas fermentadas.

### **Supervivencia a la liofilización y estabilidad durante el almacenamiento**

La liofilización es una técnica ampliamente utilizada para obtener cultivos microbianos en forma seca, ya que permite conservar su viabilidad y prolongar su estabilidad durante el almacenamiento. No obstante, la eficacia del proceso depende en gran medida de la elección de un agente crioprotector adecuado. En este contexto, se evaluó el efecto de la leche descremada en polvo al 10 % (p/v) como crioprotector sobre la viabilidad y estabilidad de las cepas estudiadas.

Los resultados de la supervivencia de los microorganismos al proceso de liofilización se presentan en la Figura 1. En todos los casos, la incorporación de leche descremada al 10 % (p/v) mejoró significativamente la viabilidad celular post-liofilización. En efecto, las TS de las tres cepas disminuyeron significativamente en ausencia del crioprotector, lo que destaca su papel fundamental en la protección celular durante el proceso. Sin embargo, la eficacia del medio protector varió entre los tres microorganismos. Las TS de *S. xylosus* ACU-12 y *S. warneri* ACU-25 fueron significativamente más elevadas ( $99,10 \pm 1,16\%$ ) que la de *S. warneri* ACU-26 ( $3,20 \pm 0,16\%$ ), lo que subraya la importancia de

seleccionar un crioprotector adecuado para cada microorganismo en particular.

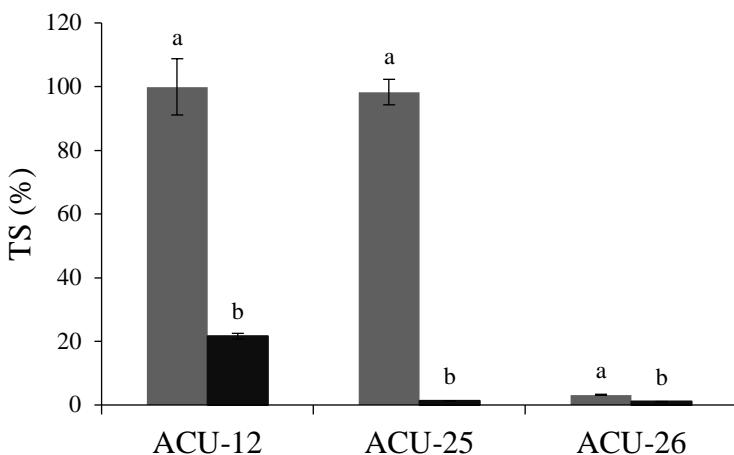


Figura 1. Tasa de supervivencia (%) de las tres cepas de CCN luego de la liofilización en (■) leche descremada al 10% (p/v) y (■) agua (control).

La estabilidad de los cultivos durante el almacenamiento a 4 °C, evaluada a través de las velocidades de degradación, también se vio influenciada por la presencia del medio protector. En la Tabla 1 se presentan los valores de  $k$  obtenidos al cabo de 180 días de almacenamiento. Los liofilizados sin crioprotector mostraron una degradación significativamente más acelerada. En contraste, el uso de leche descremada mejoró la estabilidad de todos los cultivos. Particularmente, los liofilizados de *S. xylosus* ACU-12 presentaron un valor de  $k$  significativamente menor, con una reducción de sólo 0,17 Log en el número de células viables al final del período de almacenamiento (Figura 2). En cambio, los liofilizados de *S. warneri* ACU-25 y ACU-26 exhibieron valores de  $k$  más elevados, asociados a pérdidas de viabilidad de 3,76 y 3,09 Log, respectivamente, lo que refleja una

menor estabilidad bajo las condiciones ensayadas.

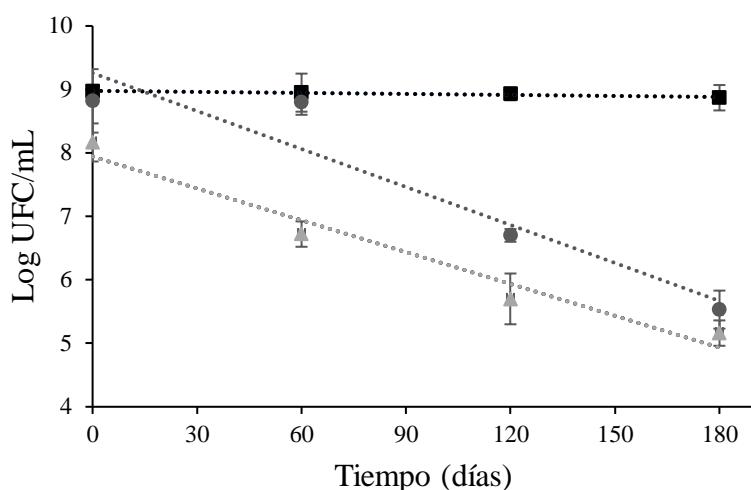


Figura 2. Degradación de los cultivos liofilizados utilizando leche descremada como crioprotector, durante el almacenamiento a 4 °C. (■) *S. xylosus* ACU-12, (●) *S. warneri* ACU-25, (▲) *S. warneri* ACU-26. Las barras de error indican la desviación estándar de las determinaciones.

La leche descremada en polvo es ampliamente utilizada como agente crioprotector en la preparación de cultivos iniciadores, debido a su capacidad para mejorar la viabilidad celular tras procesos de congelación y liofilización (Guo et al., 2020; Jofré et al., 2015; Oluwatosin et al., 2021). En este estudio, demostró ser eficaz para los liofilizados de *S. xylosus* ACU-12, asegurando una alta viabilidad celular tanto luego del secado como durante el almacenamiento. Este efecto protector puede ser atribuido a las proteínas lácteas que estabilizan las membranas celulares y forman una capa viscosa en la superficie de las células, preservando su integridad durante el proceso (Chen et al., 2015).

Sin embargo, el efecto protector sobre las cepas de *S. warneri* fue limitado, particularmente en el caso de *S. warneri* ACU-26, que presentó una viabilidad celular marcadamente baja tras la liofilización. Por su parte, aunque *S. warneri* ACU-25 conservó una alta viabilidad post-liofilización, su estabilidad durante el almacenamiento fue deficiente, evidenciando que una elevada TS no siempre garantiza la conservación a largo plazo. Esto es especialmente relevante en cultivos iniciadores, donde se requiere mantener un número suficiente de células viables que aseguren su acción tecnológica y garanticen resultados consistentes (Wang et al., 2025).

Según Wang et al. (2019), el efecto crioprotector de una sustancia depende de la cepa sobre la cual actúe, lo que refuerza la necesidad de optimizar los medios protectores empleados. De esta manera, cobra relevancia explorar combinaciones con compuestos de distinta naturaleza (azúcares, proteínas, aminoácidos, etc.), que han demostrado mejorar la viabilidad celular en condiciones de deshidratación (Guo et al., 2020) y podrían ser más eficaces para preservar la viabilidad a largo plazo de los liofilizados de *S. warneri*. En este contexto, combinaciones de leche descremada con trehalosa, glutamato y sacarosa fueron evaluadas por Galante (2024) para la conservación de una cepa de estafilococo con resultados promisorios. Estas combinaciones podrían ser evaluadas en las cepas de *S. warneri*.

## CONCLUSIÓN

El metabolismo de las bacterias estafilocócicas coagulasa negativa empleadas en la elaboración de productos cárnicos fermentados es ampliamente heterogéneo y presenta una notable biodiversidad. Estas cualidades abren la posibilidad de desarrollar cultivos iniciadores novedosos y funcionales, adaptados a distintas condiciones de fermentación. En este sentido, el presente estudio cuantificó propiedades tecnológicas clave en tres cepas autóctonas con potencial aplicación como starter.

Los valores obtenidos de actividad catalasa y nitrato reductasa -particularmente a 20 °C- para *S. xylosus* ACU-12 y *S. warneri* ACU-25 resultaron destacables, dado que estas actividades son altamente valoradas en la producción de embutidos cárnicos fermentados. Por otra parte, *S. xylosus* ACU-12 mostró una elevada viabilidad celular tras la liofilización y durante los 180 días de almacenamiento refrigerado, cuando se utilizó leche descremada en polvo como crioprotector, lo que refuerza su potencial para ser conservada de forma eficiente. Cabe destacar que las propiedades evaluadas mostraron una alta dependencia de la cepa, lo que resalta la importancia de realizar una caracterización integral para la selección racional de cultivos iniciadores.

En conjunto, los resultados obtenidos refuerzan el valor de estas cepas como candidatas promisorias para su aplicación tecnológica, y sientan las bases para futuros estudios que profundicen en su desempeño en matrices reales y su impacto sensorial en productos fermentados.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el financiamiento recibido por parte de UNCAUS (PI N° 97).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aebi, H. (1974). *Catalase in vitro*. In H. U. Bergmeyer (Ed.), *Methods of enzymatic analysis* (Vol. 2, pp. 673–684). Academic Press.
- Barrière, C., Centeno, D., Lebert, A., Leroy-Sétrin, S., Berdagué, J. L. y Talon, R. (2001). Roles of superoxide dismutase and catalase of *Staphylococcus xylosus* in the inhibition of linoleic acid oxidation. *FEMS Microbiology Letters*, 201(2), 181–185.
- Beers, R. F., Jr, & Sizer, I. W. (1952). A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *The Journal of Biological Chemistry*, 195(1), 133–140. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)50881-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)50881-X).
- Casaburi, A., Blaiotta, G., Mauriello, G., Pepe, O.y Villani, F. (2005). Technological activities of *Staphylococcus carnosus* and *Staphylococcus simulans* strains isolated from fermented sausages. *Meat Science*, 71(4), 643–650. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.05.008>.
- Casquete, R., Benito, M. J., Martín, A., Ruiz-Moyano, S., Hernández, A., & Córdoba, M. G. (2011). Effect of autochthonous starter cultures in the production of “salchichón”, a traditional Iberian dry-fermented sausage, with different ripening processes. *Lebensmittel-Wissenschaft Und Technologie [Food Science and Technology]*, 44(7), 1562–1571. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.01.028>.
- Chen, H., Chen, S., Li, C., & Shu, G. (2015). Response surface optimization of lyoprotectant for *Lactobacillus bulgaricus* during vacuum freeze-drying. *Preparative Biochemistry & Biotechnology*, 45(5), 463–475. <https://doi.org/10.1080/10826068.2014.923451>.

- Chen, J., Li, S., Lin, Y., Toldrá, F., & Lu, X. (2025). The role of coagulase-negative staphylococci on aroma generation of fermented sausage. *Meat Science*, 221(109730), 109730. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2024.109730>.
- Cocolin, L., Dolci, P. y Rantsiou, K. (2011). Biodiversity and dynamics of meat fermentations: The contribution of molecular methods for a better comprehension of a complex ecosystem. *Meat Science*, 89(3), 296–302. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2011.04.011>.
- Cruxen, C. E., Funck, G., Dannenberg, G. da S., Haubert, L., Marques, J. de L., Kroning, I. S., Chaves, F. C., da Silva, W. P., & Fiorentini, Â. M. (2017). Characterization of *Staphylococcus xylosus* LQ3 and its application in dried cured sausage. *LWT - Food Science and Technology*, 86, 538–543. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.08.045>
- Essid, I., Ben Ismail, H., Bel Hadj Ahmed, S., Ghedamsi, R. y Hassouna, M. (2007). Characterization and technological properties of *Staphylococcus xylosus* strains isolated from a Tunisian traditional salted meat. *Meat Science*, 77, 204–212. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2007.03.003>.
- Fraqueza M. J., Patarata L. & Lauková A. (2016). Protective starter cultures and bacteriocins in fermented meats, in *Fermented Meat Products: Health Aspects*, ed. Zdolec N. (New York, NY: CRC Press;), 228–269.
- Galante, N. (2024). Diseño de medios de cultivo para maximizar la producción de biomasa de cultivos iniciadores autóctonos. Universidad Nacional del Chaco Austral.
- Götterup, J., Olsen, K., Knöchel, S., Tjener, K., Stahnke, L. H. y Møller, J. K. S. (2007). Relationship between nitrate/nitrite reductase activities in meat associated *staphylococci* and nitrosylmyoglobin formation in a cured meat model system. *International Journal of Food Microbiology*, 120(3), 303–310. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.08.034>.

Guo, N., Wei, Q., & Xu, Y. (2020). Optimization of cryopreservation of pathogenic microbial strains. *Journal of Biosafety and Biosecurity*, 2(2), 66–70.

<https://doi.org/10.1016/j.jobb.2020.11.003>.

Jofré, A., Aymerich, T., & Garriga, M. (2015). Impact of different cryoprotectants on the survival of freeze-dried *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus casei/paracasei* during long-term storage. *Beneficial microbes*, 6(3), 381–386.

<https://doi.org/10.3920/BM2014.0038>.

Khusro, A., & Aarti, C. (2022). Metabolic heterogeneity and techno-functional attributes of fermented foods-associated coagulase-negative staphylococci. *Food Microbiology*, 105, 104028. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2022.104028>.

Landeta, G., Curiel, J. A., Carrascosa, A. V., Muñoz, R., & de las Rivas, B. (2013). Characterization of coagulase-negative *staphylococci* isolated from Spanish dry cured meat products. *Meat Science*, 93(3), 387–396.

<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2012.09.019>.

Laranjo, M., Elias, M. y Fraqueza, M.J. (2017). The use of starter cultures in traditional meat products. *Journal of Food Quality*, 2017(3), 1-18. <https://doi.org/10.1155/2017/9546026>.

Laranjo, M., Potes, M. E. y Elias, M. (2019). Role of starter cultures on the safety of fermented meat products. *Frontiers in microbiology*, 10, 853. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00853>.

Leroy, S., Vermassen, A., & Talon, R. (2016). *Staphylococcus: Occurrence and Properties*. Encyclopedia of Food and Health, 140–145. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00656-5>.

Liu, B., Li, H., Chen, J., Tang, R., Zhu, Y., Hu, Y., Liu, L., & Shi, Q. (2025). Evaluation of nitrosylmyoglobin production in autochthonous microorganisms isolated from Yunnan

traditional fermented meats: Focus on coagulase-negative cocci. *Lebensmittel-Wissenschaft Und Technologie [Food Science and Technology]*, 224(117837), 117837. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2025.117837>.

Marty, E., Bodenmann, C., Buchs, J., Hadorn, R., Eugster-Meier, E., Lacroix, C., & Meile, L. (2012). Prevalence of antibiotic resistance in coagulase-negative *staphylococci* from spontaneously fermented meat products and safety assessment for new starters. *International Journal of Food Microbiology*, 159(2), 74–83. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.07.025>.

Mauriello, G., Casaburi, A., Blaiotta, G., & Villani, F. (2004). Isolation and technological properties of coagulase negative staphylococci from fermented sausages of Southern Italy. *Meat Science*, 67(1), 149–158. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2003.10.003>

Ojha, K. S., Kerry, J. P., Duffy, G., Beresford, T., & Tiwari, B. K. (2015). Technological advances for enhancing quality and safety of fermented meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 44(1), 105–116. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2015.03.010>.

Oluwatosin, S. O., Tai, S. L., & Fagan-Endres, M. A. (2021). Sucrose, maltodextrin and inulin efficacy as cryoprotectant, preservative and prebiotic - towards a freeze dried *Lactobacillus plantarum* topical probiotic. *Biotechnology reports (Amsterdam, Netherlands)*, 33, e00696. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2021.e00696>.

Palavecino Pprich N.Z., Castro M.P., Cayré M.E., Galante N.S. y Sanabria E.O. (2021). Relevance of microbial cultures on the safety of fermented sausages. In Castro MP & Cayré ME (Eds.) Meat products: chemistry, consumption and health aspects. *Nova Science Publishers*. ISBN: 978-1-53618-978-0.

Palavecino Prpich, N., Castro, M., Cayré, M., Garro, O., & Vignolo, G. (2015b). Indigenous starter cultures to improve quality of artisanal dry fermented sausages from Chaco (Argentina). *International Journal of Food Science*, 931970 9 pages.

Palavecino Prpich, N. Z., Castro, M. P., Cayré, M. E., Garro, O. A., & Vignolo, G. M. (2015a). Autochthonous starter culture selection to keep traditions in the manufacture of dry sausages alive. *Annals of Microbiology*, 65(3), 1709–1719. <https://doi.org/10.1007/s13213-014-1010-0>.

Rebecchi, A., Miragoli, F., Lopez, C., Bassi, D., & Fontana, C. (2020). Exploring coagulase-negative *staphylococci* diversity from artisanal llama sausages: Assessment of technological and safety traits. *Microorganisms*, 8(5), 629. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8050629>.

Sánchez Mainar, M., & Leroy, F. (2015). Process-driven bacterial community dynamics are key to cured meat colour formation by coagulase-negative *staphylococci* via nitrate reductase or nitric oxide synthase activities. *International Journal of Food Microbiology*, 212, 60–66. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.03.009>.

Simonová, M., Strompfová, V., Marciňáková, M., Lauková, A., Vesterlund, S., Moratalla, M. L., Bover-Cid, S., & Vidal-Carou, C. (2006). Characterization of *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus carnosus* isolated from Slovak meat products. *Meat Science*, 73(4), 559–564. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.02.004>.

Smibert, R. M., & Krieg, N. R. (1994). Phenotypic characterization. In P. Gerhardt, R. G. E. Murray, W. A. Wood y N. R. Krieg (Eds.), *Phenotypic characterization. In methods for general and molecular bacteriology* (pp. 607–654). Washington: American Society for Microbiology.

- Stavropoulou, D. A., Filippou, P., De Smet, S., De Vuyst, L. & Leroy, F. (2018). Effect of temperature and pH on the community dynamics of coagulase-negative *staphylococci* during spontaneous meat fermentation in a model system. *Food Microbiology*, 76, 180–188. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2018.05.006>.
- Wang, G., Yu, X., Lu, Z., Yang, Y., Xia, Y., Lai, P. F.-H., & Ai, L. (2019). Optimal combination of multiple cryoprotectants and freezing-thawing conditions for high lactobacilli survival rate during freezing and frozen storage. *Lebensmittel-Wissenschaft Und Technologie [Food Science and Technology]*, 99, 217–223. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.09.065>.
- Wang, J., Wu, P., Dhital, S., Yu, A., & Chen, X. D. (2025). Impact of Freezing and Freeze Drying on *Lactobacillus rhamnosus* GG Survival: Mechanisms of Cell Damage and the Role of Pre-Freezing Conditions and Cryoprotectants. *Foods*, 14(10), 1817. <https://doi.org/10.3390/foods14101817>.