



Viabilidad de un microorganismo probiótico en un producto cárnico fermentado tipo salami

R. I. Soto-del Castillo^{*}, A. López-Malo, F. San Martín y E. Palou-García

Departamento de Ingeniería Química y Alimentos, Universidad de las Américas Puebla.
San Andrés Cholula, Pue., México

Resumen

En la actualidad los productos probióticos han tomado gran auge debido a los beneficios en la salud que esta clase de productos ofrecen al consumidor. La industria de los alimentos se ha enfocado en desarrollar productos lácteos, sin embargo, existen gran cantidad de productos no lácteos que pueden ser posibles vehículos para los microorganismos probióticos. En este trabajo se evaluó la viabilidad de un microorganismo probiótico, *Lactobacillus acidophilus* en un producto cárnico fermentado tipo salami. Se elaboró un salami empleando como cultivo iniciador *Lactobacillus plantarum*, *L. acidophilus* o una mezcla de ambos. El número de bacterias probióticas inoculadas incrementó 2 ciclos logarítmicos mientras que la mezcla de microorganismos incrementa 6 ciclos, el embutido control preparado con *L. plantarum* aumentó 3 ciclos logarítmicos. Los resultados obtenidos muestran que el *L. acidophilus* se puede emplear como cultivo iniciador en un producto cárnico fermentado con las ventajas de un producto probiótico. El *L. acidophilus* es viable en la producción de un producto cárnico fermentado tipo salami.

Palabras clave: *Lactobacillus acidophilus*, probiótico, cárnico fermentado, tipo salami.

Abstract

Now days the probiotics products have been taken a lot of peak because of the benefits that they offer to consumer's health. The food industry has been making dairy products, but there are a lot of non dairy products that could be possible vehicles for the probiotic microorganisms. This work evaluated the viability of a probiotic microorganism, the *Lactobacillus acidophilus* in a fermented sausage, like salami. A salami were made using as starter *L. plantarum*, *L. acidophilus* or both. The number of inoculated probiotic bacteria increase in 2 logarithmic cycles and the mixture increase 6 logarithmic cycles, the control made from *L. plantarum* increase 3 logarithmic cycles. The results show that the *L. acidophilus* could be used as a starter in a fermented sausage with the benefits of a probiotic product. The *L. acidophilus* is viable in a fermented meat product, like salami.

Keywords: *Lactobacillus acidophilus*, probiotics, fermented sausage, salami.

^{*} Programa de Maestría en Ciencia de Alimentos
Tel.: +52 222 229 2126, fax: +52 222 229 2727
Dirección electrónica: rosario.sotodo@udlap.com

Introducción

A principios del tercer milenio, las enfermedades como alergias, rinitis alérgica, asma, enfermedades inflamatorias del intestino, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa, diabetes y artritis representan enfermedades crónicas de gran importancia en este mundo industrializado. Las causas de estas enfermedades pueden ser diversas y en muchos casos se encuentran relacionadas con alteraciones en la función de la barrera intestinal (Isolauri, 2001).

La mucosa intestinal, la cual hace función de barrera intestinal, tiene como objetivo proporcionar al huésped defensas contra los antígenos presentes en los alimentos y los generados por los microorganismos del intestino. En esta defensa están involucrados diversos factores como son: la saliva, los ácidos gástricos, peristalsis, mucosa, proteólisis intestinal, flora intestinal, y células epiteliales (Isolauri *et al.*, 2001).

La flora intestinal es el ecosistema de microorganismos del intestino que incluye especies nativas que colonizan permanentemente el tracto gastro intestinal, las cuales se adquieren al nacer y durante el primer año de vida, y una serie de microorganismos vivos variables que transitan por el tubo digestivo, éstas se adquieren continuamente a través de alimentos y bebidas. Los géneros predominantes son *Bifidobacterium*, *Bacteroides*, *Eubacterium*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Fusobacterium* (Guarner, 2007).

El reconocimiento de la composición (número y tipo de especies microbianas) de la flora intestinal y el estudio de su función generó el conocimiento necesario para aislar aquellos microorganismos benéficos que son llamados probióticos cuando se ingieren como alimentos o suplementos alimenticios.

Havenaar y Huis In't Veld (1992) definieron como probiótico a “una preparación de, o un producto que, contiene una gran cantidad de microorganismos específicos los cuales alteran la microflora (por implantación y colonización) en el huésped y por ello ejerce un efecto benéfico en ellos” (Rolfe, 2000). La mayoría de las bacterias probióticas se encuentran dentro del grupo de microorganismos conocidos como *bacterias productoras de ácido láctico* (BAL) (Rowland, 2002).

Roberfroid (2000) menciona que las bacterias que más se usan como probióticos son los *Lactobacillus* y las Bifidobacterias, ya que cumplen con los requisitos que Shortt (1999) propone para que un producto sea denominado probiótico:

- Los microorganismos deben ser de la flora intestinal humana.
- Deben ser no patógenos.
- Tolerantes a los ácidos gastrointestinales y sales biliares.
- Existir evidencia de que proporciona algún beneficio a la salud.

Los efectos benéficos de los probióticos se pueden dividir en 7 áreas importantes (Rowland, 2002):

1. Atenuación de la intolerancia a la lactosa.
2. Efectos preventivos y terapéuticos contra la diarrea.
3. Alivio del estreñimiento y disminución en el tiempo de tránsito.
4. Efectos sobre el sistema inmunológico.
5. Reducción del colesterol plasmático.
6. Enfermedad intestinal inflamatoria.
7. Prevención del cáncer.

En la actualidad los alimentos probióticos se limitan a productos lácteos fermentados, como el yogurt y las leches fermentadas

(Roberfroid, 2000), también se han encontrado en otros tipos de alimentos fermentados como queso cottage y leches acidificadas, así como en cápsulas de microorganismos liofilizados.

El salami es el principal producto cárnico fermentado, de consistencia dura y muy sazonado. Se prepara a partir de carne selecta, triturada, la cual se mezcla con agentes curantes y especias, después se lleva a bajas temperaturas y se embute, se seca ya sea con aire o con humo a altas temperaturas y condiciones de humedad controladas. Es en este período cuando se lleva a cabo la fermentación y la producción de ácido láctico, lo que le proporciona el sabor y color característico (Pederson, 1979). Tradicionalmente se utilizan como cultivos iniciadores cepas de *Lactobacillus* no probióticas, sin embargo, algunas cepas de BAL-probióticas pueden utilizarse durante la fermentación de productos cárnicos como el salami ya que producen ácido y cumplen con las características para considerarse probióticos.

El objetivo de este trabajo fue determinar la viabilidad de los microorganismos probióticos durante la fermentación y maduración del producto tipo salami, así como evaluar los cambios microbiológicos y fisicoquímicos que ocurren durante la fermentación, y la aceptabilidad sensorial del producto final.

Materiales y métodos

Elaboración del carnico tipo salami fermentado

Para su elaboración se usaron los ingredientes en los porcentajes presentados en la tabla I.

Tabla I. Formulación de Salami

Ingrediente	Porcentaje
Carne magra de cerdo	68.67%
Grasa	29.43%
Sal común	1.00%
Sal de cura	0.30%
Azúcar	0.50%
Ascorbato de Sodio	0.05%
Pimienta Negra	0.01%
Ajo	0.20%
Cultivo iniciador	10 ⁵ UFC/g

Para la elaboración del carnico tipo salami se siguió el diagrama de flujo como se muestra en la Fig. 1.

La carne y la grasa se congelaron previamente y se picaron en un cutter, los agentes de cura como son la sal, los nitritos, el azúcar y los condimentos se añadieron una vez que se hizo la mezcla carne/grasa. El producto se embutió en una tripa artificial de 1cm de diámetro. La fermentación se llevó a cabo en una incubadora Imperial III (Lab Line Instruments, E.U.A.) durante 10 horas a 32°C, posteriormente el carnico se almacenó en una cámara de refrigeración a 7°C y 40 % de HR durante 10 días, posteriormente se rebanó y se empacó al vacío.

Análisis bromatológico

• Porcentaje de grasa

Se determinó el porcentaje de grasa que contenía el producto tipo salami por el método 920.39 de la AOAC (1996), método Soxhlet.

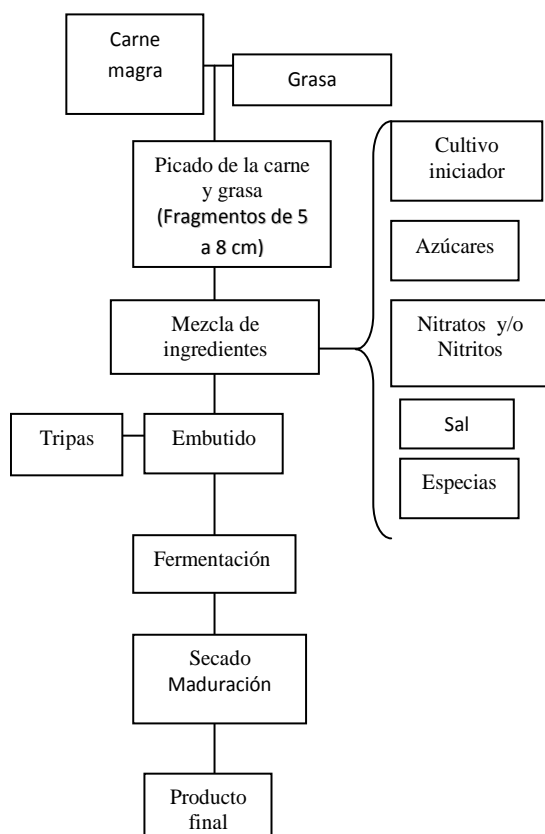


Fig. 1. Diagrama de flujo de la elaboración de un producto cárnico fermentado tipo salami

- Contenido de humedad

Se usó el método modificado de la AOAC (1996) 930.15, basado en la diferencia de pesos por evaporación de agua en una estufa de vacío a 100°C.

- Porcentaje de proteína

Mediante método Micro-Kjeldahl, multiplicando por el factor 6.25 el porcentaje de nitrógeno, basado en el método 988.05 de la AOAC (1996).

Microorganismos

Como cultivo iniciador se usó *L. plantarum* (BioCarna® Protect ALC) liofilizado proporcionado por Danisco Cultor, se

hidrató 1 mg en 9mL de agua estéril por 30min en baño María a 30°C y posteriormente fue mezclado con la carne.

Como microorganismo probiótico se usó *Lactobacillus acidophilus* el cual se obtuvo de las cápsulas Lactocil® de los laboratorios Pharmacaps, el cual se sembró en agar MRS (Merck, Alemania) para aislarlo, una vez aislado se inoculó en caldo MRS (Merck, Alemania), por 24-48h a 35°C, una vez transcurrido el periodo de incubación, se centrifugaron 24mL de caldo, el sedimento se diluyó en 9mL de agua estéril y posteriormente fue mezclado con la carne.

Se elaboraron 3 muestras diferentes, la muestra control se inoculó con *L. plantarum*, la segunda muestra se elaboró con *L. acidophilus*, y la tercera muestra se elaboró con una mezcla de ambos microorganismos.

Análisis microbiológico

Se llevó a cabo el recuento del cultivo iniciador y de la bacteria probiótica (por duplicado) inmediatamente después de la elaboración, y a diferentes intervalos durante la fermentación y el secado. Para preparar la muestra se pesó 1g de salami y se suspendió en 99 mL de agua peptonada. Se hicieron 3 diluciones en agua de peptona esterilizada y se sembró en profundidad, usando agar MRS (Merck, Alemania).

El *Lactobacillus acidophilus* así como el cultivo iniciador se incubaron en agar MRS (Merck, Alemania) a 37°C por 3 días anaerobiamente y se realizó el recuento con la ayuda de una plantilla de conteo.

Determinación de pH

Se midió el pH con un potenciómetro inmediatamente después de la elaboración, durante la fermentación y el secado, con el

método 32.016 de la AOAC (1996), por inmersión de electrodo.

Determinación de ácido láctico

Se determinó la acidez del producto por titulación con NaOH al 0.1N y se expresó como porcentaje de ácido láctico.

Evaluación sensorial

La calidad sensorial del carnicero tipo salami elaborado se realizó mediante pruebas sensoriales afectivas con escala hedónica de nueve puntos, siendo el 1 me disgusta demasiado y el 9 me gusta demasiado, realizadas por un panel de 24 jueces no entrenados quienes evaluaron parámetros como sabor, olor, color, textura y aceptabilidad general, de la muestra control y de las dos muestras a evaluar, decidiendo así sobre el carnicero de su preferencia.

Análisis estadístico

Todos los datos se analizaron por medio de un ANOVA de una vía, con la ayuda del programa MiniTab (14.1.0.0, Minitab, Inc.)

Resultados y discusión

Caracterización del producto cárnico fermentado

Los porcentajes de humedad obtenidos para los embutidos tipo salami elaborados a partir de *L. plantarum*, *L. acidophilus* y mezcla de microorganismos tienen valores de alrededor de 27%, esto es una diferencia menor al 7%, comparado con lo reportado por Pederson (1979) los valores son cercanos, los salami comerciales presenta más del 43.6% de humedad.

El porcentaje de grasa de los salamis comerciales y los elaborados en el laboratorio tienen valores de alrededor del 24%. El porcentaje de proteína obtenido para los embutidos elaborados en el laboratorio fue muy alto (45%) a comparación de los comerciales (26%). Estas diferencias pueden ser atribuibles a diferencias en la formulación, así como a el método de fermentación y secado empleados.

Cambio de pH

Varnam y Sutherland (1995) reportan que la maduración de un salami termina cuando el producto ha alcanzado un pH de 5.1-5.2, este pH se logró después de 11 días de secado como se puede observar en la Figura 2.

El producto tipo salami inoculado con la mezcla de cultivos alcanzó un pH relativamente menor que los embutidos elaborados con un sólo cultivo, ya que éstos llegan al mismo nivel de pH al cabo de 11 días.

En la Fig. 2 se muestra como fue disminuyendo el pH conforme al tiempo. Se puede observar que en el embutido inoculado con *L. acidophilus* el pH disminuye en mayor proporción que cuando se inocula con *L. plantarum* o con la mezcla, sin embargo no existe diferencia significativa ($p < 0.05$) entre los valores de los tres embutidos, alcanzando los valores de pH propuestos para su maduración.

El embutido elaborado con *L. plantarum* y el inoculado con la mezcla de microorganismos siguen la misma tendencia mientras que el embutido preparado con *L. acidophilus* sigue una tendencia lineal. Esto nos lleva a inferir que el microorganismo predominante en la fermentación del producto tipo salami inoculado con la mezcla es el *L. plantarum*, sin embargo se requieren más estudios para poder confirmar esto.

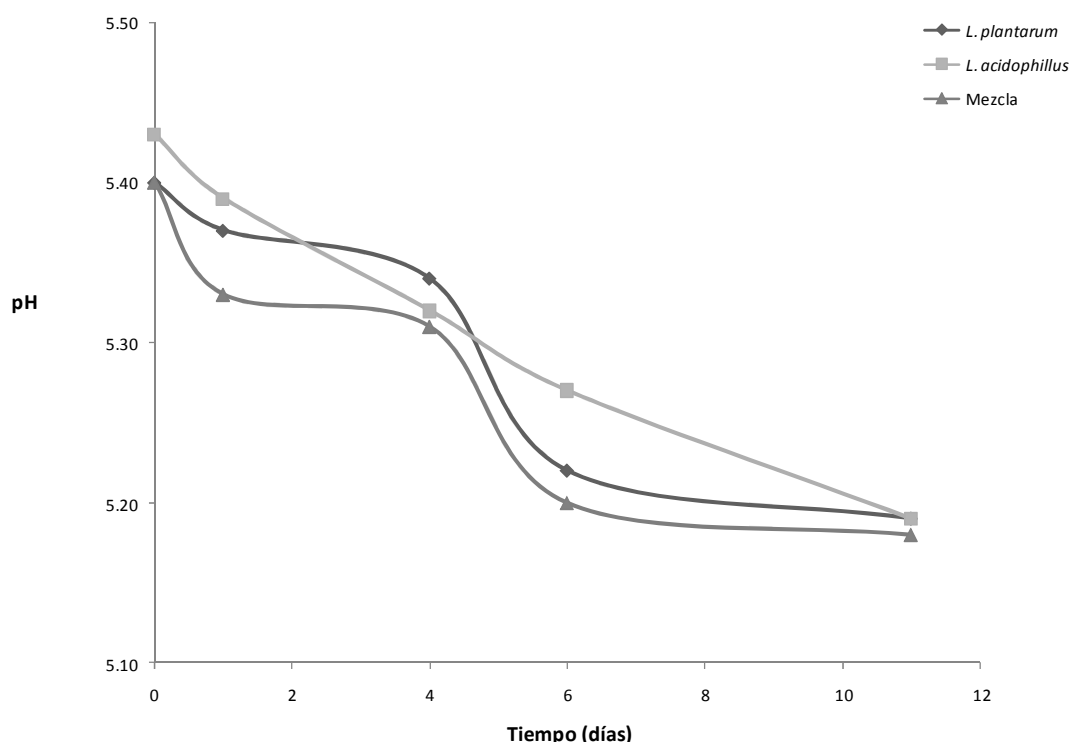


Fig. 2. Cambio de pH en el embutido tipo salami inoculado con diferentes cultivos iniciadores

Los valores obtenidos en esta investigación (5.1-5.2) están muy en línea con los reportados por Työppönen *et al.* en 2003 ya que ellos obtiene valores de pH de 5.0 en productos cárnicos fermentados a partir de BAL en los primeros días de fermentación, y Erkkilä *et al.* (2001) reporta valores de 5.1 para un producto cárnico fermentado a partir de *L. rhamnosus*, en los primeros 7 días de maduración.

Cambio de acidez

Las bacterias empleadas como cultivo iniciador y probiótico son productoras de ácido láctico. En la Figura 3 se puede observar que el aumento de ácido láctico es casi del 100% en los 3 casos. Sin embargo, el embutido que presentó mayor producción de

ácido láctico fue el preparado con la mezcla de cultivos.

Por otro lado el embutido elaborado con *L. acidophilus* es el que menor producción de ácido láctico presentó. No se presentó ninguna tendencia en la producción de ácido. Ya que ambos microorganismos son productores de ácido láctico, no se puede inferir sobre el predominio de un microorganismo en específico.

Viabilidad de microorganismos probióticos

El análisis se llevó a cabo inmediatamente después de la elaboración del embutido tipo salami, durante la fermentación y el secado, hasta cumplir con los 11 días. En la Fig. 4 se puede observar la viabilidad de los microorganismos *L. plantarum* (cultivo

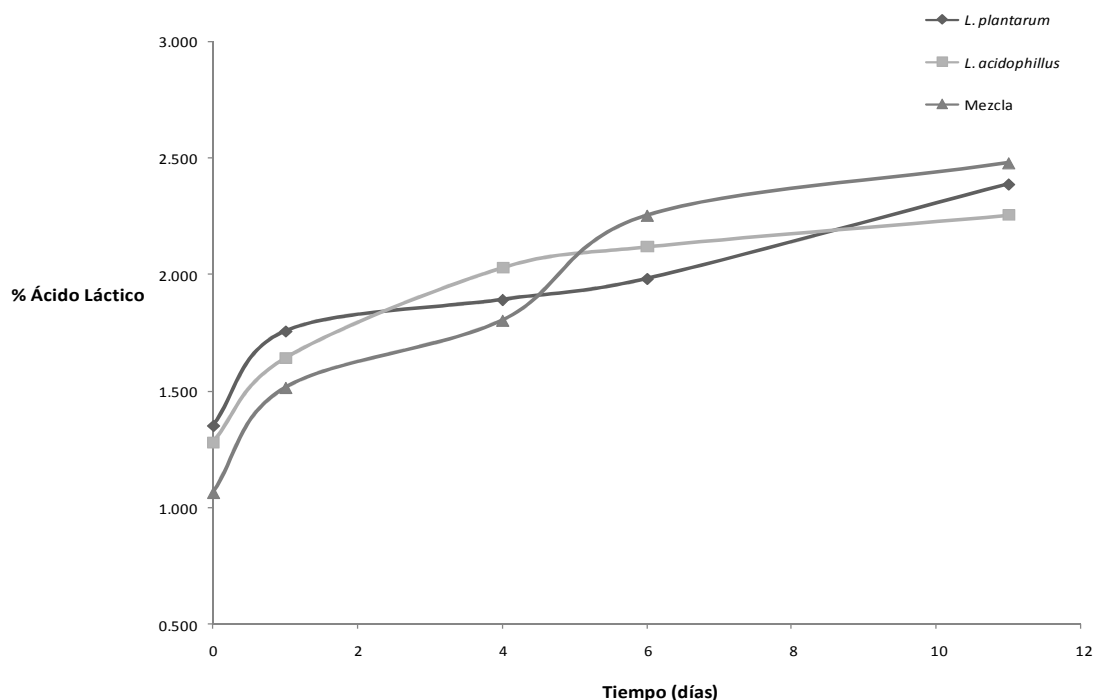


Fig. 3. Aumento de acidez en el embutido tipo salami inoculado con diferentes microorganismos probióticos

iniciador), *L. acidophilus* (probiótico) y la mezcla inoculados en el producto cárnico fermentado tipo salami.

En la gráfica se observa que los *Lactobacillus* crecieron en todos los casos. Para que un alimento sea considerado

como probiótico debe tener al menos 10^6 UFC/g (Shah, 2001) y el producto obtenido tuvo al menos 10^7 UFC/g, por lo que se puede decir que es viable el crecimiento del *L. acidophilus* en el salami, así mismo se pudo observar que la mezcla de microorganismos resultó en un mayor

crecimiento, a pesar que no se logró determinar si los microorganismos presentes en el salami inoculado con la mezcla fueron *L. plantarum* o *L. acidophilus* o ambos.

Por otro lado se puede observar que el embutido inoculado con la mezcla de microorganismos presenta una tendencia exponencial, mientras que los inoculados con un solo microorganismo a partir de los 6 días empiezan a presentar una tendencia estacionaria, ya que en 6 días no aumentaron más de un ciclo logarítmico.

Erkkilä *et al.* (2001) reportan que el número de bacterias aumentó un ciclo logarítmico en el producto cárnico fermentado a partir de *L. rhamnosus* LC-705 y GG mientras que el control inoculado con *Pediococcus* no alcanza a incrementarse ni un ciclo logarítmico.

Arihara *et al.* (1996) reportaron que la cepa de *Lactobacillus gasseri* JCM1131, como microorganismo probiótico, se puede ocupar para mejorar la seguridad del

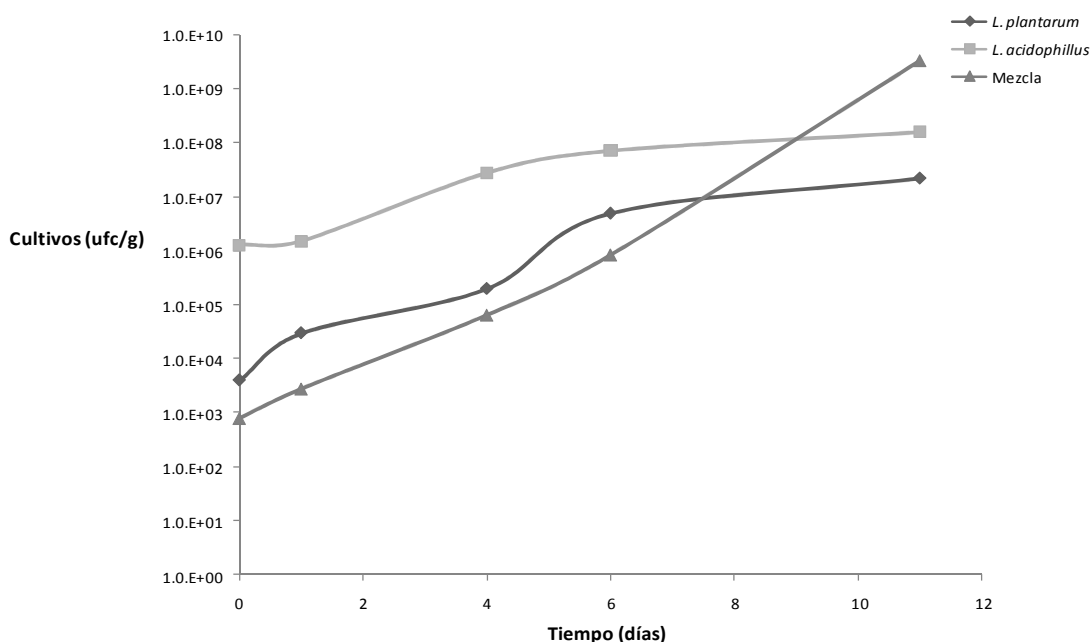


Fig. 4. Crecimiento de microorganismos durante la fermentación y secado del embutido tipo salami

producto. Sameshima *et al.* (1998) demostraron el uso de microorganismos probióticos como *L. rhamnosus* FERM P-15120 y *L. paracasei* FERM P-15121 en carnes fermentadas. Anderson (1998) fermentó un producto cárnico a partir de una mezcla de Bactoform, como cultivo iniciador, y *L. casei* LC -01 como microorganismo probiótico.

Análisis sensorial

Los resultados del ANOVA indican que no existe diferencia significativa en ninguno de los parámetros evaluados ($p > 0.05$). Por lo que podemos decir que no existe una preferencia por algún embutido tipo salami, los 3 muestran el mismo grado de aceptabilidad.

No afecta el tipo de cultivo iniciador utilizado en la elaboración del cárnico tipo salami sobre las características sensoriales.

Por lo que en principio se podría decir que es factible elaborar un embutido probiótico.

Conclusiones

Los productos cárnicos, en particular la formulación del embutido tipo salami utilizada, son un medio que permite el buen crecimiento de los microorganismos empleados ya que no se observó decremento en la cantidad de microorganismos. La población de microorganismos probióticos en el producto cárnico fermentado tipo salami fue superior a 10^7 UFC/g.

El análisis sensorial aplicado en este estudio, nos muestra que las características del producto no se ven afectadas por el tipo de bacteria empleada, ya que no existió diferencia significativa en la prueba afectiva, siendo el sabor una de las características más

Tabla II. Resultados de la evaluación sensorial

	Media	σ
Color		
<i>L. plantarum</i>	7.13	1.54
<i>L. acidophilus</i>	7.46	1.02
Mezcla	7.50	1.10
Olor		
<i>L. plantarum</i>	7.63	1.28
<i>L. acidophilus</i>	7.13	1.36
Mezcla	6.75	1.19
Textura		
<i>L. plantarum</i>	7.21	1.62
<i>L. acidophilus</i>	6.5	1.59
Mezcla	6.83	1.27
Sabor		
<i>L. plantarum</i>	6.46	1.87
<i>L. acidophilus</i>	7.21	1.14
Mezcla	6.92	1.61
Aceptabilidad General		
<i>L. plantarum</i>	6.92	1.67
<i>L. acidophilus</i>	7.00	1.25
Mezcla	7.04	0.99

importantes debido al tipo de producto elaborado.

Los resultados obtenidos muestran que el *Lactobacillus acidophilus* se puede emplear como cultivo iniciador en un producto cárnico fermentado con las ventajas de un producto probiótico ya que la producción de ácido láctico es muy parecida a la del cultivo iniciador así como la reducción del valor de pH.

La mezcla de microorganismos da mejor resultado en un producto cárnico tipo salami con buen sabor y con las características de un salami. Sin embargo falta analizar si durante el recuento de las BAL en la mezcla predomina alguna de ellas. Los resultados obtenidos cuando se inoculó de manera individual indican que la formulación es adecuada para su crecimiento.

Referencias

- AOAC. 1996. *Official Methods of Analysis of Association of Analytical Communities International*. William Horwitz (Ed.). AOAC International.
- Anderson, L. 1998. Fermented dry sausage products with the admixture of probiotic cultures. *Int Proc. 44th ICoMST*, 826-827.
- Arihara, K., Ota, H., Otoh, M., Kondo, Y., Sameshima, T., Yamanaka, H., Akimoto, M., Kanai, S. y Miki, T. 1996. Utilization of probiotic lactic acid bacteria for meat products. *Int Proc. 24th ICoMST*, 501-502.
- Erkkilä, S., Suihko, M-L., Eerola, S., Petäjä, E. y Mattila-Sandholm, T. 2001. Dry sausage fermented by *Lactobacillus rhamnosus* strains. *Int J Food Microbiol.* 64:205-210.
- Guarner, F. 2007. *Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad*. Nutr Hosp. <http://scielo.isciii.es/scielo.php>, accesada 25/02/2009.
- Havenaar, R. y Huis In't Veld, J.H.J. 1992. Probiotics: a general view. Citado por: Rolfe, R.D. 2000. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J Nutr.* 130:396S-402S
- Isolauri, E. 2001. Probiotics in human disease. *Am J Clin Nutr.* 73(suppl):399S-405S.
- Isolauri, E., Sütas, Y., Kankaanpää, P., Arvilommi, H. y Salminen, S. 2001. Probiotics: effects on immunity. *Am J Clin Nutr.* 73(suppl):444S-450S.
- Pederson, C. S. 1979. *Microbiology of food fermentations*. Segunda Edición. AVI Publishing Co., Inc.. Westport, Connecticut.
- Roberfroid, M. B. 2000. Prebiotics and probiotics: are they functional foods?. *Am J Clin Nutr.* 71(suppl):1682S-1687S.
- Rolfe, R.D. 2000. The role of probiotic cultures in the control of gastrointestinal health. *J Nutr.* 130:396S-402S
- Rowland, I. 2002. Alimentos funcionales. Nuevas tendencias. En: R.M. Ortega, A. Marcos, J.

- Aranceta, J.A. Mateos, A.M. Requejo, L. Serra. Editores *Alimentos Funcionales Probióticos*. Editorial Médica Panamericana. Madrid, España.
- Shortt, C. 1999. The Probiotic Century: Historical and Current Perspectives. *Trends Food Sci Tech.* 10:411-417.
- Sameshima, T., Magome, C., Takeshita, K., Arihara, K., Itoh, M. y Kondo, Y. 1998. Effect of intestinal *Lactobacillus* starter cultures on the behavior of *Staphylococcus aureus* in fermented sausage. *Int J food Microbiol.* 41:1-7.
- Työppönen S., Petäjä, E. y Mattila-Sandholm T. 2003. Bioprotectives and probiotics for dry sausages. *International Journal of food microbiology.* 83:233-244.
- Shah, N.P. 2001. Functional foods from probiotics and prebiotics. *Food Technol.* 55(11): 46-53.
- Varnam, A. H. y Sutherland, J. P. 1995. *Meat and meat products*. Chapman & Hall. Food Products Series. Londres, Reino Unido.