

DIFERENTES TECNICAS DE FERMENTACION EN LA ELABORACION DE PRODUCTOS CARNICOS FERMENTADOS

Different fermentation techniques on the manufacture of fermented beef products

Beatriz Arias de Munoz
Enrique Marquez Salas
Elba Gómez Cornieles

Facultad de Ciencias Veterinarias,
Universidad del Zulia,
Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela

RESUMEN

Productos carnicos fermentados fueron preparados utilizando tres mezclas diferentes (A: con azúcar y sin cultivo iniciador, B: sin azúcar y sin cultivo iniciador y C: con azúcar y con cultivo iniciador) y a dos temperaturas distintas. 5° C y 30° C durante 24 horas. Posteriormente, los productos se cocinaron usando calor seco, hasta alcanzar una temperatura final interna de 60° C. se enfriaron a temperatura ambiente y se guardaron bajo refrigeración (4 - 7° C) por 18 días. Determinaciones de pH, rendimiento después de la fermentación, rendimiento después de la cocción y análisis microbiológicos (Recuento estándar en placas, coliformes fecales y estafilococos patógenos) fueron realizados a cada muestra. Los resultados indicaron que la inoculación con un cultivo iniciador de lactobacilos y una temperatura de fermentación de 30° C resultó en un producto con el pH más bajo (5.25). No se observó diferencias en el rendimiento debido a los diferentes tipos de mezcla, pero si debido a las distintas temperaturas. Se apreció también una notable disminución en el número de bacterias mesófilas por gramo de producto, de coliformes fecales y ausencia de estafilococos, coagulasa positiva en el tratamiento con cultivo iniciador independientemente de la temperatura de fermentación.

Palabras claves: Cultivo iniciador, lactobacilos, fermentación.

ABSTRACT

Fermented beef product were prepared using three different techniques (A: with sugar and without starter culture, B: neither sugar nor starter culture and C: with sugar and starter culture). All the above treatment were

fermented at two different temperatures 25° C and 30° C during 24 hours. Later, the products were cooked by dry heat to an internal temperature of 60° C. Sausages were kept in refrigeration (4-7° C) for 18 days. Determination of pH, fermentation yield, cooking yield and microbiological analyses (Standard plate count, fecal coliforms and pathogens staphylococcus count) were performed on each sample. Results indicated that fermented sausages prepared with lactobacillus starter culture and fermentation temperature at 30° C showed the lowest pH (5.25), less number of mesophiles bacteria/g in the standard plate count, fecal coliforms and absence of staphylococcus, coagulase positive. No differences were observed in fermentation yield and cooking yield due to the different techniques. However differences yield were observed due to fermentation temperature.

Key words: Starter culture, lactobacillus, fermentation.

INTRODUCCION

Los productos carnicos, conocidos como embutidos, constituyen una de las formas mas antiguas de alimentos procesados. Sus formulaciones datan de tiempos inmemoriales, por lo que la preparación de estos productos en la actualidad se ha desarrollado de las practicas de la antigüedad. Sus métodos de preparación varían considerablemente, dando origen a una gran diversidad de productos carnicos procesados con características propias. Dentro de estos diferentes tipos de embutidos se destacan los productos cárnicos fermentados, aquellos que deliberadamente son inoculados con específicas tipos de bacterias, mohos y algunas veces levaduras con el propósito de alterar las características del producto final, como son niveles relativamente bajos de humedad y pH.

En su elaboración los productos pueden ser fermentados mediante dos técnicas diferentes: 1. Maduración lenta, cuando el producto es mantenido durante cierto

Recibido el: 15 octubre 1991

Aceptado el: 27 febrero 1992

tiempo, bajo condiciones específicas de temperaturas bajas y humedad relativa elevada, que permiten el crecimiento de microorganismos productores de ácidos, tales como los lactobacilos, presentes naturalmente sobre la superficie de todas las carnes. 2. Maduración rápida, utilizando cultivo de microorganismos lácticos homofermentativos y maduración a altas temperaturas (25° C o más). El uso de lactobacilos homofermentativos es en la actualidad una de las técnicas más recomendadas, debido a que con ella, la fermentación es más fácil de controlar, su tiempo más corto y se disminuyen los riesgos de contaminación del producto por microorganismos indeseables^[6].

Durante el proceso de fermentación bacteriana, el azúcar añadido a la mezcla es empleado por las bacterias lácticas como sustrato para producir ácido láctico, lo que ocasiona un descenso de pH, impartiendo al producto un sabor ácido y una textura gomosa característica, además de originar un ambiente inhibitorio para el crecimiento de muchos otros organismos.

El descenso del pH trae como consecuencia que las proteínas miofibrilares (Miosina y Actina, principalmente) se aproximen a su punto isoelectrico, reduciéndose la habilidad de las mismas para retener el agua, lo que ocasiona una pérdida considerable de humedad en el producto. Por consiguiente, a estos productos fermentados se les ha clasificado en secos y semi-secos, denominándose secos aquellos que pierden entre el 25 al 40% de su peso inicial y semi-secos cuando la pérdida de peso se ubica entre el 8 y el 15%^[11].

En nuestro país la maduración lenta es la más comúnmente utilizada por los fabricantes de embutidos fermentados, tal vez esto sea debido a desconocimiento de técnicas de fermentación más modernas o a carencia de recursos para la obtención de microorganismos especializados, por lo que se hace necesario adelantar estudios que conlleven a la elaboración de productos cárnicos fermentados mediante la técnica de maduración rápida, usando cultivos iniciadores de microorganismos especializados que nos permita determinar su eficiencia bajo las condiciones de procesamiento y realizar un estudio comparativo del rendimiento y calidad microbiológica de estos productos.

MATERIALES Y METODOS

Elaboración de los productos

Los productos fueron preparados según la fórmula que muestra la TABLA I. Carne de vacuno y grasa de cerdo fueron molidas y pesadas por separado, se combinaron en las cantidades respectivas y se mezclaron con los demás ingredientes (condimentos y sales del curado), previamente pesados con excepción del azúcar. Se separó de la mezcla los grupos controles sin azúcar para proceder a añadir este ingrediente y separar también los grupos controles con azúcar, de aquellos que serían inoculados con cultivo de *Lactobacillus casei* (10⁶/g).

Las mezclas fueron embutidas en tripas artificiales, se

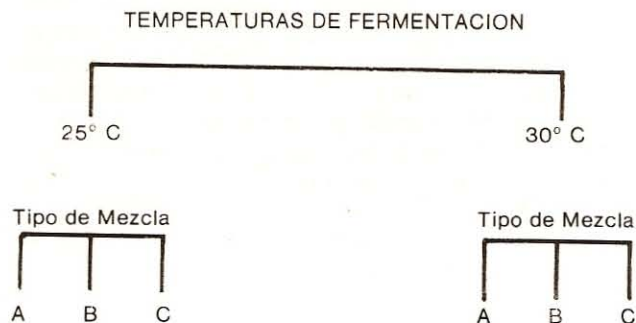
TABLA I
FORMULA PARA LA PREPARACION
DE LOS PRODUCTOS

INGREDIENTES	PORCENTAJES (%)
COMPONENTES CARNICOS	
Carne de Vacuno	80.0
Grasa de Cerdo	20.0
SALES DEL CURADO ^a	
Nitrato	0.01
Eritorbato	0.05
CONDIMENTOS	
Sacarosa	1.0
Sal común	2.5
Pimienta	0.2
CULTIVO INICIADOR	
Lactobacillus casei	

a Los porcentajes de nitrato y eritorbato fueron basados en la cantidad de carne utilizada.

pesaron y se colocaron en la correspondiente temperatura de fermentación, según diseño experimental, TABLA II. Una vez transcurrido el periodo de fermentación, las muestras se pesaron y se les determinó el pH. Posteriormente fueron sometidas a un proceso de cocción gradual, usando calor seco a diferentes temperaturas y tiempos hasta alcanzar una temperatura final interna de 60° C. Se pesaron nuevamente las muestras y se colocaron bajo

TABLA II
DISEÑO EXPERIMENTAL



Tratamiento A: Con azúcar y sin cultivo iniciador.
 Tratamiento B: Sin azúcar y sin cultivo iniciador.
 Tratamiento C: Con azúcar y con cultivo iniciador.

Parámetros a medir: pH, Rendimiento después de la Fermentación y después de la cocción, Recuento de bacterias mesófilas, Coliformes fecales y *Staphylococcus aureus*, coagulasa positiva.

refrigeración a una temperatura entre 4-7° C durante 18 días.

Análisis microbiológicos

Muestras representativas de los productos fueron tomadas con instrumental estéril, para realizar los tests microbiológicos más importantes según Ayres^[3]. Ellos son: recuento estándar en placas (bacterias mesófilas), Coliformes fecales y Staphylococcus aureus.

Preparación de las muestras (Norma COVENIN 1126)^[7]

Las muestras se prepararon a partir de una mezcla homogénea (licuado) del producto examinado. De este homogeneizado se hicieron las diluciones decimales sucesivas necesarias para el montaje de las pruebas.

Recuento estándar de placas

Se utilizó 1 ml de las diluciones (por duplicado) para sembrar en placas de Petri estériles, a las que se les añadió agar fundido a 45° C, se les dejó solidificar y se incubaron a 37° C por 48 horas. Al final de este período se determinó el número de colonias desarrolladas en cada dilución, reportándose como número de bacterias/g de producto (UFC/g)*.

Coliformes fecales

Para este análisis se utilizó el método del número más probable (NMP) de coliformes fecales (Norma COVENIN 1104, segundo método). De las diluciones de la muestra a examinar, se sembró en Caldo Mac Conkey con tubos de fermentación que se incubaron a 37° C por 24 - 48 horas. Una vez transcurrido este período se determinó los tubos que presentaron formación de gas, lo que se confirmó con caldo lactosa bilis verde brillante al 2% y en agua peptonada, la formación de indol usando el reactivo de Kovacs.

Staphylococcus aureus

En este ensayo se sembró 0,1 ml de las diluciones de la muestra (por duplicado) sobre la superficie del medio de cultivo de Baird Parker (Norma COVENIN 1292). Después del período de incubación se seleccionaron aquellas placas con colonias típicas de Staphylococcus aureus, lo que representó un recuento presuntivo que se confirmó con la prueba de coagulasa.

Análisis estadístico

Un diseño factorial 3x2 fue utilizado para evaluar pH, rendimiento y calidad microbiológica. Los factores fueron tres tipos de mezcla y dos temperaturas de fermentación (TABLA II). Se realizaron seis réplicas por tratamiento y los datos obtenidos fueron analizados mediante el Análisis

de la Varianza de SAS PROC GLM^[15]. Las medias de los diferentes tratamientos se compararon utilizando el procedimiento LSD**, Duncan Multiple Range, Duncan^[10].

RESULTADOS Y DISCUSION

La TABLA III muestra los resultados obtenidos en el pH, Rendimiento después de la Fermentación (RF) y Rendimiento después de la Cocción (RC). Se observa que el pH fue afectado por el tipo de mezcla. El tratamiento C (con azúcar y con cultivo iniciador) mostró el pH más bajo (5.25). También puede evidenciarse que la temperatura de fermentación afectó al pH porque a 30° C éste fue más bajo (5.31), mostrando diferencias significativas con el pH (5.40) a la menor temperatura de fermentación (25° C). Las diferencias debidas al tipo de mezcla se pueden explicar por la presencia de cultivo iniciador y azúcar en el tratamiento C y ello concuerda con reportes previos^[1,4,5,8,9]. El hecho de que se haya obtenido un pH más bajo a 30° C se podría explicar, en base a que esta temperatura es más cercana a la óptima de crecimiento de los lactobacilos^[14].

En cuanto al RF se puede observar que no hubo diferencias significativas atribuibles al tipo de mezcla, a pesar de que pudiera esperarse que el RF en aquellos productos con un pH más bajo como los del tipo C, se vieran afectados en su capacidad de retención de agua por parte de las proteínas. Las diferencias no muy grandes de los valores de pH obtenidos en los distintos tratamientos podrían explicar que el RF no fuera significativo. Asimismo, se observa en la TABLA III, el efecto significa-

TABLA III
VALORES PROMEDIOS DE pH,
RENDIMIENTOS DESPUES DE LA FERMENTACION
Y DESPUES DE LA COCCION DEBIDOS
AL TIPO DE MEZCLA Y TEMPERATURAS

Característica	TRATAMIENTOS			Temperaturas de Fermentación	
	Tipo de Mezcla			25°C	30°C
	A	B	C		
pH	5.36 ^b	5.45 ^a	5.25 ^c	5.40 ^a	5.31 ^b
RF (%)	92.62	92.79	92.69	96.87 ^a	88.11 ^b
RC (%)	87.62	87.56	87.94	90.88 ^a	84.04 ^b

abc Valores con letras distintas son diferentes (P < 0.05).

Los tipos de mezcla fueron las siguientes:

- A = Sin cultivo iniciador y con azúcar.
- B = Sin cultivo iniciador y sin azúcar.
- C = Con cultivo iniciador y con azúcar.

RF = Rendimiento después de la Fermentación.

RC = Rendimiento después de la Cocción.

LSD** = Menor diferencia significativa.

(UFC/g)* = Unidades formadoras de colonias/gramo.

tivo de la temperatura en el RF cuyo valor a 25° C fue 96.87% y a 30° C, 88.11%. Este resultado se explica en base a que una mayor temperatura de fermentación promueve mayor pérdida de humedad en el producto.

En la misma TABLA III, se aprecia que el RC tampoco fue afectado por el tipo de mezcla ($P > 0.05$), a pesar de la diferencia en el pH. Los resultados obtenidos pudieran explicarse basándonos en que la temperatura de cocción pudiera enmascarar el efecto del pH y al tratarse además, de un producto compuesto de una mezcla gruesa de carne y grasa, que estarían no homogéneamente distribuidas en las diferentes porciones que conforman cada muestra, podrían ser las variables que explican estos resultados.

TABLA IV
VALORES PROMEDIOS DE COLIFORMES FECALES
DEBIDOS AL TIPO DE MEZCLA
Y TEMPERATURA (Colif. fec./g)

Tipo de Mezcla	TRATAMIENTOS	
	Temperaturas de Fermentación	
	25° C	30° C
A	2.9×10^2 ^a	8.6×10^b
B	3×10^3 ^a	2.2×10^2 ^a
C	8.7×10^b	3.3×10^b

ab Valores con letras distintas son diferentes ($P < 0.05$).

Los tipos de mezcla fueron los siguientes:

A = Sin cultivo iniciador y con azúcar.

B = Sin cultivo iniciador y sin azúcar.

C = Con cultivo iniciador y con azúcar.

Al analizar el efecto de la temperatura de fermentación sobre el RC, encontramos que los productos fermentados a 25° C tuvieron un rendimiento significativamente mayor posteriormente al cocinado (90.88%), que aquellos que se fermentaron a 30° C (84.04%). Estos resultados pudieran ser explicados en base a que una temperatura más alta de fermentación (30° C) y un pH más bajo (5.31), parece promover en mayor grado la desnaturalización proteica y la consiguiente pérdida de humedad y grasa del producto.

La TABLA IV nos muestra los valores obtenidos en el conteo de coliformes fecales, que se expresan como colif. fec./g de producto. Ella nos indica que el efecto de la temperatura depende del tipo de mezcla; de modo que el número de bacterias coliformes presentes en las muestras se vió afectado por la mezcla y la temperatura empleada. El tratamiento C dió los valores más bajos independiente de la temperatura empleada. Mientras que la mezcla B produjo los valores más elevados independientemente de la temperatura. En cuanto al tipo de mezcla A notamos que a 30° C el conteo es significativamente menor (8.6×10) que el valor obtenido a 25° C (2.9×10^2).

Estos resultados podrían ser explicados en base a que el uso de cultivo iniciador en la elaboración de este tipo de producto provee a los mismos de un número suficiente de microorganismos, como ocurre en el tipo de mezcla C, que asegura numéricamente el dominio de ellos sobre el resto de la flora acompañante. Este hecho, acelera el proceso de fermentación que junto al uso de una temperatura más alta (30° C), asegura una fermentación rápida, de modo que, el desarrollo de un ambiente ácido en el producto constituye un mecanismo de control para bacterias indeseables. Referente a la mezcla A podemos señalar que la temperatura a 30° C favoreció el desarrollo de las bacterias acidolácticas presentes en la flora normal de la muestra, situación que condujo a los productos, bajo esas condiciones, a mostrar un pH de 5.3 al ser fermentados a 30° C y explica el hecho de que el tipo A a 30° C obtuvo un valor similar al tipo de mezcla C a 25° C y diferente ($P < 0.05$) con el obtenido en A a 25° C. Ahora bien, en el tipo de mezcla B se observa un conteo elevado en ambas temperaturas (25° C y 30° C) y similitud con el resultado del tipo A a 25° C. Se asume que esto sea debido a la ausencia de cultivo iniciador, carbohidrato fermentable y un pH más alto (5.4), el cual es superior al propuesto dentro de las Good Manufacturing Practices, para el control microbiano, AMI^[2].

La TABLA V recoge los valores promedios del recuento estándar en placas, en la que se expresa que el efecto de la temperatura depende del tipo de mezcla. El número de bacterias mesófilas fue afectado ($P < 0.05$) por estos dos parámetros. Observamos en la TABLA que en el tipo de mezcla C, los resultados a 25° C y 30° C fueron los más bajos (1.4×10^7 y 1.2×10^7 UFC/g, respectivamente), apreciándose diferencias no significativas entre estos valores y con el obtenido en el tipo A a 25° C (2.8×10^6). Además, observamos en A que el valor conseguido a la temperatura de 30° C (1.8×10^7) es mayor ($P < 0.05$) que el señalado a 25° C. Asimismo, apreciamos en el tipo de

TABLA V
VALORES PROMEDIOS DEL RECuento ESTANDAR
EN PLACAS DEBIDO AL TIPO DE MEZCLA
Y TEMPERATURA (UFC/g)

Tipo de Mezcla	TRATAMIENTOS	
	Temperaturas de Fermentación	
	25° C	30° C
A	2.8×10^6 ^a	1.8×10^7 ^b
B	8.2×10^6 ^c	2.2×10^7 ^b
C	1.4×10^7 ^a	1.2×10^7 ^a

abc Valores con letras distintas son diferentes ($P < 0.05$).

Los tipos de mezcla fueron los siguientes:

A = Sin cultivo iniciador y con azúcar.

B = Sin cultivo iniciador y sin azúcar.

C = Con cultivo iniciador y con azúcar.

TABLA VI
VALORES PROMEDIOS DE STAFILOCOCCUS AUREUS
DEBIDOS AL TIPO DE MEZCLA
Y TEMPERATURA (SA/g)

Característica	TRATAMIENTOS			Temperaturas de Fermentación	
	Tipo de Mezcla			25° C	30° C
	A	B	C		
SA	2.2x10 ² ab	6.6x10 ² a	0.0 ^b	2.2x10 ²	3.6x10 ²

ab Valores con letras distintas son diferentes (P < 0.05).

Los tipos de mezcla fueron los siguientes:

A = Sin cultivo iniciador y con azúcar.

B = Sin cultivo iniciador y sin azúcar.

C = Con cultivo iniciador y con azúcar.

mezcla B que el conteo a 25° C (8.2×10^6) fue significativamente menor que a 30° C (2.2×10^7).

La explicación de estos resultados indica un menor conteo de mesófilos en el tipo C, debido a la adición de cultivo iniciador y azúcar, responsables directos del descenso del pH e indirectos del retardo en el crecimiento microbiano. Comparando este caso con los otros dos tipos de mezcla A y B, observamos conteos más elevados que responden a un incremento numérico en función de la temperatura más elevada de fermentación, además de ser los tratamientos que obtuvieron los pH más altos en relación al tipo de mezcla C.

En relación al conteo de *Staphylococcus aureus* (SA) expresado en la TABLA VI se observa que la presencia de estos microorganismos en los productos estudiados fue afectado (P < 0.05) por el tipo de mezcla utilizada. En ella se evidencia que no se encontró *S. aureus* en las muestras correspondientes al tipo de mezcla C (0/g), mientras que en el tipo B se obtuvo el conteo más alto (6.6×10^2) que es significativamente diferente del valor anterior (tipo C). Asimismo, podemos observar un conteo menor en el tipo de mezcla A (2.2×10^2) que indica no ser significativamente diferente del conteo del tipo B. Por otra parte observamos que la temperatura de fermentación no afectó el número de *Staphylococcus aureus* presentes en las muestras, porque a 30° C se obtuvo un conteo de (3.6×10^2) y a 25° C un conteo de (2.2×10^2).

La ausencia de *S. aureus* en la mezcla C, independientemente de la temperatura se podría explicar por la obtención de un pH más bajo en este tipo de mezcla. Hallazgo que coincide con los reportes previos de Niskanen and Nurmi^[1,3], Johnston^[1,2], Bacus^[4,5], quienes señalan que un pH de 5.3 o menor contribuye a crear un ambiente que controla efectivamente al *S. aureus*. De manera que, ello nos permite asumir que la fabricación de productos fermentados usando la adición de cultivos iniciadores resulta realmente beneficioso, al inhibir el

crecimiento de estafilococos patógenos y por ende reducir el riesgo que significa la elaboración de su enterotoxina en productos fermentados.

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Basándose en los resultados obtenidos se puede concluir que la utilización de cultivos iniciadores como *Lactobacillus casei* en la preparación de productos cárnicos fermentados, estuvo asociado con una sustancial disminución del pH, mediante la aplicación de una técnica rápida de fermentación, no afectándose en mayor grado los distintos rendimientos de los productos estudiados. Asimismo, los análisis microbiológicos efectuados revelan que en productos cárnicos con un bajo pH, podría garantizarse la seguridad en cuanto a su almacenamiento y consumo del producto, al encontrarse una disminución notable en el número de mesófilos, coliformes fecales y ausencia de estafilococos, coagulasa positiva, situación que se atribuye al desarrollo de un ambiente ácido que influye sobre la flora contaminante y controla efectivamente microorganismos patógenos como el *Staphylococcus aureus*.

Por consiguiente, no dudamos en recomendar la técnica de fermentación rápida (24 horas) utilizando cultivo iniciador y temperaturas de fermentación consideradas como altas (30° C). No obstante, creemos imprescindible emprender de inmediato otras investigaciones orientadas hacia aquellos parámetros que no fueron suficientemente explicados, siendo interesante también poder evaluar el papel que podrían jugar condiciones de procesamiento diferentes a las que tuvimos en un laboratorio de análisis, además, del uso de equipos industriales que tengan controles adecuados de temperatura y humedad relativa que nos asegure mejores condiciones durante la fermentación y/o secado del producto.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- [1] Acton, J. C., Dick, R. L. and Norris, E. L. Utilization of various carbohydrates in fermented sausage. *Journal of Food Science*. 42:1977.
- [2] AMI. Good Manufacturing Practices, Fermented Dry and Semidry Sausage. Am. Meat. Inst., Washington, D.C. 1982.
- [3] Ayres, J. C. Microbiology of cured meats. Proceedings 15th Annual Meat Science Institute, Univ. Georgia. 1973.
- [4] Bacus, Jim. Update: Meat Fermentation. *Food Technology* 38 (6):59. 1984.
- [5] Bacus, Jim. Elaboración de productos cárnicos secos, semi-secos y fermentados. *Alimentos procesados*. 5(7): 1986.
- [6] Coretti, Kornel. Embutidos: Elaboración y defectos. Zaragoza (España): Editorial Acribia. 1971.
- [7] COVENIN. Comisión Venezolana de Normas Industriales. Ministerio de Fomento. 1980.
- [8] Daly, C., Chance, N., Sandine, W. E., and Elliker, P. R. Control of *Staphylococcus aureus* in sausage by starter culture and chemical acidulation. *J. Food Sci.* 38:426. 1973.
- [9] Deibel, R. H., Niven, C. F. and Wilson, G. D. Microbiology of meat curing. II. Some microbiological and related technological aspects in the manufacturing of fermented sausages. *Appl. Microbiol.* 9:157. 1961.
- [10] Duncan, D.B. New multiple range and multiple F. tests. *Biometrics* 11:1. 1955.
- [11] Forrest, John, Aberle, E. D., Hedrick, H. B., Judge, M. D., and Merkel, R. A. Principles of Meat Science. W. H. Freeman and company. 1978.
- [12] Johnston, R. W. Coagulase positive *Staphylococci* update. Presented at the ABC Res. 6th. Ann. Tech. 1980.
- [13] Niskanen, A. and Nurmi, E. Effect of starter culture on staphylococcal enterotoxin and thermonuclease production in dry sausage. *Appl. Microbiol.* 34(1):11. 1976.
- [14] Pederson, C.S. Microbiology of Food Fermentation. 2nd. edition. Westport, Conn. AVI Publishing Co., Inc. 1979.
- [15] SAS PROC GLM. User's Guide Statistics. 5th edition. SAS Institute Inc., Cary, N.C. 1985.