

^(a)DOCENTE ESCUELA
PROFESIONAL DE
INGENIERIA
AGROINDUSTRIAL
^(b)FACULTAD DE
CIENCIAS AGRARIAS
^(c)UNIVERSIDAD
NACIONAL DEL
ALTIPLANO PUNO -
PERÚ
^(d) jmaro@unap.pe

Artículo recibido: 20 de
Octubre del 2012
Aceptado para publicación:
22 de Mayo del 2013

EFECTO DE CULTIVOS INICIADORES EN LA PROTEOLISIS Y SU CARACTERISTICA SENSORIAL EN SALCHICHAS FERMENTADAS

Juan Marcos Aro Aro ^{a b c d}
Edgar Gallegos Rojas ^{a b c}

RESUMEN

El principal objetivo de este trabajo fue examinar los efectos de la utilización de cinco tipos de cultivos iniciadores comerciales en embutidos fermentados, el potencial de hidrogeno y los parámetros relacionados con la proteólisis también fueron estudiados durante la fermentación y maduración de la etapa de los embutidos fermentados. La actividad proteolítica fue alta en las salchichas con *Lactobacillus sakei* - *Staphylococcus carnosus* cultivos inoculados en salchichas durante el proceso que se correlacionó con los valores de potencial de hidrogeno más altos que los de las salchichas de control. Disminuir el potencial de hidrogeno y el desarrollo de bacterias del ácido láctico producido. Por otra parte, un ligero aumento de la actividad proteolítica se detectó durante el almacenamiento, tanto en estos embutidos. Proteínas miofibrilares sarcoplásmico y también se vieron afectados por este cultivo iniciador. Además, durante la fermentación, maduración y proteólisis intensa se observó tanto en los embutidos fermentados. El contenido de aminoácidos libres fue similar al inicio de la etapa de fermentación para todos los lotes estudiados.

Sin embargo, las grandes diferencias en el contenido de aminoácidos libres en el final del proceso podrían atribuirse a la actividad de cultivo iniciador.

Palabra Clave: Salchichas fermentadas, Cultivos iniciadores, Aminoácidos, Proteólisis.

EFFECT OF STARTER CULTURES IN PROTEOLYSIS AND SENSORY CHARACTERISTICS IN FERMENTED SAUSAGES

ABSTRACT

The main objective of this work was to examine the effects of using three types of commercial starter cultures in fermented sausage. During the fermentation stage, changes of proteolytic characteristics were observed in fermented sausage. Proteolytic activity was high in *Ls - Sc* (*Lactobacillus sakei* - *Staphylococcus carnosus*); starter inoculated sausages during processing. Moreover, a slight increase in proteolytic activity was detected during storage in both those sausages. Sarcoplasmic and myofibrillar proteins were also affected by this starter culture addition, during

the fermentation, ripening and intense proteolysis were shown in both fermented sausages. The content of free amino acids was similar at the beginning of the fermentation stage for all the studied batches. However, the high differences in the content of free amino acids at the end of the process could be attributed to the starter culture activity. A single of *Ls*: (*Lactobacillus sakei*) with 868.4 mg/100g, take place during the ripening stage.

Key words: Fermented sausage, Starter culture, amino acid, proteolysis

INTRODUCCIÓN

Los productos cárnicos fermentados se encuentran en la mayoría de las partes del mundo, aunque Europa es el mayor productor y consumidor de estos productos. La conservación se logra generalmente por una combinación de la fermentación, con el uso de las técnicas de actividad de agua reducido, como la deshidratación y la adición de sal. (Campbell-Platt y Cook, 1995).

Sin embargo, los pequeños transformadores continúan usando el método tradicional de fermentación espontánea, sin añadir cultivo iniciador. En este último caso, los microorganismos necesarios originan en la propia carne o del medio ambiente y constituyen una parte de la llamada «flora casa» (Santos *et al.*, 2001). La generación de sabor, la actividad metabólica de las bacterias Gram-positivas, catalasa-positivos cocos (GCC) en el chorizo, por ejemplo, se ha demostrado que varían con el lugar de elaboración. El patrón de la proteólisis en embutidos fermentados se ve influenciada por variables tales como la formulación del producto, el procesamiento y la condición de cultivo iniciador (Hughes *et al.*, 2002).

Las bacterias ácido lácticas con funcionalidad industrial importante se están desarrollando para producir sustancias antimicrobianas, polímeros de azúcar, edulcorantes, compuestos aromáticos y vitaminas, o las propiedades con probióticos (Leroy y Vuyst De, 2004). Por estas razones, en los últimos años, se ha prestado atención a catabolismo de aminoácidos en los alimentos fermentados por los microorganismos, las bacterias del ácido láctico en especial (LAB), sino también por otros grupos, como los estafilococos y hongos en los embutidos secos (Bruna, Fernández, Hierro, Ordóñez y De la Hoz, 2000). Se ha sugerido que los cultivos iniciadores comerciales, producidos principalmente en los países del norte de Europa, no siempre son capaces de competir con la flora casa y la que colonizan el sur de Europa de las plantas de carne, por lo que su uso a menudo resulta en la pérdida de las características sensoriales deseables (Samelis, Metaxopoulos, Vlassi y Pappa, 1998). La aptitud de los cultivos iniciadores comerciales de carne cuando se aplica a un tipo particular de salami es cuestionable, ya una cultura que funciona bien en un tipo de embutidos fermentados no es necesariamente eficiente en otro tipo (Garriga *et al.*, 1996). Por lo tanto, el mercado de alimentos con propiedades promotoras de la salud, los llamadas alimentos funcionales, ha mostrado un crecimiento notable en los últimos años. El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de los cambios de contenido proteolíticas y aminoácidos producidos con y sin cultivos iniciadores comerciales en la elaboración de embutidos fermentados.

MATERIALES Y METODOS

2.1. Preparación de salchichas fermentadas

Cuatro lotes separados de salchichas fermentadas será preparada incluido control (con y sin cultivo iniciador), y la salchicha fermentada será procesada: los ingredientes usados serán carne de cerdo, sal (2.0% w/w), glucosa (1.0% w/w) y

nitrito de sodio (0.01% w/w). La salchicha mezclada será inoculada con 0.1% (v/w) de *Lactobacillus sakei* D-1001 (MMF-161, San-ei Sucrochemical Co. Ltd., Japón); 0.025% (w/w) de *Staphylococcus carnosus* (SB-61 Bactoferm™, Chr. Hansen Inc., Dinamarca); 0.025% (w/w) of *L. sakei* and *S. carnosus*. (F-SC-111 Bactoferm™, Chr. Hansen Inc., Dinamarca). Las mezclas serán embutidas en una funda fibrosa (40 mm en diámetro), con un aproximado de 190 g cada/uno. La condición de procesamiento será a 27°C and 80% humedad relativa (RH) por 2 días; 20°C y 80% humedad relativa (RH) por 3 días; 15°C and 75% humedad relativa (RH) por 4 días, 15°C and 65% humedad relativa (RH) por 12 días, y finalmente 39 días, 4°C. Las muestras serán tomadas en los días 0, 1, 3, 6, 9, 21 y 60 días de procesamiento para análisis físico químico y microbiológico.

2.2. Analisis Fisico-quimicos

El pH se determinó en pasta a partir de 10 g de las muestras en 90 ml de agua destilada homogeneizada en un Stomacher (Exnizer 400, Organo Co., Japón) con un medidor de pH modelo HM-5S (TOA Electronics Ltd., Tokio, Japón).

2.3. Preparación de proteínas sarcoplasmicas y miofibrilares

Extractos de proteínas sarcoplásmico se prepararon de acuerdo con el método de Toldrá, Rico, y Flores (1993). Cuatro gramos de muestras de salchichas fueron homogeneizadas (Phycotron NS 51, Microtec Co., Ltd.) con 40 ml de 0,03 M tampón fosfato de potasio (pH 7,4) durante 2 min a 13500 rpm. El homogenado fue centrifugado durante 20 minutos a 10000g a 4°C. El sobrenadante conteniendo las proteínas sarcoplásmico. Proteínas miofibrilares se extrajeron de los sedimento resultante se homogeneizó (Phycotron NS 51, Microtec Co., Ltd.) con una solución de urea 8 M y 1% (w/v) β -mercaptoetanol durante 2 min. El

homogeneizado fue centrifugado en las mismas condiciones y el sobrenadante contiene las proteínas miofibrilares.

2.4. Sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE)

Las concentraciones de proteína de las fracciones sarcoplásmico y miofibrilar se determinó por el procedimiento de Bradford (1976). La concentración de proteína se ajustó con agua desionizada para obtener una concentración final de 6 mg/ml. Las muestras fueron diluidas 1:1 con tampón de muestra SDS-PAGE para dar una concentración final de 3 mg/ml y se calienta a 100°C durante 5 minutos antes de la electroforesis. SDS-PAGE se realizó utilizando una unidad de electroforesis en gel vertical (Mini-Protean-3 Cell. Bio-Rad, de laboratorio. Inc). De acuerdo con el método de Laemmli (1970). Un 12,5% de gel separador con el 6% de gel de apilamiento se utilizó para las proteínas sarcoplásmico y miofibrilar. Diez microlitros de la muestra se inyecta en cada posillo incluido los estándares. Electroforesis se realizó en 120 -150 V. Después de la electroforesis fue completa, los geles se tiñeron con Comassie Brilliant Blue R-250 (0,1%) en el fijador (metanol al 30% y 10% de ácido acético). Los geles fueron desteñidos usando metanol al 5% y el 7,5% de ácido acético. Los pesos moleculares de las proteínas se calculan mediante la ejecución de las proteínas estándar de peso conocido en el gel. Estándares de peso molecular comerciales (MP-0120) se obtuvieron de Sigma Genosys y estos incluyen la lisozima (16,8 kDa), inhibidor de tripsina de soja A (25,7 kDa), anhidrasa carbónica II (32,7 kDa), ovoalbúmina (47,8 kDa), albúmina sérica bovina (84,2 kDa), y fosforilasa B (110 kDa). Cuantificación de las bandas se llevó a cabo por primera vez por el escaneo y luego tomando una lectura densitométrica con el programa ImageQuant TL (Amersham Bioscience Inc., Piscataway, NJ). Las masas moleculares de las bandas de proteína se calculan a partir de los valores R_f por interpolación en la curva de

calibración construida con marcadores conocidos.

2.5. Analisis de amino acidos

Las muestras para el análisis de aminoácidos libres se prepararon de acuerdo a los procedimientos descritos por (Mikami, Nagao, Sekikawa, Miura, y Hongo, 1994). 10 gramos de muestra fueron homogeneizadas (Physcotron NS 51, Microtec Co., Ltd.) durante 1 minuto con 90 ml de agua destilada. El homogenado se centrifuga durante 20 minutos a 10000g a 0°C. El sobrenadante se filtró a través de Toyo filtro No. 5C, (Toyo Roshi Kaisha Ltd., Japón) y las muestras fueron diluidas 1:1 con 4% de ácido tricloroacético (TCA) para dar una concentración final de 2%. Posteriormente fueron incubadas a 37°C durante 30 min. El sobrenadante se filtró de nuevo con filtro de Toyo No. 5C. A partir de entonces, la solución fue ultrafiltrado a través de un filtro Millipore con un diámetro de poro de 0,45 micras (Tosoh W-13-5). Veinte microlitros de cada muestra se analizaron mediante un sistema totalmente automatizado de aminoácidos analizador Hitachi L-8800A (Hitachi Ltd., Japón).

2.6. Analisis Sensorial.

La evaluación sensorial de las salchichas fermentadas se realizan al final del procesamiento 60 días a través de la degustación con panelistas semi entrenados (50 panelistas), para ello se utilizará cartilla de evaluación sensorial, en los cuales se consideran los atributos sensoriales: apariencia general, color, sabor, olor, acidez y aceptabilidad; con una escala de 1 a 9.

2.7. Analisis estadístico

Pruebas de Tukey se utilizó para determinar diferencias significativas entre los tratamientos (muestras con y sin cultivos iniciadores). Tres réplicas se han realizado y los valores medios

calculados fueron. Los valores se consideraron significativamente diferentes cuando $p < 0,05$. Los datos fueron analizados por el grado de variación y una diferencia significativa se determinó mediante análisis de varianza (ANOVA). Todos los análisis estadísticos se realizaron con SPSS el programa estadístico (versión 16 para Windows, SPSS Inc, Chicago, EE.UU., 2007).

RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1. pH de los salchichas fermentadas

Los valores de pH de las muestras se presentan en la (Fig. 1). El pH inicial fue de aproximadamente 6,0 en el día 0 y el pH en el día 21 variadas desde 4,59 hasta 5,94. Hubo una diferencia significativa en el pH entre el control y diferentes tratamientos de cultivos iniciadores, se produjo una ligera disminución en el pH de la muestra con cultivos iniciadores *L. sakei* D-1001 y *L. sakei* - *S. carnosus*, el pH de estas muestras variaron desde 6,0 hasta 5,06, mientras que la disminución del pH fue más pronunciado en el día 3 (pH 4,54 y 4,56) y se mantuvo constante en el día 21 (pH 4,60). En las muestras con cultivo iniciador *L. sakei* D-1001 de la disminución del pH después de 3 días a un pH de 5,4 y se mantuvo constante hasta el día 21 en 5,3. Las diferencias en la acidificación en cultivos iniciadores podría deberse a la presencia de lactobacilos con bajo poder de acidificación, o debido a la consiguiente pérdida de la acidificación y actividades deaminasa según lo informado por Dellaglio, Casiraghi y Pompeya (1996). El rápido crecimiento de LAB en la etapa inicial de la fermentación era beneficioso en la disminución del pH de las salchichas fermentadas, que se encarga de reducir o eliminar las bacterias indeseables, tales como enterobacterias. (Castaño *et al.*, 2002, Garriga *et al.*, 1996 y Hughes *et al.*, 2002).

EFFECTO DE CULTIVOS INICIADORES EN LA PROTEOLISIS Y SU CARACTERISTICA SENSORIAL EN SALCHICHAS FERMENTADAS

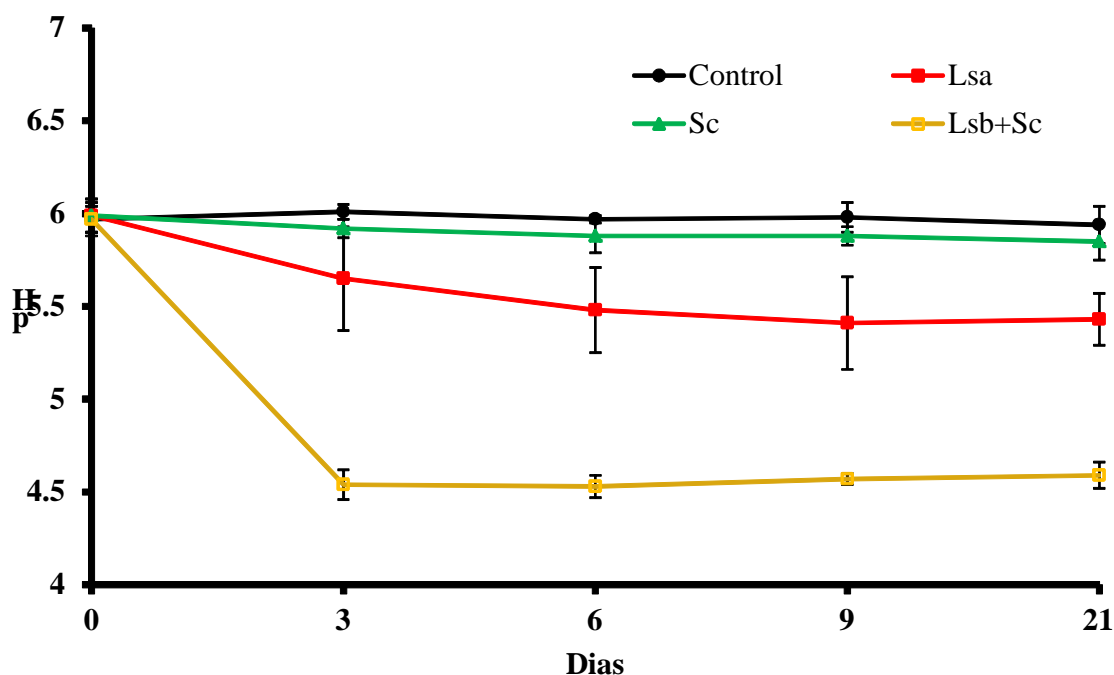


Fig. 1. Valor de pH en control y muestras con cultivos iniciadores: (●) Control (sin cultivo iniciador); (■) *Ls*: (*L. sakei* D-1001); (▲) *Sc*: (*S. carnosus*); (◻) *Ls*_b+*Sc*: (*L. sakei* - *S. carnosus*). El promedio fue calculado de 3 diferentes repeticiones de salchichas fermentadas (n=3).

3.2. Proteólisis de las proteínas sarcoplásmico

Los patrones electroforéticos de las proteínas sarcoplásmico se muestran en la (Fig. 2). El mayor cambio en el patrón de proteínas sarcoplásmico se produjo entre los días de procesamiento de 0 (antes del relleno) y 3 (durante la fermentación), mientras que sólo las pequeñas diferencias se observaron durante la fermentación y el secado en el control y las únicas salchichas de arranque de los inoculados. Las bandas de proteínas en el 36, 30 y 25,7 kDa desaparecieron durante los primeros 3 días de salchicha con una mezcla de cultivos iniciadores.

La intensidad de la banda de muestras a las 0, 3 y 21 días en el control y solo el cambio de arranque mostrar la cultura durante la fermentación y el almacenamiento. Después de los 3 días de tratamiento, el 36, 30, 25,7 y 20 kDa bandas péptidos disminuido. A partir de entonces, estas bandas desaparecieron en las muestras con una

mezcla de cultivos iniciadores *L. sakei* - *S. carnosus* durante la fermentación y maduración de los embutidos.

Los resultados del presente estudio estuvo de acuerdo con la literatura disponible, mientras que las proteínas sarcoplásmico se vieron afectados por el músculo y las enzimas endógenas microbiológica, lo que indica que las proteasas endógenas y cultivo iniciador desempeñar un papel significativo en la proteólisis durante la maduración de los embutidos fermentados (Demeyer *et al.*, 1995, Díaz *et al.*, 1997; Hughes *et al.*, 2002). Por otro lado, las salchichas sin cultivo iniciador mostró una actividad más débil de las proteasas endógenas en comparación con las proteasas exógenas reportados por Santos *et al.* (2001) y Casaburi *et al.* (2007).

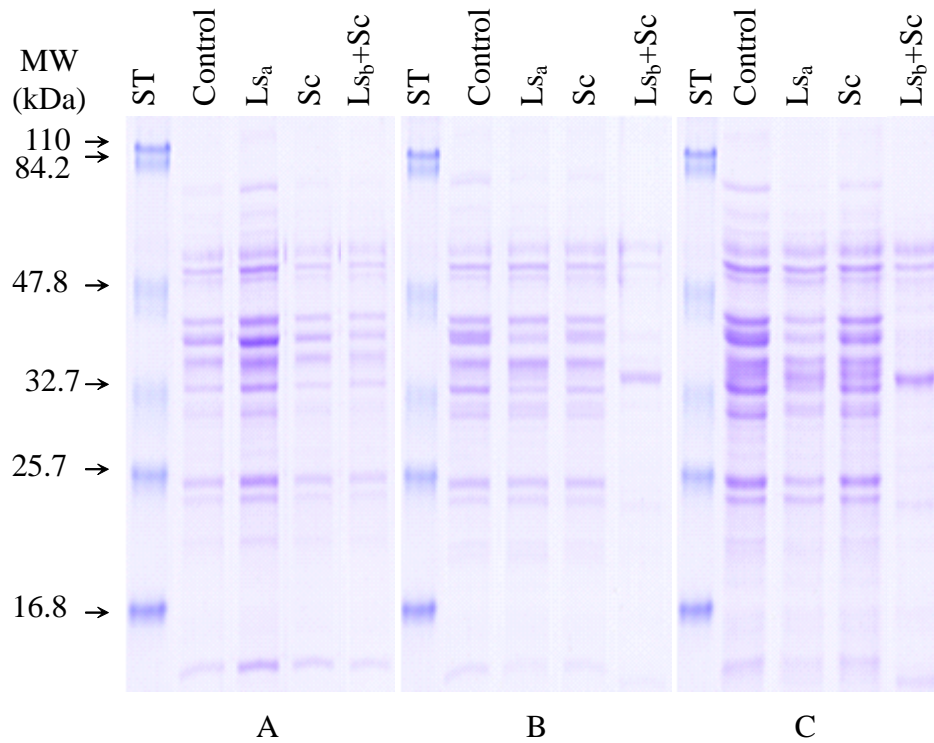


Fig. 2. Perfil de SDS-PAGE de proteínas sarcoplasmicas durante el procesamiento y almacenaje de salchichas fermentadas.

ST: (protein standard); control: (sin cultivo iniciador); L_{s_a} : (*L. sakei* D-1001); Sc: (*S. carnosus*) y $L_{s_b} + Sc$: (*L. sakei* - *S. carnosus*).

A = 0 día; B = 3 día y C = 21 día.

3.3. La proteólisis de las proteínas miofibrilares

Electroforetogramas SDS-PAGE de las proteínas miofibrilares muestran en la (Fig. 3). Las principales diferencias se observaron en el 80, 40, 34, 30, 18 y 16,8 kDa durante 0 y 3 días. Su intensidad disminuyó durante la fermentación. La banda de 80 kDa degradado completamente en la mezcla de cultivo iniciador *L. sakei* - *S. carnosus* muestras después del día 3, pero no se degrada por completo en el control y la única muestra de cultivo iniciador de los embutidos fermentados. El 45 kDa (actina) intensidad de la banda disminuyó entre los días 0 y 3 en el control y las salchichas de arranque de los inoculados. La degradación de la actina (45 kDa) durante la maduración de los embutidos fermentados se encontraba en conflicto con los resultados de

(Casaburi *et al.*, 2007, Díaz *et al.*, 1997), pero de acuerdo con los resultados reportados por García de Fernando y Fox (1991), Hughes *et al.* (2002). Tropomiosinas (T1 y T2, 38 y 30 kDa) (flechas) disminuyó durante la maduración, mientras que la tropomiosina T1 y otras bandas tales como 66 y 97 kDa acumulado durante el almacenamiento en el control de embutidos fermentados. Cadenas ligera de la miosina (MLC1 y MLC2, 24 y 20 kDa) también se degrada y desaparece durante la maduración de los embutidos. Según lo informado por Díaz *et al.*, (1997), durante la fermentación y maduración de los embutidos fermentados secos a un gran número de reacciones bioquímicas asociadas a la degradación de las proteínas miofibrilares y sarcoplásmico se llevó a cabo. El papel de las enzimas musculares en seco los productos cárnicos curados con

diferentes condiciones de secado y proteinasas microbianas, que están obligados o bien a la pared celular o la membrana celular, se ha informado.

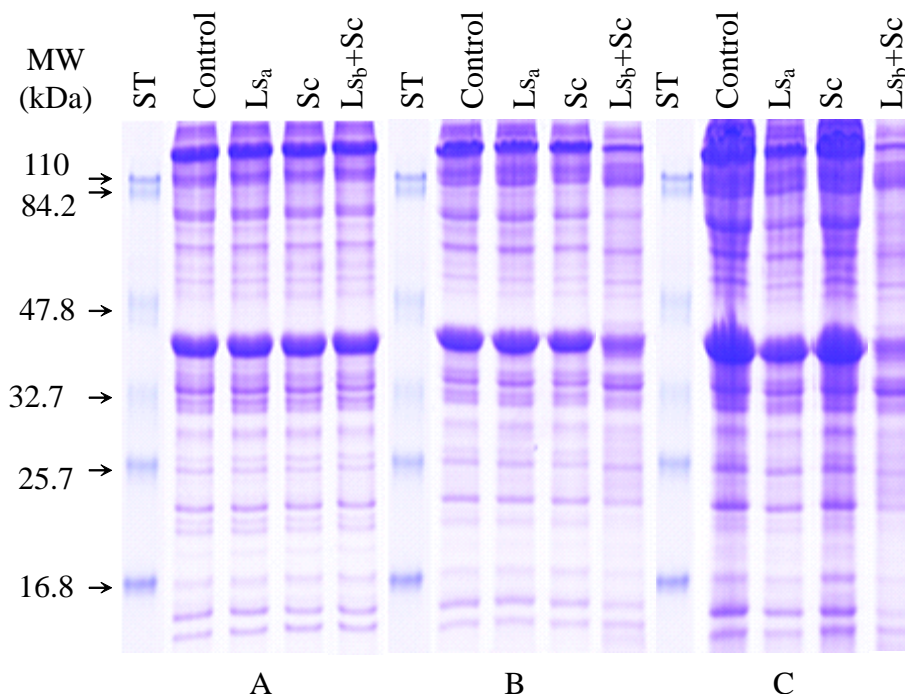


Fig. 3. Perfil de SDS-PAGE de proteínas miofibrilar durante el procesamiento y almacenaje de salchichas fermentadas.

ST: (protein standard); control: (sin cultivo iniciador); L_{s_a} : (*L. sakei* D-1001); Sc: (*S. carnosus*) y $L_{s_b} + Sc$: (*L. sakei* - *S. carnosus*).

A = 0 día; B = 3 día y C = 21 día.

3.4. Contenido de aminoácidos libres en los embutidos fermentados

Los cambios en el contenido de aminoácidos libres observado en embutidos fermentados durante la maduración se dan en la (Tabla 1). El total de los contenidos de aminoácidos libres de los embutidos constituido 118,9 a 160,6 mg/100 g de muestras (antes de rellenar) el día 0. Un aumento en el contenido de aminoácidos se observó y osciló entre 366,9 y 470,0 mg/100 g durante la fermentación en el día 3, y otros aumentar hasta el rango de 796,5 a 868,4 mg/100 g del total de aminoácidos libres se observó en la etapa de maduración de los embutidos fermentados (21 días). La más alta concentración total de aminoácidos libres de 868.4 mg/100 g

se observó con un solo cultivo iniciador *L. sakei*, mientras que la menor concentración total de aminoácidos libres de 796.5 mg/100 g se observó con una mezcla de cultivo iniciador *L. sakei* - *S. carnosus*. La hidrólisis de las proteínas de la carne genera polipéptidos que pueden ser más degradados de pequeños péptidos y aminoácidos libres. Esta degradación puede ser producida por enzimas endógenas y microbianas reportados por diferentes autores (De Masi *et al.*, 1990, Hughes *et al.*, 2002 y Molly *et al.*, 1997). El aumento de la concentración total de aminoácidos libres se detectó en todos los lotes según lo informado por (Hierro *et al.*, 1999, Bruna *et al.*, 2000, Bolumar *et al.*, 2001 y Hughes *et al.*, 2002). Las principales diferencias en el contenido del total

de aminoácidos libres de los lotes se han detectado en el día 3 y al final del proceso el día 21. Los aminoácidos en el que las diferencias, que fueron los principales responsables del aumento del total de aminoácidos libres durante la

maduración, se observaron fueron Glu (ácido glutámico), Ala (alanina) y Lys (lisina) en las muestras con cultivos iniciadores *L. sakei* D-1001, *S. carnosus* y *L. sakei* - *S. carnosus* y el control (sin cultivo iniciador).

Tabla 1. Contenido de amino ácidos de muestras de salchichas fermentadas con y sin cultivos iniciadores.

	0 día				3 día				21 día			
	Control	Ls _a	Sc	Ls _b +Sc	Control	Ls _a	Sc	Ls _b +Sc	Control	Ls _a	Sc	Ls _b +Sc
Asp	5.1 ^a	3.4 ^a	3.1 ^a	3.1 ^a	6.5 ^a	9.4 ^a	5.6 ^a	5.4 ^a	5.1 ^c	16.0 ^{ab}	19.4 ^{ab}	24.6 ^a
Thr	7.6 ^a	5.9 ^a	5.1 ^a	5.3 ^a	24.2 ^a	24.0 ^a	23.1 ^a	10.4 ^b	49.0 ^a	46.1 ^a	49.6 ^a	33.5 ^b
Ser	7.8 ^a	6.1 ^a	5.7 ^a	4.9 ^a	29.8 ^a	29.1 ^a	25.8 ^b	17.9 ^c	52.3 ^a	51.5 ^{ab}	50.0 ^{ab}	43.1 ^b
Glu	23.8 ^a	26.6 ^a	20.0 ^a	18.8 ^a	60.3 ^c	76.0 ^b	57.0 ^c	96.5 ^a	117.5 ^c	146.3 ^b	127.1 ^c	170.1 ^a
Gly	14.7 ^a	17.9 ^a	13.8 ^a	12.4 ^a	33.0 ^a	36.7 ^a	31.9 ^{ab}	27.1 ^b	59.1 ^{ab}	65.2 ^a	61.4 ^a	53.7 ^{ab}
Ala	32.4 ^a	28.9 ^a	28.3 ^a	27.8 ^a	75.6 ^{ab}	72.8 ^{ab}	71.8 ^{ab}	59.3 ^c	135.1 ^a	126.5 ^a	124.2 ^a	110.2 ^a
Cys	1.0 ^a	1.1 ^a	0.7 ^a	0.9 ^a	1.0 ^a	1.3 ^a	0.8 ^a	1.0 ^a	1.5 ^a	1.2 ^a	0.9 ^a	1.9 ^a
Val	7.3 ^a	8.3 ^a	5.7 ^a	5.5 ^a	26.2 ^{ab}	26.5 ^{ab}	24.4 ^{bc}	20.3 ^d	47.5 ^{ab}	50.6 ^a	47.8 ^{ab}	47.8 ^{ab}
Met	3.1 ^a	3.4 ^a	2.1 ^a	2.6 ^a	12.4 ^{ab}	12.2 ^{abc}	11.5 ^{bc}	10.8 ^c	21.1 ^a	22.1 ^a	21.2 ^a	24.3 ^a
Ile	4.1 ^a	4.7 ^a	2.6 ^a	2.6 ^a	17.4 ^a	17.2 ^a	14.2 ^b	12.2 ^b	29.2 ^a	34.3 ^a	32.5 ^a	30.9 ^a
Leu	8.8 ^a	9.8 ^a	5.6 ^a	5.2 ^a	33.3 ^a	33.4 ^a	31.5 ^{ab}	27.9 ^b	62.4 ^a	65.1 ^a	57.1 ^a	64.5 ^a
Tyr	6.7 ^a	6.1 ^a	4.3 ^a	4.6 ^a	16.7 ^{ab}	16.7 ^{ab}	17.3 ^{ab}	12.0 ^b	22.8 ^a	33.4 ^a	30.4 ^a	24.5 ^a
Phe	5.9 ^a	6.5 ^a	4.3 ^a	3.9 ^a	17.7 ^b	18.1 ^b	17.1 ^b	20.4 ^{ab}	33.1 ^b	34.6 ^{ab}	32.5 ^b	42.7 ^a
Lys	10.1 ^a	11.5 ^a	7.1 ^a	6.5 ^a	42.1 ^a	36.5 ^b	39.0 ^{ab}	20.5 ^c	83.4 ^a	78.2 ^{ab}	85.7 ^a	69.9 ^{ab}
His	6.6 ^a	7.2 ^a	4.8 ^a	4.7 ^a	17.0 ^a	15.4 ^{ab}	14.6 ^{bc}	13.3 ^c	26.8 ^a	29.4 ^a	26.6 ^a	27.8 ^a
Arg	10.3 ^a	8.9 ^a	6.1 ^a	5.4 ^a	27.6 ^a	21.4 ^b	14.2 ^c	1.4 ^d	45.7 ^a	27.3 ^b	8.1 ^c	7.8 ^c
Pro	5.2 ^a	5.4 ^a	5.1 ^a	4.8 ^a	24.6 ^a	23.2 ^a	22.8 ^a	10.6 ^b	47.5 ^a	40.5 ^b	45.5 ^{ab}	19.3 ^c
Total	160.6 ^a	161.7 ^a	124.4 ^a	118.9 ^a	465.2 ^a	470.0 ^a	422.5 ^b	366.9 ^c	839.1 ^a	868.4 ^a	820.1 ^{ab}	796.5 ^{ab}

Resultados son expresados como promedio de 3 repeticiones, en mg/100 g de salchichas fermentadas. a~e, con diferentes letras en el mismo estado de maduración son diferentes significativos (p < 0.05) entre muestras.

Control (sin cultivo iniciador), Ls_a: (*L. sakei* D-1001), Sc: (*S. carnosus*), y Ls_b + Sc: (*L. sakei* - *S. carnosus*).

3.5. Análisis Sensorial en los embutidos fermentados

En la Tabla 2 se muestra los perfiles de análisis sensorial en la salchicha fermentada con o sin adición de cultivos iniciadores. La muestra que contiene *L. sakei* - *S. carnosus*, tuvieron valores significativos elevados en todos los atributos

analizados. En el procesamiento de la salchicha fermentada fue afectada significativamente en todo los atributos, sin embargo el sabor típico fue significativamente más favorable en la salchicha fermentada, pero las muestras con *L. sakei* son considerados como tener un buen sabor, textura y el aspecto general.

EFFECTO DE CULTIVOS INICIADORES EN LA PROTEOLISIS Y SU CARACTERISTICA SENSORIAL EN SALCHICHAS FERMENTADAS

Tabla 2. Perfiles sensoriales de salchichas fermentadas sin y con cultivos iniciadores.

Factores	Muestras			
	Control	<i>L. sakei</i>	<i>S. carnosus</i>	<i>L. Sakei + S. carnosus</i>
Color	6.40 ± 1.06a	6.87 ± 1.06a	6.93 ± 0.80a	6.80 ± 0.68a
Sabor	6.47 ± 0.74bc	7.60 ± 0.99a	7.07 ± 0.80ab	7.07 ± 0.70ab
Acidez	5.20 ± 1.37a	6.20 ± 1.15a	6.20 ± 1.21a	6.13 ± 1.06a
Textura	5.80 ± 0.77a	6.33 ± 1.23a	6.27 ± 1.28a	6.33 ± 1.05a
Apariencia total	6.00 ± 0.93a	6.33 ± 1.05a	6.20 ± 1.08a	6.20 ± 0.94a

a~c, con diferentes letras en el mismo estado de maduración son diferentes significativos ($p < 0.05$) entre muestras. Control (sin cultivo iniciador); muestras con cultivos iniciadores (*L. sakei*, *S. carnosus* y *L. sakei + S. carnosus*).

CONCLUSIONES

En este estudio se examinaron los efectos de cinco tipos de cultivos iniciadores comerciales en los perfiles proteolíticos de los embutidos fermentados. Hay tres tipos de cultivos iniciadores *L. sakei*, *S. carnosus* y *L. sakei - S. carnosus* fueron los responsables de la degradación de las proteínas miofibrilares sarcoplásmico y durante la fermentación y etapas de secado de embutidos. Esto fue confirmado por la degradación de menor intensidad de la banda de proteína en perfiles SDS-PAGE. El análisis cuantitativo mostró que otro cultivo iniciador *L. sakei* solo produce el contenido de ácido amino significativamente mayor que todos los cultivos iniciadores otros, las grandes diferencias en el contenido de aminoácidos libres en el final del proceso podría atribuirse a la actividad de cultivo iniciador. Estas diferencias pueden afectar a las características organolépticas.

BIBLIOGRAFIA

- different temperatures. *Food Science and Technology International* 7, 269–276.
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical Biochemistry* 72, 248–254.
- Bruna, J. M., Fernández, M., Hierro, E. M., Ordóñez, J. A. and De la Hoz, L. (2000). Combined use of Pronase E and a fungal extract (*Penicillium aurantiogriseum*) to potentiate the sensory characteristics of dry fermented sausages. *Meat Science* 54, 135–145.
- Casaburi, A., Aristoy, M. C., Cavella, S., Di Monaco, R., Ercolini D., & Toldra, F. (2007). Biochemical and sensory characteristics of traditional fermented sausages of Vallo di Diano (Southern Italy) as affected by the use of starter cultures, *Meat Science* 76, 295 – 307.
- Campbell-Platt, G. (1995). Fermented meats – a world perspective. In: G. Cambell-Platt and P. E. Cook (ed) *Fermented Meats*. Blackie Academic & Professional, UK. p39-51.
- Bolumar, T., Nieto, P. & Flores, J. (2001). Acidity, proteolysis and lipolysis changes in rapid cured fermented sausage dried at

- Castano, A., Fontan, M. C. G., Fresno, J. M., Tornadizo, M. E., & Carballo, J. (2002). Survival of *Enterobacteriaceae* during processing of chorizo de cebolla, a Spanish fermented sausage. *Food Control* 13, 107-115.
- Dellaglio, S., Casiraghi, E., and Pompei, C. (1996). Chemical, physical and sensory attributes for the characterization of an Italian dry-cured sausage. *Meat Sci.* 42, 25-35.
- De Masi, T. W., Wardlaw, F. B., Dick R. L. & Acton, J. C. (1990). Non protein nitrogen (NPN) and free amino acid contents of **dry fermented** and non **fermented sausages**, *Meat Science* 27, pp. 1–12.
- Demeyer, D., Blom, H., Hinrichsen, L., Johansson, G., Molly, K., Montel, M. C., Perez-Martinez, G., Sandtorv, B. F., Talon, R., Verplaetse, A., & Van Cleemput, I., (1995). Interaction of lactic acid bacteria with muscle enzymes for safety and quality of fermented meat products. In: Proceedings of Lactic Acid Bacteria Conference, Cork, Ireland, pp. 1–18.
- Diaz, O., Fernández, M., García de Fernando, G. D., De la Hoz, L. & Ordóñez, J.A. (1997). Proteolysis in dry fermented sausages: The effect of selected exogenous proteases. *Meat Science* 46, 115–128.
- Garriga, M., Hugas, M., Gou, P., Aymerich, M. T., Arnau, J., & Monfort, J. M. (1996). Technological and sensorial evaluation of *lactobacillus* strains as starter cultures in fermented sausages. *Int. J. Food Microbiol.*, 32, 173-183.
- Hierro, E., De la Hoz, L. & Ordóñez, J. A. (1999). Contribution of the microbial and meat endogenous enzymes to the free amino acid and amine contents of dry fermented sausages. *Journal of Agriculture and Food Chemistry* 47, 1156–1161.
- Hughes, M. C., Kerry, J. P., Arendt, E. K., Kenneally, P. M., McSweeney, P. L. H. & O'Neill, E. E. (2002). Characterization of proteolysis during the ripening of semi-dry fermented sausages. *Meat Science* 62, 205–216.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4, *Nature* 227, 680–685.
- Leroy, F., & De Vuyst, L. (2004). Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food industry. *Trends in Food Science & Technology* 15, 67-78.
- Mikami, M., Nagao, M., Sekikawa, M., Miura, H. & Hongo, Y. (1994). Effects of electrical stimulation in the peptide and free amino acid contents of beef homogenate and sarcoplasm during storage. *Japan Anim. Technol.* 65, 1034-1043.
- Molly, K., Demeyer, D., Johansson, G., Raemaekers, M., Ghistelinck, M. & Geenen, I. (1997) The importance of meat enzymes in ripening and flavour generation in **dry fermented sausages**. First results of a European project, *Food Chemistry* 59, pp. 539–545
- Santos, N. N., Sandos-Mendoça, R. C., Sanz, Y., Bolumar, T., Aristoy M. C. & Toldrá, F. (2001) Hydrolysis of pork muscle sarcoplasmic proteins by *Debaryomyces hansenii*, *International Journal of Food Microbiology* 68, pp. 199 -206
- Samelis, J., Metaxopoulos, J., Vlassi, M. & Pappa, A. (1998). Stability and safety of traditional Greek salami a microbiological ecology study. *Intern. Journal of Food Microb.* 44, 69-82.
- Toldrá, F., Rico E. & Flores, J. (1993). Cathepsin B, D, H and L activities in the processing of dry-cured ham, *Journal of the Science of Food and Agriculture* 62, 157–161.