

6. UN NUEVO EMBUTIDO PROBIÓTICO DE CERDO IBÉRICO

*Santiago Ruíz-Moyano Seco de Herrera
Alberto Martín González
Alejandro Hernández León
Rocío Casquete Palencia*

1. INTRODUCCIÓN

Un alimento funcional se define como aquel que “está suficientemente demostrado que actúa beneficiosamente sobre una o más funciones del organismo, más allá de su efecto nutricional, mejorando la salud y el bienestar y/o reduciendo el riesgo de enfermedad” (Diplock *et al.*, 1999). Puede ser un alimento natural; un alimento al que se ha añadido, eliminado o modificado un componente por medios biotecnológicos; un alimento en el que se ha modificado la biodisponibilidad de uno o más de sus componentes; o una combinación de cualquiera de estas posibilidades. Así, un alimento es considerado funcional porque, además de destacar por sus propiedades nutritivas, contiene ciertos elementos, cuyo consumo diario dentro de una dieta equilibrada contribuye a mantener o mejorar nuestro estado de salud y bienestar.

El papel benefactor para la salud que puede desempeñar el consumo de estos alimentos se basa en estudios científicos que, a lo largo del siglo XX y principios del XXI, han confirmado la relación directa existente entre los alimentos que se consumen y el estado sanitario de la población, la prevención y el tratamiento de ciertas enfermedades. Hasta el momento actual, las funciones y objetivos a los que se ha dirigido la investigación con este tipo de productos son el efecto sobre crecimiento y desarrollo, metabolismo o utilización de los nutrientes, defensa contra el estrés oxidativo, sistema cardiovascular, función o fisiología del tracto gastrointestinal y funciones psicológicas y conductuales.

Entre los alimentos descritos como funcionales destacan aquellos alimentos naturales que contienen ciertos minerales, vitaminas, ácidos grasos, fitoesteroles, fibra o sustancias antioxidantes; los alimentos modificados y enriquecidos en este tipo de sustancias o los prebióticos y los probióticos que contienen bacterias vivas con efecto beneficioso

para el consumidor. El presente estudio contempla el desarrollo en los laboratorios de la Escuela de Ingenierías Agrarias de un embutido probiótico de cerdo ibérico

2. ALIMENTOS PROBIÓTICOS

El término probiótico deriva de dos vocablos del latín, pro- que significa “por” o “a favor de”, y del griego bios- que quiere decir “vida”. Por lo tanto su significado sería “a favor de la vida”. En la actualidad los probióticos se definen como “microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades apropiadas, confieren al huésped un beneficio para la salud” (FAO, 2001). En este sentido, el término probiótico se utiliza también para designar a los productos que contienen estos microorganismos vivos, siendo necesario que proporcionen una dosis apropiada de bacterias probióticas, para obtener los efectos deseados (entre 10^6 - 10^8 ufc/g de producto).

Son varios los géneros de microorganismos usados como probióticos en la industria agroalimentaria, la mayoría de ellos pertenecientes al grupo heterogéneo de las Bacterias Ácido Lácticas (BAL). Estos son los géneros *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* y *Enterococcus*, siendo el más utilizado el género *Lactobacillus*. El otro gran grupo de bacterias usadas como probióticos pertenece al género *Bifidobacterium*. Tanto las BAL como las bifidobacterias se encuentran en elevado número en el intestino de animales sanos y son consideradas generalmente como inocuas. Otros microorganismos usados también como probióticos son cepas del género *Bacillus*, *Propionibacterium*, *Streptococcus*, así como levaduras (*Saccharomyces boulardii*) y mohos filamentosos (*Aspergillus oryzae*).

En las últimas décadas se han obtenido numerosas evidencias científicas que demuestran que los probióticos aportan grandes beneficios a la salud. La principal característica de un probiótico es la de conferir un efecto beneficioso en la persona que lo consume. Según Sanders (2001) y Naidu *et al.* (1999), existe una amplia gama de efectos beneficiosos atribuidos a los probióticos, tales como:

- Tratamiento de la intolerancia a la lactosa.
- Influencia positiva sobre la microflora intestinal.
 - Disminuyendo la producción de metabolitos tóxicos.
 - Producción de sustancias antimicrobianas.
- Prevención y tratamiento de las infecciones del tracto gastrointestinal.
- Modulación y estimulación del sistema inmune.
 - Fortalecimiento de la defensa no específica frente a infecciones.
 - Aumento de la fagocitosis de los glóbulos blancos.
 - Aumento de los niveles de inmunoglobulinas en especial la Ig A.
 - Efecto adyuvante en la respuesta inmune antígeno-específica.
- Reducción de las reacciones inflamatorias y alergias.
- Propiedades anticancerígenas frente al cáncer de colon.
- Enfermedades del corazón y lípidos en sangre.
 - Asimilación de colesterol en el interior de las bacterias.
 - Alteración de la actividad de la hidrolasa de las sales biliares.
 - Efecto antioxidante.

- Efectos antipertensivos.
- Infecciones del tracto urogenital.
 - Adhesión a las células del tracto urinario y vaginal.
 - Exclusión competitiva.
 - Inhibición de patógenos debido a la producción de H₂O₂ y biosurfactants.
- Infecciones causadas por *Helicobacter pylori*.
 - Exclusión competitiva.
 - Inhibición de *Helicobacter pylori* mediante la producción de ácido láctico y otras sustancias.
- Regulación de la motilidad del intestino.

El mercado de los productos probióticos es claramente exitoso, como consecuencia del descubrimiento del efecto beneficioso de los probióticos en la salud humana. Diferentes productos probióticos han sido introducidos en diferentes segmentos del mercado, siendo los productos lácteos la llave de este sector. En el año 1999, estos productos tenían unas ventas por valor de 1,9 billones de US\$ y en 2004, abarcaban aproximadamente el 56% del mercado de los alimentos funcionales con unas ventas por valor de 31,1 billón US\$.

Existe una amplia gama de productos lácteos probióticos. La mayor parte de las leches fermentadas tipo yogur o leches fermentadas de textura bebible, contienen probióticos específicos desarrollados por la marca que los comercializa. Además, podemos encontrar helados o postres lácteos, leches sin fermentar con cultivos adicionados de microorganismos probióticos, o mantequilla. El queso es otro derivado lácteo utilizado como alimento probiótico, dado que puede ofrecer ciertas ventajas para mantener vivos a estos microorganismos, como un elevado contenido en grasa que puede proteger a las bacterias probióticas durante su paso a través del tracto gastrointestinal. Además, en el mercado podemos encontrar otros productos elaborados con microorganismos probióticos, como cereales, productos de soja, zumos e incluso bizcochos, chocolates, comprimidos etc. Por tanto, está creciendo la necesidad de buscar nuevos tipos de alimentos, diferentes a la amplia gama de productos lácteos, incrementando así la oferta de productos probióticos en el mercado.

Como consecuencia, existe una fuerte investigación en este campo. Los alimentos fermentados de origen cárnico podrían constituir excelentes alimentos probióticos, dado que en la obtención de este tipo de productos juegan un papel fundamental microorganismos como las bacterias ácido lácticas, micrococáceas y estafilococáceas. En este sentido, aunque actualmente son escasos los productos de este tipo en el mercado, los productos cárnicos podrían ser adecuados para llevar microorganismos probióticos.

3. PRODUCTOS CÁRNICOS PROBIÓTICOS

Nuestro país es un gran productor de productos cárnicos crudos curados, recibiendo especial importancia los embutidos. Así, existe una extensa gama de embutidos crudos curados en España con características diferentes, según la región. Se trata de alimentos muy apreciados por el consumidor. En la Comunidad Autónoma de Extremadura los embutidos de cerdo ibérico revierten sobre la economía extremeña, constituyendo un mercado vo-

lumen de ingresos en la región. En estos embutidos se ha observado que durante los 3-4 meses de procesado, las bacterias lácticas alcanzan niveles superiores a 10^9 ufc/g (Martin *et al.*, 2007; Benito *et al.*, 2007). Además, hay razones para pensar que la matriz del embutido protege los probióticos en su tránsito a través del tracto gastrointestinal mejorando su supervivencia. Sin embargo, la supervivencia de cepas potencialmente probióticas en los productos cárnicos va a estar condicionada por cambios en las características físico-químicas que ocurren durante el procesado de estos productos. En general, se considera que la capacidad de supervivencia de las bacterias en productos cárnicos fermentados depende de la cepa. Por lo tanto, es indispensable la selección de un microorganismo probiótico adaptado a las condiciones del procesado de los productos cárnicos fermentados, para que pueda ser utilizado en la elaboración de embutidos probióticos.

Como consecuencia, son pocos los productos cárnicos fabricados con probióticos. En 1998, un industrial alemán lanzó al mercado un salami conteniendo tres bacterias ácido lácticas de origen intestinal (*Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium sp.*). En este mismo año, en Japón se llevó al mercado un paté fermentado con la bacteria ácido láctica probiótica *Lactobacillus rhamnosus* FERM P-15120. A partir de este momento han sido varias las investigaciones relacionadas con la elaboración de productos cárnicos fermentados con bacterias probióticas. Así, existe un gran interés en el estudio de la adaptación de bacterias que posean propiedades probióticas reconocidas a este tipo de productos, viendo su capacidad de sobrevivir al proceso de maduración de estos productos, así como a las condiciones de almacenamiento. Por el contrario, poco se conoce sobre las propiedades probióticas de bacterias comúnmente asociadas a los embutidos crudos curados y, por tanto, adaptadas adecuadamente a este tipo de productos. En este sentido, cepas probióticas pueden encontrarse entre las especies de BAL desarrolladas en los productos cárnicos, pero las características probióticas de un microorganismo son siempre específicas de la cepa y, por tanto, los efectos en la salud necesitarían ser estudiados *in vivo*.

Los estudios sobre el uso de microorganismo probióticos en productos cárnicos son limitados, especialmente en productos elaborados con carne de cerdo ibérico. La posibilidad de desarrollar nuevos productos cárnicos con potencial efecto beneficioso sobre la salud podría abrir un nuevo mercado en la industria cárnica extremeña y, en particular, a la dedicada a la producción de embutidos de calidad de cerdo Ibérico.

4. SELECCIÓN DE MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS

Para llevar a cabo este estudio se aislaron bacterias ácido lácticas BAL y bifidobacterias de heces humanas y de cerdo, así como de embutidos crudos curados de cerdo ibérico. En total se aislaron 1.000 cepas de BAL y bifidobacterias.

Los probióticos deben estar bien adaptados a las condiciones presentes durante el procesado de los embutidos crudos curados de cerdo ibérico y llegar a niveles de 10^6 - 10^8 ufc/g en el producto final, pudiendo así ingresar vivos en el ser humano y llegar al intestino para poder desarrollar sus efectos beneficiosos. Además, deben poder ser incorporados al producto sin producir un aroma y textura inadecuada. En este sentido, es necesario hacer una adecuada selección de los microorganismos aislados para que puedan ser usados como probióticos.

4.1. Aspectos tecnológicos

Los aspectos relativos a la producción y procesado del producto probiótico son de suma importancia, ya que la aplicabilidad de los probióticos en los alimentos va a depender de varios factores, como la actividad de agua (a_w) del producto, temperatura de procesado, almacenamiento, vida útil del producto, contenido en oxígeno, pH, contenido en sal y contenido de otros ingredientes que pueden afectar a la viabilidad de los microorganismos. Por lo tanto, algunos aspectos tecnológicos tienen que ser considerados en la selección de un microorganismo probiótico.

De los mil aislados seleccionados en nuestro estudio, un total de 312 se adaptaban adecuadamente a las condiciones de pH 4,5 y 3,5% de NaCl, y procedían principalmente de embutidos crudos curados (173). Es lógico pensar que los aislados procedentes de embutidos crudos curados, se adapten mejor a las condiciones ecológicas de los embutidos que los que proceden de un ambiente distinto. Además, 95 aislados de heces humanas y 44 de heces de cerdo, también se adaptaron a estas condiciones. Bacterias probióticas de origen intestinal ya han demostrado su adaptación a este tipo de producto, alcanzando niveles elevados en el producto final (Pidcock *et al.*, 2002).

4.2. Aspectos de seguridad

Es preferible que los microorganismos para uso humano sean de origen humano, es decir, que sean miembros habituales y deseables de la microflora intestinal de individuos sanos. Sin embargo, algunos probióticos usados normalmente en la industria alimentaria no son de origen humano. En este sentido, el microorganismo probiótico tiene que tener un historial de no patógeno, es decir tener el status GRAS (generalmente reconocido como seguro).

La aparición de microorganismos resistentes a antibióticos es un problema creciente y potencial amenaza para la salud pública. En las pasadas décadas el problema ha aumentado, apareciendo microorganismos resistentes a diferentes tipos de medicamentos que pueden causar enfermedades humanas. Por esta razón, esta característica es de vital importancia en la selección de un microorganismo. Adams y Marteau (1995) concluyeron que para la mayoría de las BAL, a excepción de los enterococos, el riesgo de infección es muy bajo. En el caso del género *Enterococcus*, algunos de sus miembros como *E. faecium*, *E. faecalis* y *E. durans* han sido descritos como probióticos. Su uso en este sentido es controvertido debido a su relación con infecciones, a la aparición de resistencia a antibióticos y presencia de factores de virulencia. En nuestro estudio un elevado porcentaje de las cepas preseleccionadas por sus aspectos tecnológicos, pertenecientes a los tres generos (*Lactobacillus*, *Pediococcus* y *Enterococcus*), mostraron sensibilidad a penicilina G, cloramfenicol, eritromicina y tetraciclina. Además, el 66,6% de los lactobacilos fueron sensibles a polimicina B y el 100% de los aislados de enterococos fueron sensibles a vancomicina.

4.3. Aspectos funcionales

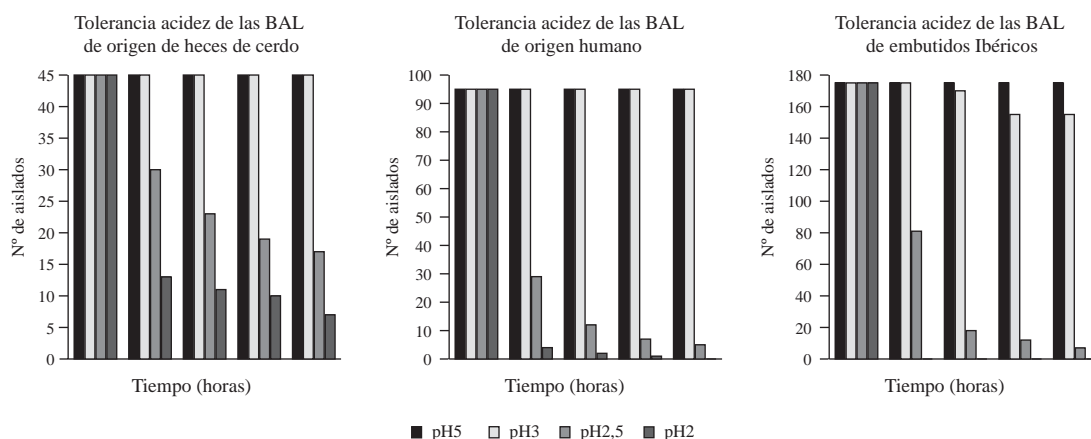
En cuanto a los requerimientos funcionales, éstos deben ser estudiados mediante métodos *in-vitro* y sus resultados reflejarse en estudios en humanos controlados. Dentro

de los aspectos funcionales, para la selección de microorganismos probióticos hay que considerar una serie de aspectos.

4.3.1. Tolerancia a las condiciones del estómago y del intestino delgado

Tras consumir el alimento, el primer obstáculo que se van a encontrar los microorganismos probióticos, durante un corto periodo de tiempo, son las enzimas de la cavidad bucal (amilasa y lisozima). La primera línea de defensa del organismo contra bacterias extrañas es el pH bajo de las secreciones gástrica (pH 1) y, por tanto, la supervivencia de las bacterias probióticas va a depender de su capacidad para tolerar bajos pH. El tiempo de permanencia en el estómago puede variar desde menos de una hora a 3-4 horas, dependiendo del individuo, la dieta u otras condiciones reinantes. El pH en el estómago es más bajo (1,5), cuando el bolo alimenticio es escaso, y más elevado cuando el bolo alimenticio es grande (5,5). La ingestión de alimentos con elevado contenido de grasa produce un inmediato aumento del pH. Algunas BAL aisladas de embutidos como *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus pentosus*, *Pediococcus acidilactici* y *Pediococcus pentosaceus*, pueden tolerar condiciones extremas de acidez. Así, los microorganismos propuestos para ser usados como probióticos deben ser evaluados en su tolerancia a pH 2,5 en un medio acidificado con HCl durante 4 horas (Pennacchia *et al.*, 2004). En los resultados obtenidos de nuestros aislamientos, se observó que la exposición a pH de 2 y 2,5 resultó ser muy selectiva. Sólo 51 de los 312 aislados preseleccionados para ser usados como probióticos resistían adecuadamente un valor de pH de 2,5 después de 1,5 horas de exposición. De ellos, el 52% de ellos habían sido aislados de heces de cerdo, el 13,68% de heces humanas y el 8,7% fueron obtenidas de embutidos crudos curados (gráfico 1).

GRÁFICO 1: Número de aislamientos de heces de cerdo, humanas y de embutidos crudos curados de cerdo ibérico que toleran las condiciones de acidez *in-vitro* del estómago, a los diferentes pHs ensayados



El siguiente obstáculo para las bacterias que sobreviven a las condiciones del estómago son las secreciones de bilis en el duodeno. Éstas tienen una función de detergente

emulsionando y solubilizando los lípidos, jugando un papel fundamental en la digestión de la grasa. Esta propiedad de las sales biliares les confiere una potente actividad antimicrobiana debido a la disolución de las membranas celulares compuestas por lípidos y ácidos grasos. Sin embargo, algunos microorganismos pueden reducir los efectos de emulsificación de sales biliares mediante enzimas hidrolasas de las sales biliares (BSHs), disminuyendo su actividad. Esta enzima ha sido descrita en habitantes comunes del tracto intestinal y aunque no es habitual esta actividad en bacterias que no son de origen intestinal, también ha sido identificada en otros microorganismos no considerados miembros de la microflora intestinal. En conclusión, los datos muestran que los microorganismos con BSHs detoxifican las sales biliares y dan lugar a un aumento de la supervivencia y persistencia en el intestino de los microorganismos que la poseen (Begley *et al.*, 2005).

Se ha demostrado que muchos microorganismos probióticos son menos sensibles a las sales biliares humanas que a las bovinas. La tolerancia a las sales biliares es valorada normalmente mediante sales biliares procedentes de cerdo o bovinas a una concentración de 0,3% de oxgall. Además de las sales biliares, los probióticos necesitan sobrevivir a los jugos pancreáticos, proteasas e hidrolasas en el intestino delgado. En el ileón las condiciones para la presencia y crecimiento de bacterias son más favorables, aumentando el número y la diversidad de bacterias presentes.

La mayoría de *Lactobacillus* ejercen sus efectos beneficiosos ya en el intestino delgado, mientras que las bifidobacterias se localizan principalmente en el colon.

Con respecto a la tolerancia a las sales biliares y enzimas pancreáticos, un elevado número de nuestras cepas ácido-tolerantes mostraron una adecuada tolerancia a las concentraciones de sales biliares y enzimas pancreáticas estudiadas, incluso después de la pre-exposición a pH 2,5 durante 1,5 h. Estos resultados coinciden con los obtenidos en otros trabajos, donde muy pocas de las cepas ácido-tolerantes aisladas de diferentes fuentes fueron excluidas como potenciales probióticos basándose en su tolerancia a las sales biliares y enzimas pancreáticos (Pennacchia *et al.*, 2004).

4.3.2. Adherencia a la mucosa intestinal y persistencia en el tracto intestinal

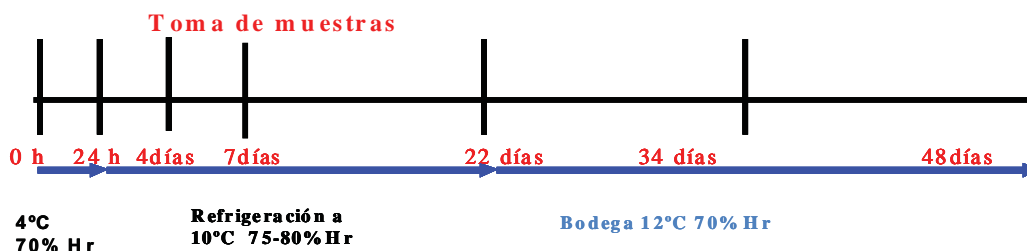
Una vez que las bacterias probióticas llegan al colon, éstas deben adherirse a la mucosa intestinal, al menos temporalmente, para ejercer sus efectos beneficiosos. Esta capacidad está estrechamente ligada a los efectos positivos de los probióticos. Así, una persistencia más prolongada en el tracto intestinal da lugar a una mayor posibilidad de mostrar sus efectos metabólicos hacia bacterias perjudiciales, además de interacciones beneficiosas con la superficie de la mucosa. Así, en la selección de microorganismos probióticos, la capacidad de adhesión y persistencia en el intestino humano es una característica fundamental a considerar (Salim Ammor y Mayo, 2007). En este sentido la habilidad de los microorganismos probióticos para colonizar el tracto intestinal ha sido estudiada *in-vitro* mediante células Caco-2. El empleo de esta línea celular para estudiar la capacidad de adhesión de cepas probióticas ha sido evaluado frente a ensayos *in vivo*, demostrando una alta correlación entre ensayos *in vitro* con células Caco-2 en ensayos *in vivo*.

En nuestro estudio se pudo observar que las 8 de las cepas preseleccionadas mostraron una muy alta capacidad de adhesión, con porcentajes de adhesión superiores al

Una vez mezclados todos los componentes en una amasadora, se dejaron en reposo durante 24 h a temperatura de 2-4 °C. Transcurrido este tiempo se procedió a embutir las muestras de los lotes en tripa sintética de colágeno de aproximadamente 6 cm de diámetro, obteniendo embutidos con pesos medios de 800 g. Posteriormente fueron colgados en un palé y llevados a la cámara de maduración, donde permanecieron hasta 48 días.

Se tomaron muestras por triplicado de la masa antes de embutir (24 h), a los 4, 7, 22, 34 y 48 días de maduración (gráfico 3). A todas las muestras se le realizaron análisis fisicoquímicos, microbiológicos, detección de las cepas inoculadas y finalmente se realizó análisis sensorial del producto final elaborado.

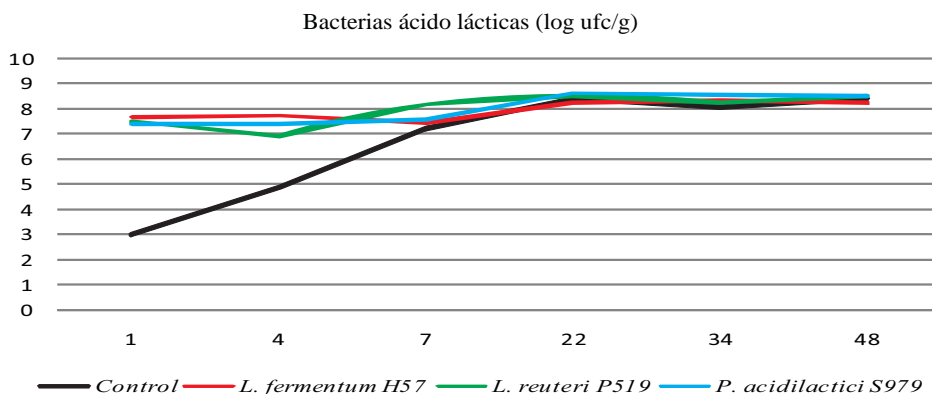
GRÁFICO 3: Esquema del proceso de elaboración de los salchichones



En relación a los resultados obtenidos, no se encontraron diferencias significativas en los análisis fisicoquímicos de pH, humedad, actividad de agua y mermas, entre los tres lotes inoculados y el lote control, a excepción del lote inoculado con la cepa de *L. reuteri* P519, donde la merma fue de 34,26%, inferior a los demás lotes realizados de aproximadamente el 41%.

Con respecto a los análisis microbiológicos realizados, se estudió la presencia de bacterias aerobias mesófilas, bacterias ácido lácticas y cocos gram-positivo catalasa-positivo (micrococáceas y staphylococáceas).

Los recuentos de bacterias aerobias mesófilas aumentaron progresivamente durante el procesado desde valores de 6-7 log ufc/g en todas las muestras, alcanzando a los 48 días de maduración valores próximos a 8,5 log ufc/g. En relación a los recuentos de BAL se observó que el primer día los lotes inoculados con las cepas en estudio mostraron valores entre 7,2-7,6 log ufc/g, muy superiores al control, que fueron de 3 log ufc/g. En este lote, los recuentos fueron aumentando progresivamente alcanzando niveles de 7,1 log ufc/g a los 7 días, valores muy similares a los de los lotes inoculados con las cepas probióticas. En el resto de los días estudiados, los recuentos fueron aumentando ligeramente, tanto en los lotes inoculados como en el control, hasta alcanzar niveles entre 8-8,5 log ufc/g a los 22 días, manteniéndose a estos niveles hasta el final del procesado (gráfico 4). La evolución de BAL fue muy similar a la encontrada en otros embutidos probióticos inoculados con BAL seleccionadas como probióticas (Klingberg *et al.*, 2005), en los que el número de lactobacilos se incrementó desde valores de 10^7 ufc/g a tiempo cero a valores en torno 10^8 ufc/g al final del proceso de maduración. La evolución de los recuentos de BAL en el lote control fue similar a los encontrados en otros embutidos fermentados tradicionales elaborados sin adición de cultivo iniciador.

GRÁFICO 4: Recuentos de bacterias ácido lácticas durante el procesado de los embutidos crudos curados de cerdo ibérico

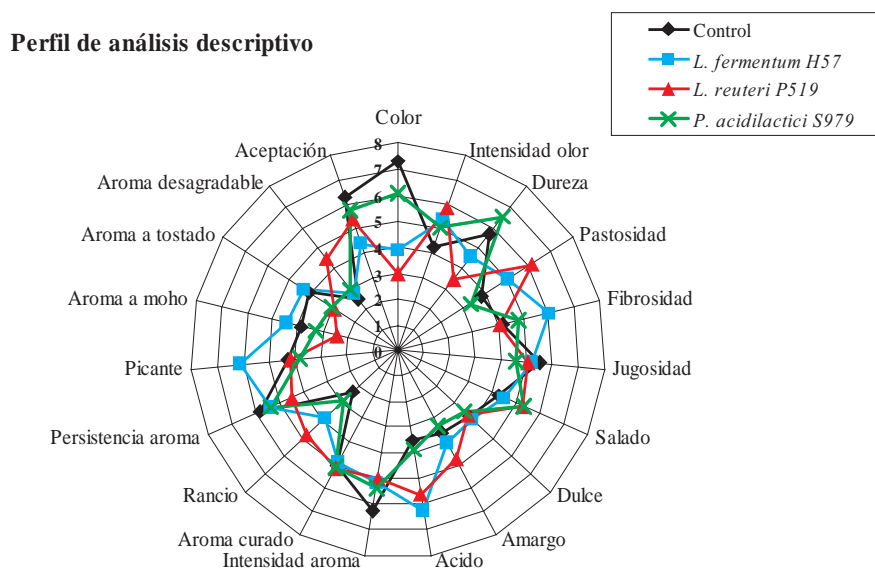
Los recuentos de cocos gram-positivo catalasa-positivo (*Micrococcaceae* y *Staphylococcaceae*) no mostraron diferencias entre los lotes estudiados. Hasta los 22 días del procesado, el número de bacterias aumentó progresivamente en todos los lotes, hasta niveles de 5,38-6,80 log ufc/g y 4,79-6,29 log ufc/g, respectivamente. Estos recuentos se mantuvieron constantes hasta el final del procesado, excepto en el caso de los salchichones inoculados con la cepa de *L. reuteri* P519, donde fueron significativamente menores que en el resto de los lotes estudiados. La reuterina y la reutericina producidas por cepas de *L. reuteri* son activas frente bacterias Gram positivas, como los *Staphylococcus* spp. (Leroy *et al.*, 2006).

Un aspecto fundamental en las BAL seleccionadas para su utilización como probióticos es que se adapten a las condiciones de procesado de los embutidos crudos curados y lleguen al final del procesado en un número suficiente como para ejercer sus efectos beneficiosos. Los recuentos de BAL obtenidos en todos los lotes, incluyendo el lote control, estuvieron al final del procesado en niveles superiores a 10^8 ufc/g. Sin embargo, es necesario asegurar la presencia y niveles de las cepas inoculadas como potenciales probióticos y demostrar su capacidad para competir con la flora autóctona que se desarrolla en este tipo de productos. En este sentido, los métodos moleculares han mostrado ser más adecuados que los métodos fenotípicos para conseguir una rápida y segura identificación. Dentro de los métodos moleculares, la técnica de PCR con cebadores específicos, así como el RAPD-PCR han mostrado ser unas herramientas muy adecuadas para la identificación de bacterias probióticas. Gracias a estas dos técnicas, las tres cepas inoculadas, *P. acidilactici* S979, *L. reuteri* P519 y *L. fermentum* H57, fueron detectadas a lo largo de todo el procesado a niveles de 10^7 ufc/g, de forma rápida y precisa. Estas dosis de microorganismos vivos son las descritas como necesarias para que un alimento sea considerado como probiótico.

El análisis sensorial de los lotes inoculados y el control fue realizado por un panel de jueces entrenados sobre producto final de 48 días de maduración. Se les presentó a los jueces lonchas finas de embutido para caracterizar con tres test diferentes, test triangular, test descriptivo y test hedónico. En el test descriptivo los jueces evaluaron aspectos de intensidad de olor, atributos de textura como dureza, pastosidad, jugosidad o fibrosidad, gusto, aroma a curado o aroma a rancio. Los resultados obtenidos en el test triangular mostraron claras diferencias entre los lotes de embutidos estudiados. Los jueces diferenciaron los lotes pre-

sentados, excepto en el caso de la comparación entre el lote control y el inoculado con la cepa seleccionada de *P. acidilactici*. Los datos obtenidos en el test triangular se vieron reflejados en los resultados del test descriptivo presentados en el gráfico 5. De hecho, los embutidos de los lotes control e inoculado con *P. acidilactici* P979 no mostraron diferencias significativas en los atributos sensoriales evaluados. Éstos a su vez presentaron mejor valoración de color, dureza y menor pastosidad que el lote inoculado con *L. reuteri* P519. Con respecto al lote inoculado con *L. fermentum* H57, los jueces percibieron en estos embutidos color menos adecuado y mayor acidez que el control y los inoculados con la cepa de *P. acidilactici*. A pesar de la valoración más baja de los jueces en los embutidos inoculados con las cepas de *L. reuteri* y *L. fermentum*, no se observaron diferencias significativas en el nivel de aceptación mostrado por el panel de jueces entre los lotes estudiados (gráfico 5). En lo referente a la cepa *P. acidilactici* P979, los resultados obtenidos en las pruebas sensoriales muestran una mayor aceptación de los jueces sobre las características sensoriales de embutidos de cerdo Ibérico. Esto, junto a su condición de autóctona de embutidos de cerdo Ibérico, hace de esta cepa la más idónea para la elaboración de embutidos probióticos de cerdo Ibérico.

GRÁFICO 5: Perfil de análisis sensorial de los salchichones de cerdo Ibérico elaborados con las diferentes cepas



6. CONCLUSIONES

1. Los aislados de embutidos *P. acidilactici* S209 y S979 y *E. faecium* S906, de heces de cerdo *L. reuteri* P519 y P542 y de heces humanas *L. fermentum* H57, fueron las cepas que mostraron mejores características probióticas, acordes con los criterios de selección y seguridad estudiados.

2. Las tres cepas ensayadas en planta piloto para la elaboración de embutidos crudos curados de cerdo Ibérico, *P. acidilactici* S979, *L. reuteri* P519 y *L. fermentum* H57, mantuvieron niveles de 10^7 fc/g al final del procesado. Estas dosis de microorganismos vivos son las descritas como necesarias para que un alimento sea considerado como probiótico.

3. Aunque no se detectaron diferencias significativas en las características físico-químicas estudiadas ni en la aceptación global de los lotes embutidos elaborados, algunos atributos sensoriales importantes, como color y textura, fueron mejor valorados en el caso del lote inoculado con la cepa *P. acidilactici* S979, siendo esta cepa seleccionada para su utilización como potencial probiótico en este tipo de productos.

BIBLIOGRAFIA

- Adams, M.R., y Marteau, P. (1995): “On the safety of lactic acid bacteria from food”. *Rev. International Journal of Food Microbiology*, nº 27; pp. 263-264.
- Begley, M., Gahan, C.G M. y Hill, C. (2005): “The interaction between bacteria and bile”. *Rev. FEMS Microbiol. Rev.*, nº 29; pp. 625-651.
- Benito, M.J., Martín, A., Aranda, E., Pérez-Nevado, F., Ruiz-Moyano, S., y Córdoba, M.G. (2007): “Characterization and selection of autochthonous lactic acid bacteria isolated from traditional Iberian dry-fermented Salchichón and Chorizo sausages”. *Rev. Journal of Food Science*, nº 72; pp. 193-201.
- Diplock, A. T., Agget, P. J., Ashwell, M., Bornet, F., Fern, E. B., y Roberfroid, M. B. (1999): “Scientific concepts of functional foods in Europe. Consensus document”. *Rev. Br J Nutr.*, nº 81; pp 1-27.
- Drosinos, H.E., Mataragas, M., Xiraphi, N., Moschonas, G., Gaitis, F., y Metaxopoulos, J. (2005): “Characterization of the microbial flora from a traditional Greek fermented sausage”. *Rev. Meat Science*, nº 69; pp 307-17.
- FAO/OMS (2001): “Evaluation of Health and Nutritional Properties of Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria”. Report from FAO/WHO Expert Consultation, 1-4 October 2001, Cordoba, Argentina.
- Klingberg, T.D., Axelsson, L., Naterstad, K., Elsser, D. y Budde, B.B. (2005): “Identification of potential probiotic starter cultures for Scandinavian-type fermented sausages”. *Rev. International Journal of Food Microbiology*, nº 105; pp. 419-431.
- Martín, A., Colín, B., Aranda, E., Benito, M.J., y Córdoba, M.G. (2007): “Characterization of *Micrococaceae* isolated from Iberian dry-cured sausages”. *Rev. Meat Science*, nº 75; pp. 696-708.
- Naidu, A.S., Bidlack, W.R. y Clemens, R.A. (1999): “Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB)”. *Rev. Crit Rev Food Sci Nutr.*, nº 39; pp. 1-126.
- Pidcock, K., Heard, G.M., y Henriksson, A. (2002): “Application of nontraditional meat starter cultures in production of Hungarian salami”. *Rev. International Journal of Food Microbiology*, nº 76; pp. 75-81.
- Sanders, M. (2001). En: *Probiotics, Prebiotics and new Foods*. Rome, Italy; pp. 27-30.