

PAPER DE *Lactobacillus sake* i *Lactobacillus curvatus* EN LA MADURACIÓ DEL FUET

Ignasi Guix i Huguet, Rosa Carbó i Moliner
Enric Bota i Prieto i Josep Sancho i Valls

Departament d'Indústries Agroalimentàries
Escola Superior d'Agricultura de Barcelona

1. RESUM

S'han estudiat dos fuets de fórmula i elaboració semblants, però de característiques organolèptiques molt diferents. A la fi de la maduració, l'activitat d'aigua (A_w) és semblant en ambdós casos, però en canvi el pH és força diferent, de la mateixa manera que ho és la flora fermentadora dels lactobacils. En la mostra més àcida, la població majoritària i absolutament dominant és *Lactobacillus curvatus*, mentre que en l'altra no hi ha una dominància definida i la població majoritària es repa-

teix quasi igualment entre *Lactobacillus sake* i *Lactobacillus curvatus*. També apareix ací en quantitats molt inferiors *Lactobacillus plantarum*, que era absent en l'altre fuet. Es discuteix la inconveniència de *L. sake* en aquest tipus d'embotit i es planteja la possibilitat de produir industrialment «starters» de *L. curvatus* per als fuets.

Mots clau:

Fuet, maduració del
Lactobacillus sake
Lactobacillus curvatus

RESUMEN

Se han estudiado dos embutidos de tipo «fuet» de fórmula y elaboración semejantes, pero de muy distintas características organolépticas. Al final de la maduración, la actividad de agua (A_w) es parecida, pero en cambio el pH y la flora de lactobacilos es muy distinta. En la muestra más ácida, la población dominante y mayoritaria es de *Lactobacillus curvatus*, mientras que en la otra no hay una clara dominancia y la población mayoritaria se reparte entre *Lactobacillus curvatus* y *Lac-*

tobacillus sake, apareciendo también una pequeña población de *Lactobacillus plantarum*, ausente en el otro caso. Se discute la inconveniencia de *L. sake* en estas elaboraciones y se plantea la posibilidad de preparar industrialmente «starters» de *L. curvatus* para los embutidos tipo fuet.

Palabras clave:

Fuet, maduración del
Lactobacillus sake
Lactobacillus curvatus.

SUMMARY

Two sausages fuet type, with similar composition and elaboration but different organoleptical characteristics were studied. When the rippening is finished, the A_w in both cases is similar but they differs in pH and the latobacilli types. In the most acidic sausage, *Lactobacillus curvatus* is the main dominant flora with no other species identified. In the other sample the main flora were constituted by *Lactobaci-*

llus curvatus and *Lactobacillus sake*, with a little number of *Lactobacillus plantarum*. The unsuitability of *L. sake* in the rippening of fuet type sausages is discussed, and the industrial production of starters with *L. curvatus* is proposed.

Key words:

Fuet type sausage, rippening of
Lactobacillus sake
Lactobacillus curvatus.

2. INTRODUCCIÓ

Aquest treball va sorgir en verificar que dos embotits tipus «fuet», que gaudeixen d'una bona acceptació de mercat en la zona de Barcelona, presentaven unes característiques organolèptiques i de textura molt diferents.

Després de diverses anàlisis prelimi-

nars, ens vàrem posar en contacte amb els productors i vàrem comprovar que en cap dels dos casos no s'utilitzaven «starters» o iniciadors de fermentació, i establírem acords per a a realitzar un estudi més acurat, els resultats inicials dels quals presentem aquí.

3. MATERIAL I MÈTODES

Es parteix de la pasta barrejada, la composició de la qual no és exactament la mateixa en ambdós casos, com es pot comprovar en la taula de composició (Taula 1).

La mostra B és lleugerament més greixosa, més salada, més especiada i substitueix les dextrines de la primera per una quantitat substancialment més gran de lactosa i llet en pols. També s'hi inclou un 0,1% de fosfat, absent en la mostra A, per tal de modificar-ne la textura.

El mostreig es comença a partir de la barreja de la pasta, i aquest moment el designem com a «temps 0».

Els dos primers dies corresponen a un període de repòs en frigorífic a uns 5°C, fins passar a l'embotit pròpiament esmentat. Posteriorment, les peces embotides se sotmeten unes 24 hores a un estufatge a 24-25°C i després es passen a l'eixugador a 12-14°C durant vuit o deu dies més, abans de la seva comercialització. En el nostre cas, els mostreigs es perllongaren fins als 23-24 dies en què es verificà l'estabilització definitiva de la flora microbiana.

TAULA 1
COMPOSICIÓ (EN %) DE LA PASTA
DELS EMBOTITS MOSTREJATS

	Mostra A	Mostra B
Carn de paleta	65,	62,5
Carn de panxeta	22,5	27,5
Sal	2,0	2,5
Nitrats i nitrts	0,05	0,05
Pebre	0,03	0,10
Ascorbat	0,60	0,50
Dextrines	0,60	—
Dextrosa	0,60	0,50
Caseïnats	0,50	0,20
Llet en pols	—	1,50
Lactosa	—	1,50
Fosfat sòdic	—	0,10
pH en el moment d'embotir	6,07	6,12
Aw en el moment d'embotir	0,993	0,974

Sobre les mostres s'ha estudiat l'evolució de la microflora, especialment la làctica, i l'activitat d'aigua i el pH, atès que estan molt correlacionats.

La mesura del pH es prenia directament sobre la massa embotida amb un electrode de punxada i un potenciòmetre Crissons. Per a l'activitat d'aigua s'ha emprat un aparell Novasina actuant directament sobre la pasta de l'embotit.

Per dur a terme l'estudi microbiològic es pren asèpticament una part de la massa, de pes controlat, i posteriorment a la seva disgregació dins del «stomacher» es procedeix a l'inòcul d'aliquotes sobre els medis de cultiu adients a partir d'un banc de dilucions (2).

Centrant-nos en la flora làctica, puntualitzarem que l'aïllament s'ha fet sobre l'Agar MRS (Adsa = Micro) amb una incubació a 30°C fins a l'aparició de colònies discretes (3 dies aproximadament). A partir de la morfologia colonial s'aïllen les colònies, es verifica la seva constitució làctica i s'estima la població total de lactobacils.

La fase d'identificació es realitza amb una distribució en els grups clàssics d'Orla-Jenssen (heterofermentatius = *Betabacteris*) basant-se en la producció de CO₂ a partir de la glucosa. Ja dins dels heterofermentatius es distribueixen entre *estreptobacteris* i *termobacteris* amb els assaigs de creixement a diferents temperatures (15° i 45°C) i la fermentació de la ribosa i la producció de CO₂ des del gluconat (7, 14).

La identificació específica s'ha dut a terme amb el sistema API 50CH, adaptat a aquest gènere amb l'ús del medi MRS de fermentació. Malgrat tot, i com és normal en aquests casos, molts dels aïllaments han quedat sense poder-se assignar a cap espècie concreta, i a efectes d'aquest estudi, s'integren dins un grup que s'ha anomenat d'*estreptobacteris atípics*.

4. RESULTATS

Els resultats obtinguts en ambdues mostres s'ofereixen en les Gràfiques 1 al 4, i a la Taula 1 es donen els valors resumits. Totes les dades de pH i d'activitat d'aigua són valors mitjans de les diferents mesures fetes en cada mostreig.

Les dades de les enumeracions de la població microbiana es donen en logaritmes del nombre de cèl·lules viables per gram de pasta o d'embotit, i també són valors amitjanats.

A banda dels *estreptobacteris atípics*,

s'ha pogut identificar en ambdues mostres una bona població de *Lactobacillus curvatus*, que en el cas de la mostra B arriba fins a tenir més de cent milions de cèl·lules per gram, però mai no ultrapassa els mil milions, i s'estabilitza a la fi de la maduració als volts de cent milions. En la mostra A, aquest microorganisme també hi és present, però en quantitats sempre inferiors, que no arriben mai als cent milions, i que s'estabilitzen al voltant dels deu milions.

En la mostra A apareix també una petita població, que tot just ultrapassa el milió de cèl·lules en el millor moment, d'un altre lactobacil molt emprat en els embotits, *Lactobacillus plantarum*. Però en aquesta mateixa mostra, el microorganisme més interessant que s'ha aïllat i identificat és *Lactobacillus sake*. Aquest microorganisme va ésser descrit per KATAGIRI i col·laboradors com a responsable de la fermentació del vi d'arròs (8), però després altres autors (3, 6, 10, 15, 16) l'associen a la fermentació

de la carn. Malgrat que sembla que és un organisme freqüent en els nostres embotits (4, 5), no hem trobat cap esment escrit de la seva participació en la maduració d'embotits mediterranis.

Els diferents biotips de *Lactobacillus sake* que s'han aïllat de la mostra A els hem agrupat amb el nom de soca LB3, i després del seu estudi sistemàtic es pot afirmar que es tracta d'un bacil grampositiu, catalasa negatiu que no creix a 45°C, però sí a 15°C, i que produeix àcid làctic i CO₂ de la glucosa. A més, pot utilitzar la 1-arabinosa, ribosa, galactosa, fructosa, manosa, alfa-metil-D-gluconat, N-acetilglucosamina, amigdalina, esculina, salicina, cel·lobiosa, maltosa, lactosa i melibiosa. En canvi, no té cap tipus d'acció sobre el manitol, sorbitol, arbutina, sacarosa, trehalosa, melicitosa, rafinosa, xilitol, gentobiosa, turanosa, gluconat ni arabitol.

Aquest microorganisme no s'ha aïllat en la mostra A.

5. DISCUSSIÓ

En la mostra A, l'evolució del pH fa una forta inflexió al sisè dia de maduració, que és quan assoleix el punt més baix, i tot seguit comença a augmentar fins a estabilitzar-se, a les tres setmanes, en valors lleugerament superiors als inicials.

En canvi, en la mostra B, el comportament és totalment diferent: superats els primers dos dies de refrigeració, la caiguda del valor del pH és contínua, fins als 14 dies, en els quals assoleix un valor mínim i inicia una tímida recuperació, que queda estabilitzada en transcórrer una altra setmana i amb valors molt inferiors als inicials.

Els valors finals que s'assoleixen en un i altre cas són totalment diferents: per a la mostra A és del 6,2 i per a la mostra B és de 5,3, o si es prefereix, en la primera mos-

tra, l'embotit queda menys àcid que la pasta inicial, mentre que en el segon cas, l'acidificació assoleix una unitat per sota de la inicial.

Amb tot el referent a l'evolució de l'activitat d'aigua, les diferències no són tan acusades, ja que tant en un cas com en l'altre, la pèrdua és contínua i constant. En la primera mostra es parteix d'uns valors més alts, com era d'esperar, en ésser menys salada, i s'assoleixen uns valors de «garantia» microbiana que tendeixen a estabilitzar-se en un termini de tres setmanes. En la segona mostra, el valor de partença és sensiblement inferior, quasi amb seguretat, a causa de la major concentració de sal, i s'assoleixen els mateixos valors en un espai de temps molt semblant.

Es pot comprovar, doncs, que l'activitat

TAULA 2
EVOLUCIÓ DELS DIFERENTS PARÀMETRES I DE LA POBLACIÓ DE BACTERIS LÀCTICS
(en log. del nombre) DURANT LA MADURACIÓ

Dies de maduració	pH	A _w	Mostra A				Mostra B			
			BACTERIS TOTALS	Lactobac. plantarum	Lactobac. sake	Lactobac. curvatus	pH	A _w	BACTERIS TOTALS	Lactobac. curvatus
0	6,07	0,993	4,51	—	—	—	6,12	0,974	6,00	—
2	6,05	0,990	4,74	—	—	—	6,12	0,967	6,17	5,00
3	—	—	—	—	—	—	6,11	0,956	6,34	5,69
6	5,92	0,982	7,81	5,69	6,95	7,39	5,38	0,935	8,94	7,95
8	5,96	0,971	8,00	6,00	6,90	7,56	—	—	—	—
10	—	—	—	—	—	—	5,26	0,920	9,21	7,77
13	6,16	0,926	8,03	6,60	7,16	7,66	—	—	—	—
14	—	—	—	—	—	—	5,18	0,888	9,17	8,41
16	6,16	0,880	7,99	5,69	7,00	7,72	—	—	—	—
17	—	—	—	—	—	—	5,34	0,862	9,06	8,20
20	6,14	0,856	7,97	5,60	6,93	7,31	—	—	—	—
21	—	—	—	—	—	—	5,33	0,833	9,05	8,00
23	6,20	0,835	7,91	5,60	6,93	7,13	—	—	—	—
24	—	—	—	—	—	—	5,33	0,808	8,99	8,00

d'aigua evoluciona en funció d'uns factors ambientals independents dels del pH, que oscil·la com a resultat de l'activitat microbiana, sobre la qual té una notable influència l'activitat d'aigua.

Pel que fa a l'evolució de la flora microbiana, centrarem la qüestió en els lactobacils, responsables dels canvis del pH i, de manera indirecta, de tot el procés de curació i maduració de l'embotit.

El que destaca més és la població inicial d'ambdues mostres: en la A, hi ha 10.000 cèl·lules/g, mentre que en la B n'hi ha un milió. Des d'aquest moment, la població tendeix a igualar-se, però no ho arriba a assolir mai. En el primer cas s'arriba a una població d'uns 100 milions/g als volts del tretzè dia, mentre que només amb 10 dies, la mostra B ja arriba a tenir prop de 1.000 milions de lactobacils per gram. Després d'aquestes dates, la població tendeix a estabilitzar-se i oscil·la molt poc, i manté fins a la fi de la maduració aquesta diferència d'un cicle logarítmic, cosa que per si mateixa podria explicar també la diferència de valors de pH assolits en els dos embotits, però, en canvi, no pot explicar la forta inflexió de l'acidesa en la primera mostra.

No hi ha cap dubte que en ambdues mostres hi ha altres microorganismes diferents del lactobacils, però les dades que s'han trobat no donen diferències prou significatives, ni en la quantitat ni en la varietat dels microbis, que permetin atribuir-los les característiques organolèptiques diferencials entre les dues mostres d'embotit.

En canvi, si hom se centra en la composició específica de la flora dels lactobacils, sí que semblen trobar-s'hi alguns aspectes interessants. En totes dues mostres, la població dominant, de molt, és de *Lactobacillus curvatus*. Tant és així que en la mostra B, aquest organisme és pràcticament l'únic biotip que s'hi ha pogut identificar de manera unívoca, ja que la resta de biotips aïllats no es pogueren atribuir a cap

de les espècies descrites, per la qual cosa s'han hagut d'encaixar en el grup d'*Streptobacteris atípics*, que presenten un creixement escalonat a tot el llarg de la maduració de l'embotit.

En la mostra A, també hi són aquests *Streptobacteris atípics*, però en nombre molts més reduït, i fins i tot la dominància de *L. curvatus* no és tan clara ni evident. En canvi, s'hi ha pogut identificar i quantificar la presència de *L. plantarum* i *L. sake*, i d'aquest darrer se n'hi han trobat quantitats molt properes a les del lactobacil dominant, sobretot a la fi del període de maduració.

Lactobacillus plantarum no arriba mai a assolir les xifres realment significatives en l'embotit, i fins i tot sembla totalment ultrapassat pels altres biotips, la qual cosa fa pensar que la seva utilització en els «starters» o iniciadors no representi més que una senzilla preparació ambiental per a la implantació de les altres espècies «autòctones», per dir-ho d'alguna manera, dels embotits del nostre país.

Queda encara per definir el paper de *Lactobacillus sake*, que si bé no és estrany en la carn (1, 9, 11, 13), no ha estat gaire esmentat. Si s'observen les gràfiques de la Figura 5, es fa evident que el seu nombre segueix les oscil·lacions de l'organisme dominant i, per tant, no costa gens d'imaginar que ha de tenir un paper important en les característiques organolèptiques que permeten distingir bé entre les dues mostres examinades. Per altra banda, la seva presència constant i quasi invariable en quantitat fa que sigui difícil de relacionar-lo amb l'evolució tan atípica del pH en la formulació A. També resulta difícil d'avaluar l'interès que aquest bacteri pot tenir en la maduració, ja que si bé ambdós embotits gaudien de bona acceptació comercial, la textura, el color, l'aspecte general i l'aroma de la mostra A era notablement inferior a la de la mostra B, en la qual aquest bacteri no és present.

En canvi, *Lactobacillus curvatus* sembla constituir una part essencial de la flora de maduració del fuet, i la seva presència continua i dominant així ho fa pensar, per la qual cosa caldria plantejar-se seriosament la seva utilització industrial en la prepara-

ció dels iniciadors de fermentació o «starters», en els quals també s'hauria d'incloure un cert nombre dels anomenats «estrep-tobacteris atípics», ja que en gran part són els responsables de la curació i la maduració.

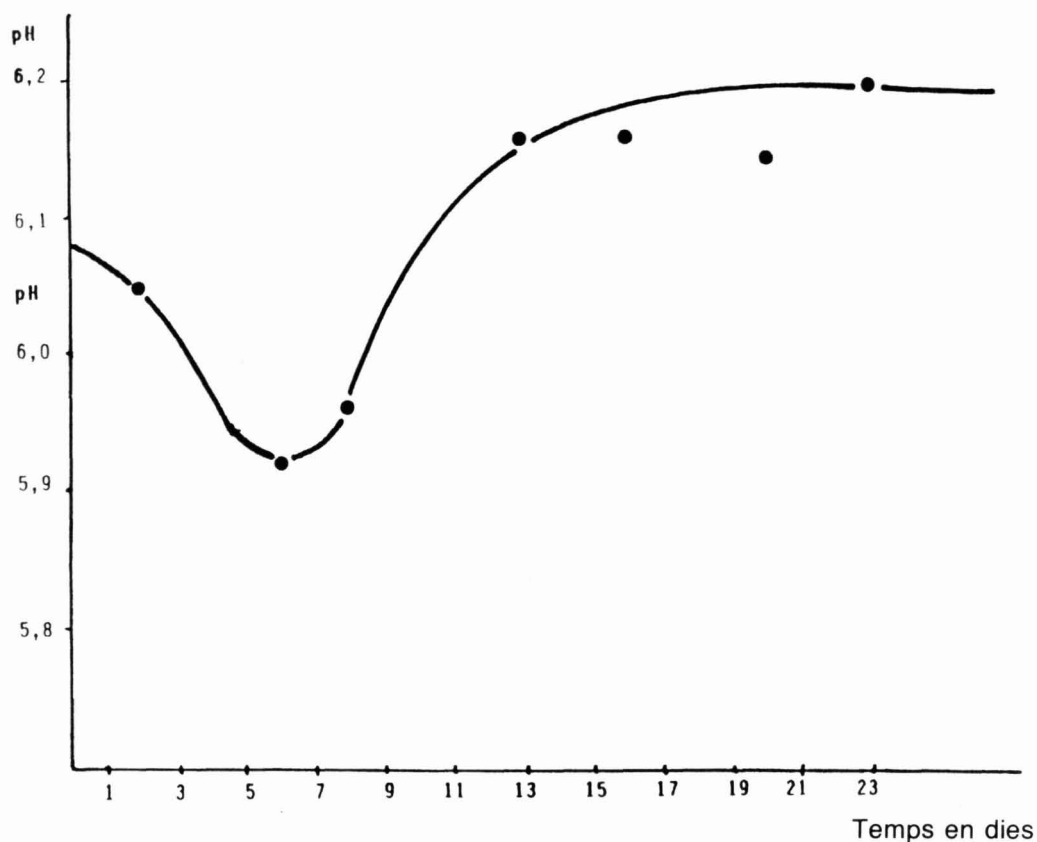


Figura 1.— Evolució del pH en la mostra A

6. CONCLUSIONS

S'ha descrit la presència, probablement per primera vegada en el fuet, de *Lactobacillus sake*, malgrat que el seu paper en la maduració de l'embotit no s'ha pogut establir clarament. Per altra banda, és evident que en aquest tipus d'embotit, el prin-

cipal responsable de la curació i maduració és *Lactobacillus curvatus*, mentre que *Lactobacillus plantarum* només hi fa un paper secundari, per la qual cosa es proposa la substitució de l'un per l'altre en els «starters» industrialitzats.

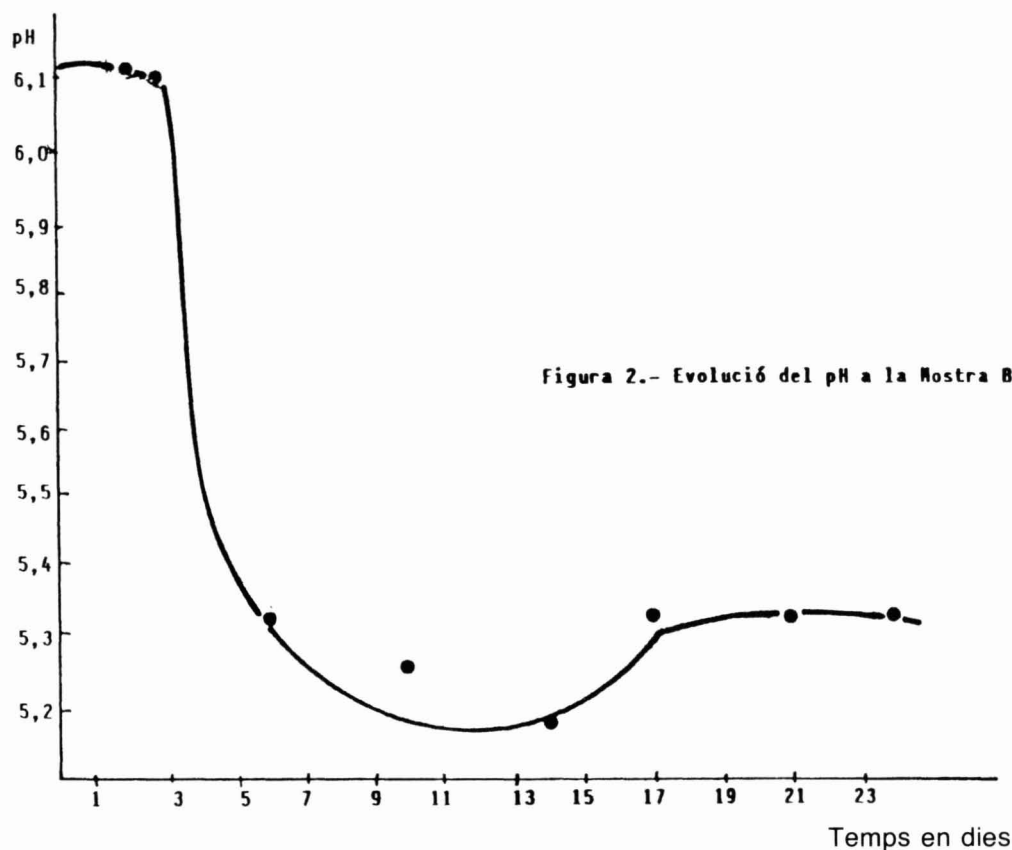


Figura 2. — Evolució del pH en la mostra B

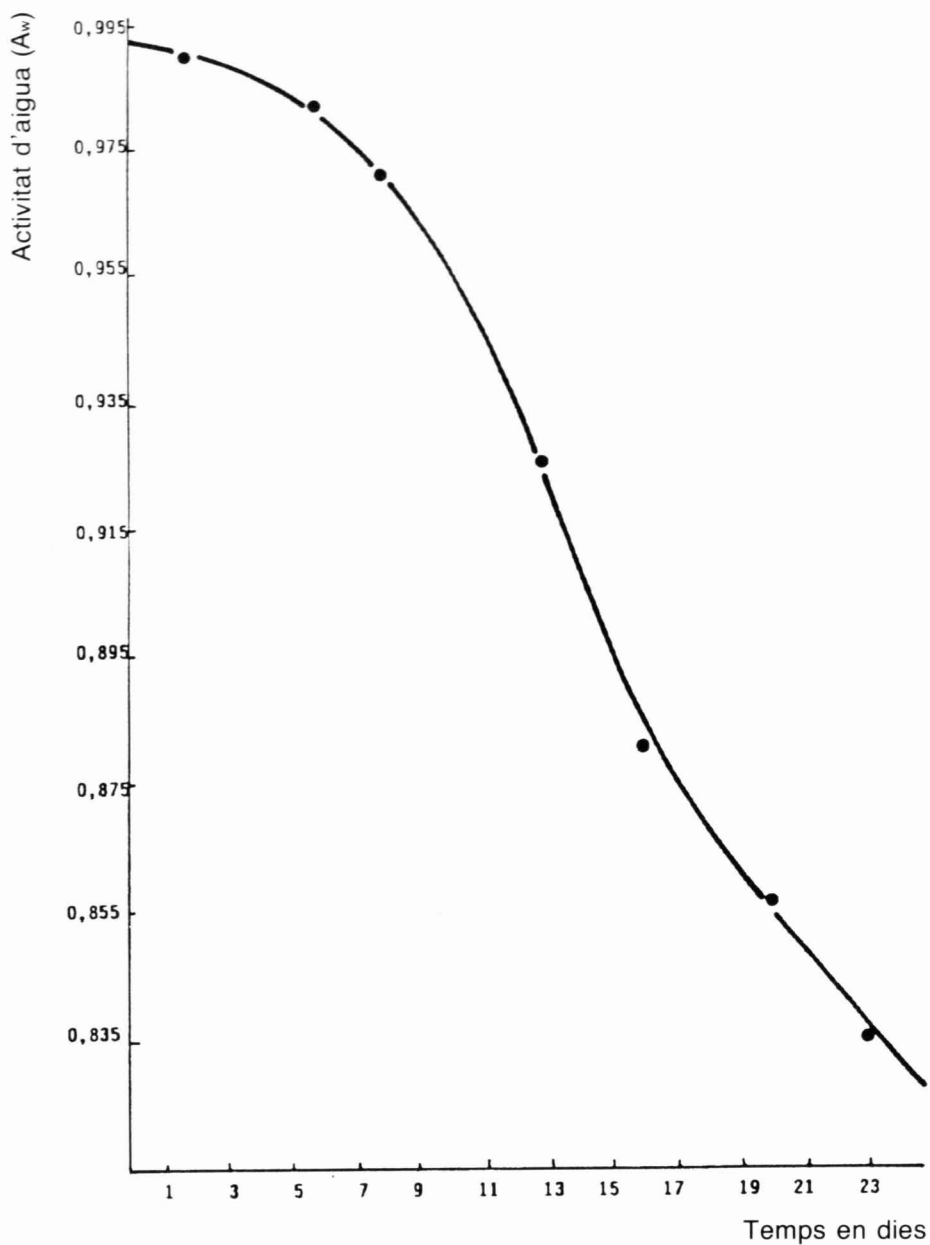


Figura 3.— Evolució de l'activitat d'aigua en la mostra A

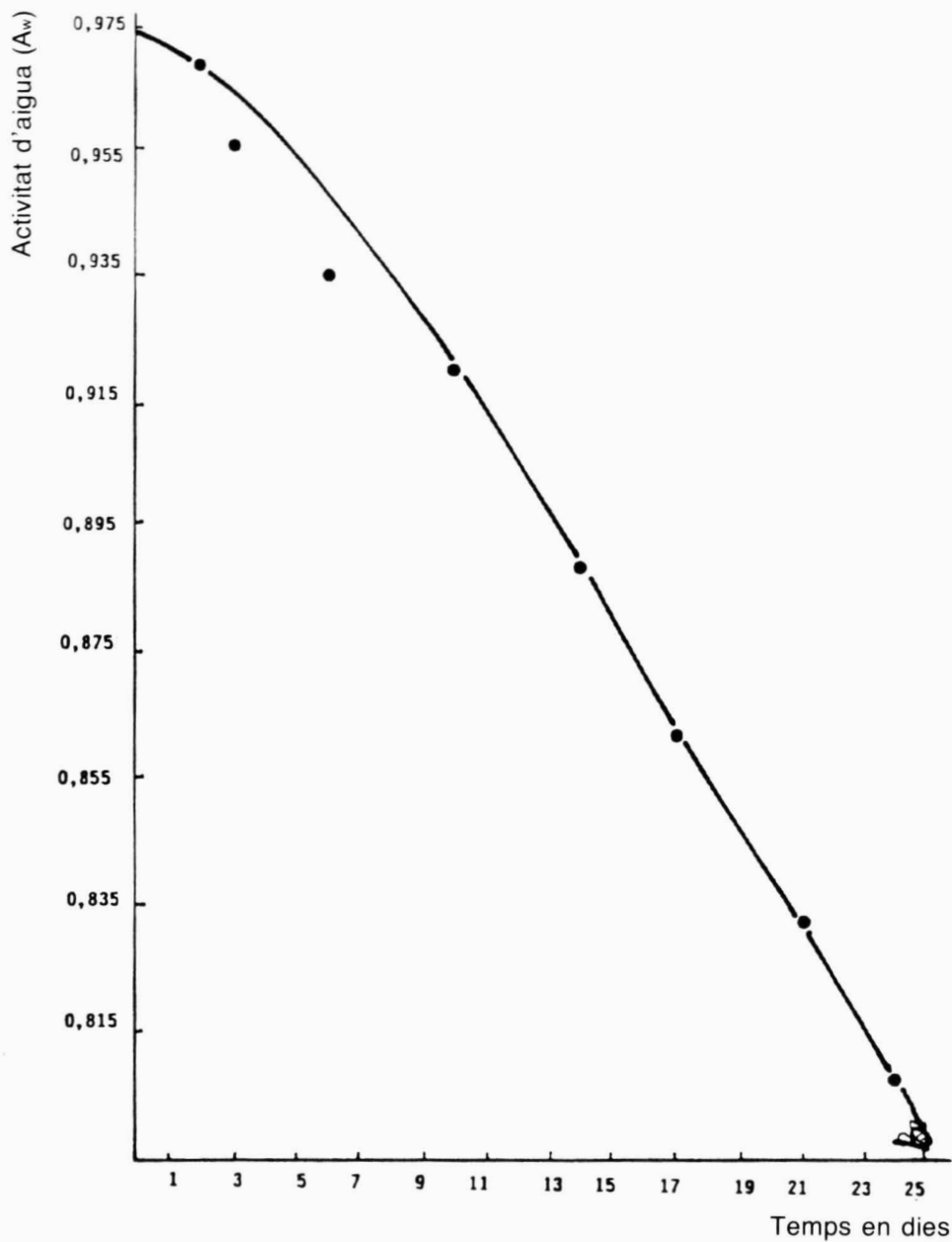


Figura 4.— Evolució de l'activitat d'aigua en la mostra B

Logaritme de cèl·lules per gram

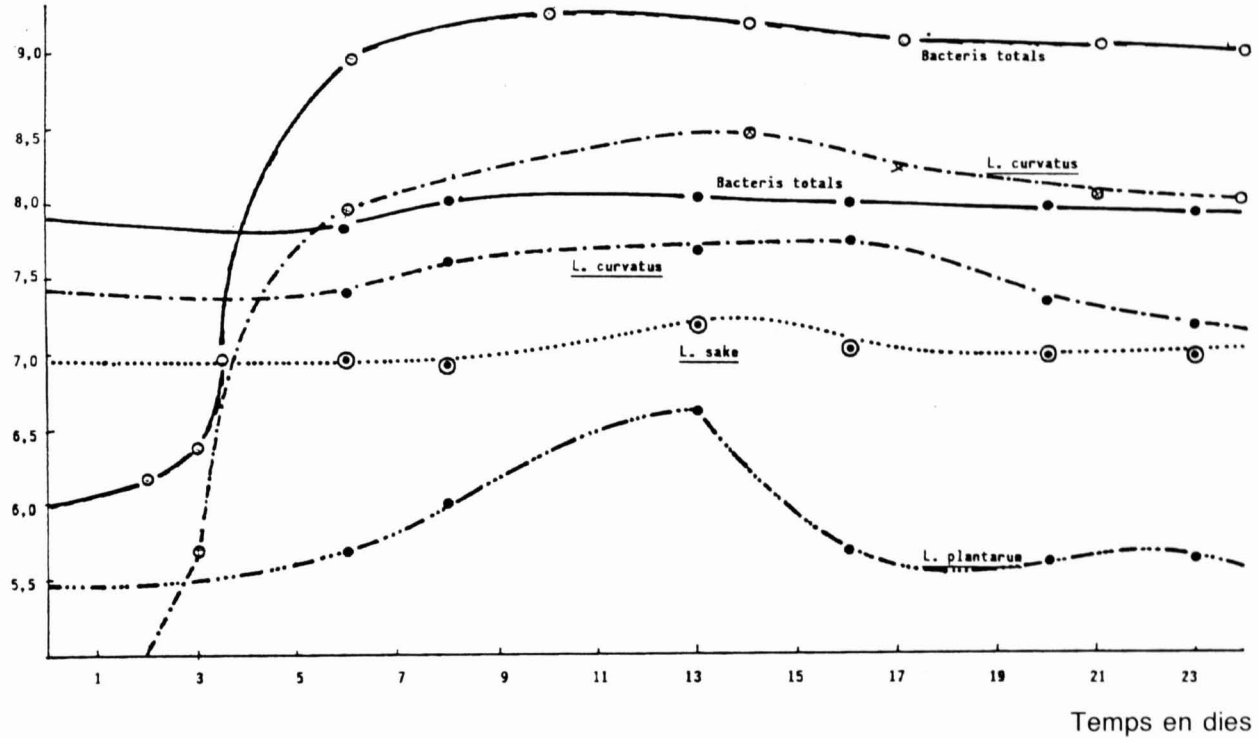


Figura 5.— Evolució comparativa de les poblacions de lactobacils en les dues mostres. La mostra A es representa amb cercles buits. La mostra B amb cercles plens.

7. BIBLIOGRAFIA

1. BORCH, E. i MOLIN, G. (1988). «Numerical taxonomy of psychotrophic lactic acid bacteria from prepacked meat and meat products». *Antonie van Leeuwenhoek* 54, 301-323.
2. CAHALAN, D.L. i GENIGEORGIS, C. (1987). «Examination of microbial flora during the natural fermentation of italian dry salami and the identification of species that are suitable as starter cultures». *Die Fleischwirtschaft*, 67 (1), 72-73.
3. CAMPOMIER, M.-C., MONTEL, F., GRIMONT, F. i GRIMONT, P.A.D. (1987). «Genomic identification of meat lactobacilli as *Lactobacillus sake*», *Ann. Inst. Pasteur/Microbiol.*, 138, 751-758.
4. FERRER ROVIRA, J. i ARBOIX, P. (1987). «The salcichon of Vic. I. Technology and development of bacterial flora during ripening and curing. *Die Fleischwirtschaft*, 67 (1), 74-76.
5. GUIX HUGUET, I. (1987). Treball de fi de carrera. Escola Superior d'Agricultura de Barcelona.
6. HITCHENER, A.G., EGAN, A.F. i ROGERS, P.S. (1982). «Characteristics of lactic acid bacteria isolated from vacuum-packed beef». *J. appl. Bacteriol.*, 52, 31-37.
7. KANDLER, O. i WEISS, N. (1986). «Regular, nonsporing Gram-positive rods», pgs. 1208-1234. A: Sneath-Mair-Sharpe-Holt (Eds) *Bergey's Manual of Systematic Bacteriol.* Vol. II. Williams & Wilkins Co., Baltimore.
8. KATAGIRI, H., KITAHARA, K. i FUKAMI, K. (1934). «The characteristics of the lactic acid bacteria isolated from moto, yeast mashes for sake manufacture. IV. Classification of the lactic acid bacteria», *Bull. agr. Chem. Soc. Jpn.* 10, 156-157.
9. KITCHELL, A.G. i SHAW, B.G. (1975). «Lactic acid bacteria in fresh and cured meat». A: Carr-Cutting-Whitting (Eds), *Lactic Bacteria in Beverages and Food*. Academic Press. Londres.
10. MONTEL, M.-C. i CHAMPOMIER, M.-C. (1987). «Arginine catabolism in *Lactobacillus sake* isolated from meat». *Appl. Environm. Microbiol.* 53 (11), 2683-2685.
11. REUTER, G. (1970). «Laktobacillen und eng verwandte Mikroorganismen in Fleisch und Fleischerzeugnissen». *Die Fleischwirtschaft*, 50, 954-962.
12. REUTER, G. (1975). «Classification problems, ecology and some biochemical properties of lactobacilli of meat products». A: Carr-Cutting-Whitting (Eds), *Lactic acid Bacteria in Beverages and Food*. Academic Press. Londres.
13. RODRIGUEZ, J.M., SOBRINO, O.J., FERNANDEZ, M.F., COBOS, A., AZCONA, J.I., HERNANDEZ, P.E. i SANZ, B. (1988). «Inhibición del crecimiento de diversos microorganismos por bacterias lácticas aisladas de embutidos crudos madurados». *Resúmenes, ponencias y comunicaciones de la VII Reunión de la SEM (Microbiología de los alimentos)*, pgs. 77-78. Madrid.
14. SHARPE, M.E. (1981). «The genus *Lactobacillus*». A: Starr-Stolp-Trüper-Balows-Schlegel (Eds), *The Prokaryote*, Vol. II, Chap. 131, pgs. 1653-1679. Springer Verlag. Berlin.
15. SHAW, B.G. i HARDING, C.D. (1984). «A numerical taxonomic study of lactic acid bacteria from vacuum-packed

beef, pork, lamb and bacon», *J. appl. Bacteriol.*, 56, 25-40.

16. SHAW, B.G. i HARDING, C.D. (1985)
«Atypical lactobacilli from vacuum-packaged meats: comparison by DNA

hybridization, cell composition and biochemical tests with a description of *Lactobacillus carnis*, sp. nov., *System Appl. Microbiol.* 6, 291-297.