

FIGURE 3

Distribution ellipses of the species with little eggs, at a 60% dispersion (L=length, W=width)

CAMBIOS EN LAS PROTEÍNAS DURANTE LA MADURACIÓN DEL CHORIZO.

(CHANGES IN PROTEINS DURING THE RIPENING OF CHORIZO).

*M. C. Domínguez Fernández**

*J. M. Zumalacárregui Rodríguez**

Palabras clave: Chorizo. Proteolisis. Nitrógeno no protéico.
Key words: "chorizo". Proteolysis. Non protein nitrogen.

SUMMARY

The extent of hydrolysis and loss extractability of proteins during ripening of "chorizo" -a dry fermented sausage- elaborated by traditional and industrial processes was studied. The amount of non-protein nitrogen (NNP), total α -amino nitrogen and ammonia increased during processing, while peptides decreased. The insolubilization is intense in both sarcoplasmic and myofibrillar proteins.

RESUMEN

En el presente trabajo se ha estudiado la intensidad de la proteolisis y la pérdida de extractabilidad de las proteínas durante la maduración del chorizo elaborado por procedimientos artesanales e industriales. A lo largo de la maduración se observa un aumento del nitrógeno no protéico (NNP), nitrógeno α -aminoacídico y nitrógeno básico volátil total (NBVT), mientras que el nitrógeno peptídico desciende. Tanto las proteínas miofibrilares como las sarcoplásmicas sufren una pérdida de solubilidad elevada.

* Dpto. Higiene y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Veterinaria.
Universidad de León. Campus Vegazana. 24071- León.
An. Fac. Vet. 1992-1994, 38, 45-54

INTRODUCCIÓN

Durante el proceso madurativo de los embutidos crudos-curados las proteínas presentes en los mismos sufren fenómenos de tipo proteolítico y cambios en su solubilidad. Como consecuencia de la proteólisis el nitrógeno no proteico (NNP) sufre un aumento, que es particularmente evidente en las primeras etapas de la maduración, coincidiendo con el desarrollo de la fermentación^{2, 3, 9, 13, 1, 7, 15}.

La importancia de los microorganismos o las enzimas endógenas en la proteólisis es fuente de controversia. Muchos autores sostienen que la formación del NNP se debe a la acción de enzimas bacterianas^{25, 9, 4, 22, 7}. Sin embargo, los estudios de Demeyer⁸ y Toldrá²⁶ sugieren una implicación de las proteinasas musculares.

Además de estos fenómenos, a lo largo del proceso madurativo de los embutidos tiene lugar un descenso en la solubilidad de las proteínas sarcoplásmicas y miofibrilares^{27, 16, 18, 6, 2, 3, 17, 1}.

El presente trabajo tiene como objetivo principal contribuir al conocimiento de las transformaciones sufridas por las proteínas en un embutido madurado típicamente español -chorizo-, para lo cual se ha estudiado la evolución a lo largo de la maduración del NNP total y de diversas fracciones constitutivas del mismo -nitrógeno aminoacídico, nitrógeno peptídico y nitrógeno básico volátil total (NBVT)-, tanto en embutidos artesanales como industriales. También se han determinado los cambios que en la solubilidad sufren las proteínas sarcoplásmicas y miofibrilares.

MATERIAL Y METODOS

Preparación de las muestras

Tanto la composición y tecnología de elaboración de los cuatro lotes de embutidos (dos artesanales y dos industriales) objeto de este estudio, como la periodicidad en la toma de muestras fueron las mismas que las llevadas a cabo en un trabajo previo¹⁰.

Métodos

El contenido en humedad se determinó según la norma ISO/R 1442. El nitrógeno total se cuantificó por el método de Kjeldahl (AOAC, 1970a); la digestión se realizó en un digestor "Tecator" mod.1007 y la destilación en una unidad de destilación también "Tecator" mod.1002.

La extractibilidad de las proteínas musculares -miofibrilares y sarcoplásmicas- se llevó a cabo siguiendo el método de Helander¹⁴; para la cuantificación de las mismas se utilizó el método del biuret.

Para la cuantificación de las distintas fracciones nitrogenadas no proteicas (NNP total, nitrógeno aminoacídico, nitrógeno peptídico y NBVT) se realizó un extracto previo, precipitando las proteínas con HClO₄ 0,6N y posterior neutralización con KOH al 30%. El NNP se determinó por el método de micro-Kjeldahl. El nitrógeno aminoacídico se cuantificó por el método de la ninhidrina descrito por Moore y Stein²³. Para la determinación del nitrógeno peptídico se realizó en primer lugar una hidrólisis ácida con el fin de romper los enlaces peptídicos y obtener los aminoáci-

dos totales, que fueron cuantificados por el método de la ninhidrina anteriormente descrito; el nitrógeno peptídico se calculó restando del valor de los aminoácidos totales el contenido en aminoácidos libres calculado previamente. El NBVT se determinó siguiendo el método de Conway descrito por Pearson²⁴.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En las figuras 1 y 2 se recoge la evolución de la extractibilidad de las proteínas miofibrilares y sarcoplásmicas, expresada en mg/g de extracto seco, en ambos tipos de chorizo (artesanal e industrial), a lo largo del período madurativo. Los resultados obtenidos indican una elevada pérdida de solubilidad en ambos tipos de proteínas, aunque las miofibrilares sufren una mayor insolubilidad en los chorizos elaborados industrialmente que en los fabricados de una manera tradicional; sin embargo, la pérdida de solubilidad de las proteínas sarcoplásmicas es similar en ambos tipos de embutidos.

La pérdida de solubilidad observada en nuestras muestras es similar a la citada para otros embutidos europeos en los que la temperatura utilizada durante la fase de fermentación no supera normalmente los 25°C^{6, 2, 3, 12}; sin embargo, es inferior a la observada en embutidos fermentados americanos en los que la temperatura utilizada es superior a 55°C^{16, 27}. Esta pérdida de solubilidad es muy probable que se deba a la acción combinada de la sal y los bajos pHs, así como a los propios fenómenos de tipo proteolítico. Por el contrario, la influencia de la temperatura como agente desnaturante es probable que sea baja, ya que en ningún caso supera los 24°C.

En las figuras 3 y 4 se recoge la evolución del NNP y de las distintas fracciones nitrogenadas -nitrógeno aminoacídico, nitrógeno peptídico y NBVT-, expresada en mg de nitrógeno por 100g de extracto seco, a lo largo del proceso madurativo en los embutidos artesanales e industriales, respectivamente. Tanto en los chorizos elaborados artesanalmente como en los de fabricación industrial se pone de manifiesto un ligero aumento del NNP que representa al final del período madurativo un 8-12% del nitrógeno total. La evolución observada en nuestro caso es similar a la citada para otros embutidos fermentados^{9, 1, 7, 15}.

Las diferencias observadas en el incremento del NNP en ambos tipos de embutidos pueden ser debidas a los valores de pH más altos observados en los de fabricación artesanal que podrían reducir la hidrólisis de las proteínas¹⁸). También, es muy probable que influya la tasa de microorganismos presentes, fundamentalmente los que poseen actividad proteolítica, que puede verse afectada por el menor contenido en azúcares en este tipo de embutido.

Durante la maduración de los chorizos se observa un aumento en el contenido en aminoácidos libres totales que representa un 80-90% de los valores iniciales. Las tasas alcanzadas al final del período madurativo son similares a las observadas por Dierick y col.⁹ en el salami belga y Cantoni y col.¹⁴ en salamis italianos, por el contrario son inferiores a las citadas por Ferrer y Arboix¹¹ en el "Salchichón de Vich", en el que se observan niveles de 829 mg/100 g de extracto seco a los 12 meses de la maduración.

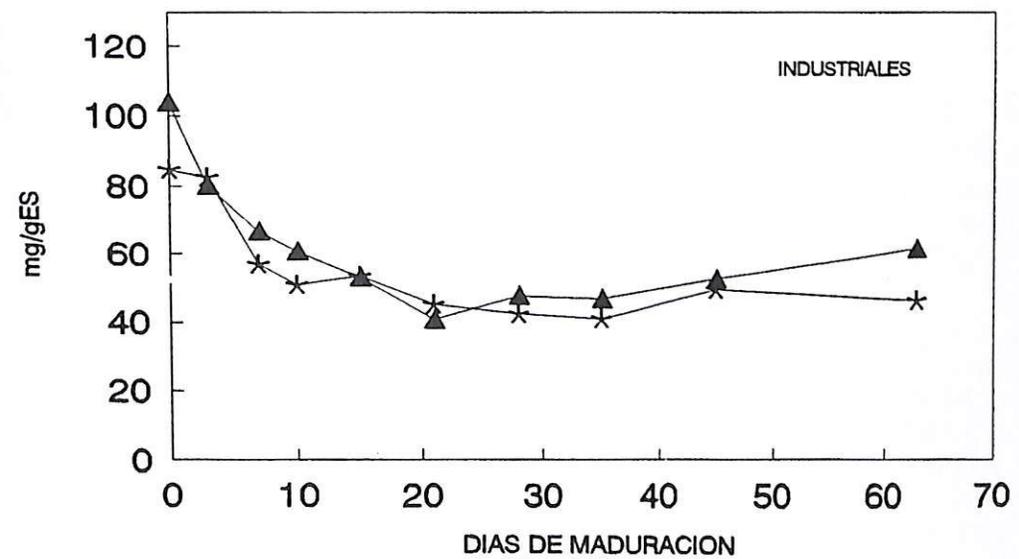
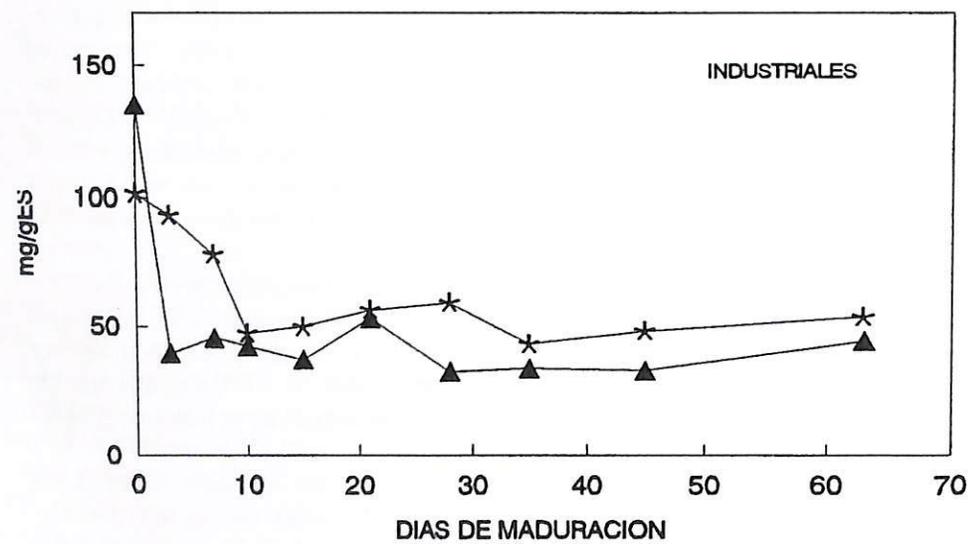
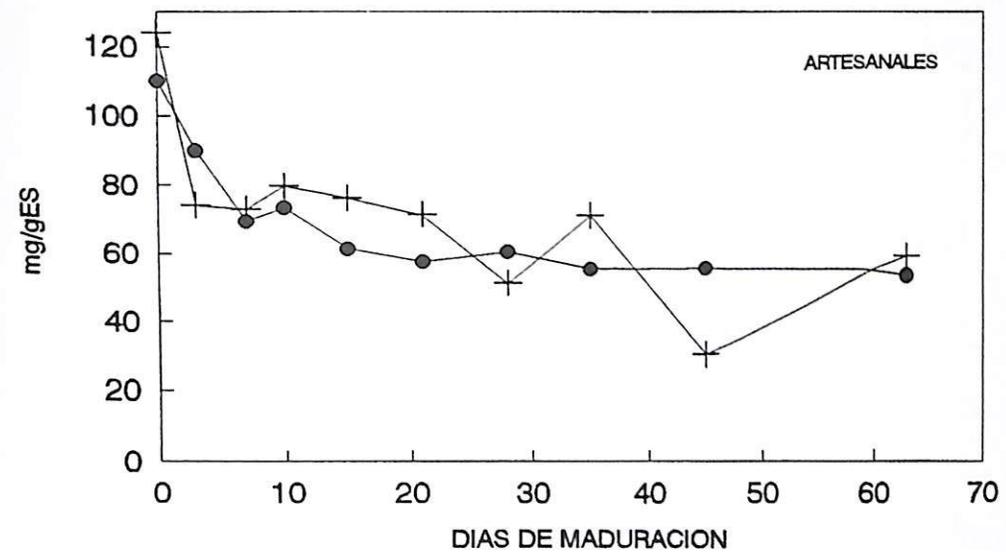
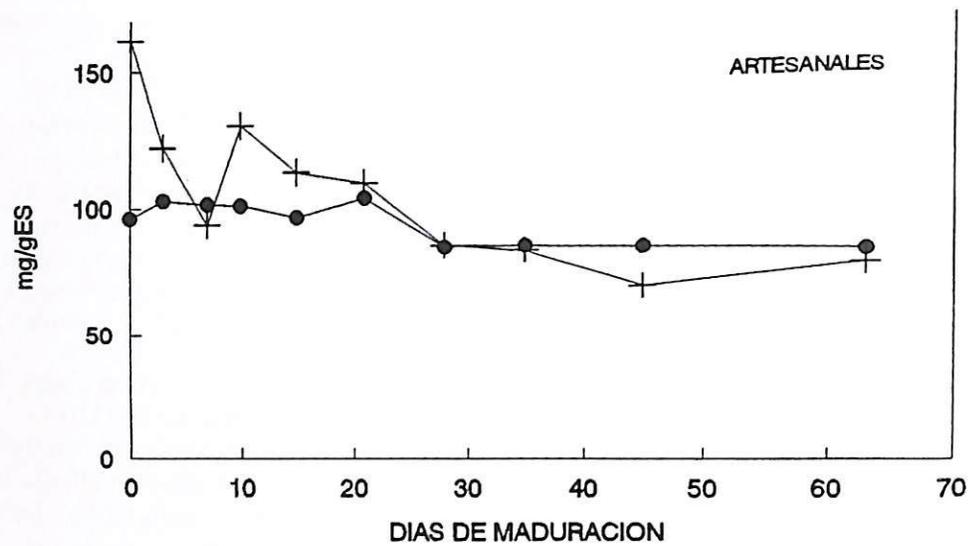


FIGURA 1

Evolución de la extractibilidad de las proteínas miofibrilares a lo largo del periodo madurativo de los chorizos artesanales e industriales

FIGURA 2

Evolución de la extractibilidad de las proteínas sarcoplásmicas a lo largo del periodo madurativo de los chorizos artesanales e industriales

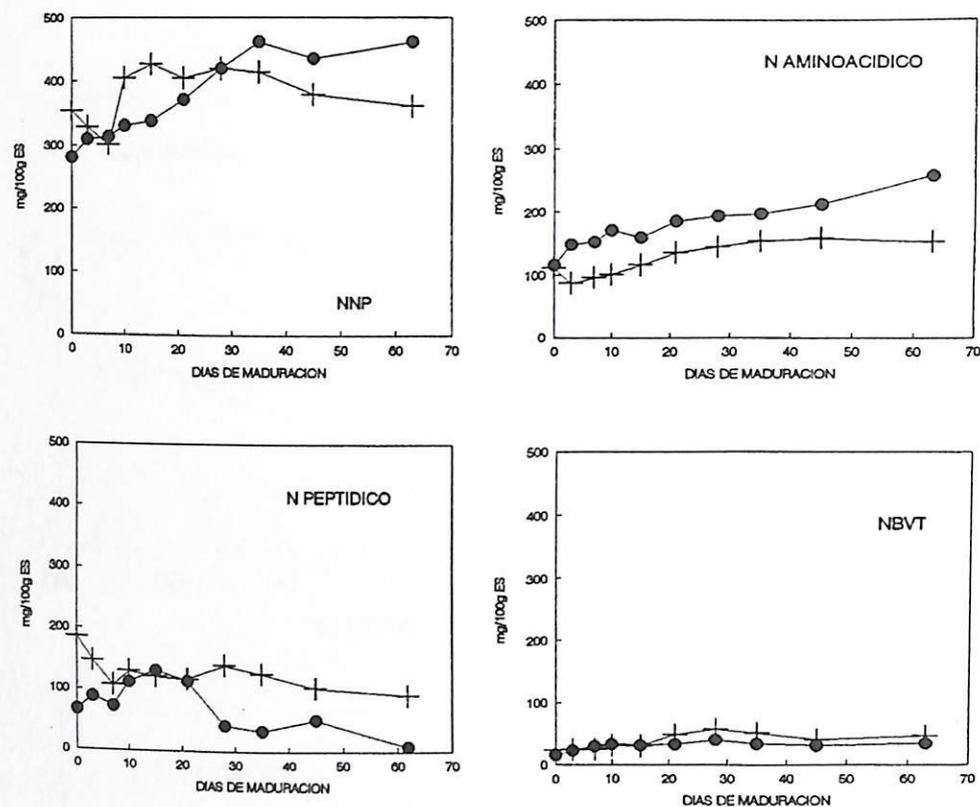


FIGURA 3

Evolución del nitrógeno no proteico (NNP), nitrógeno amoniacido, nitrógeno peptidico y nitrógeno básico volátil total (NBVT) en dos lotes de chorizos artesanales.

En los chorizos elaborados industrialmente la tasa de aminoácidos libres es máxima durante los 7 primeros días de maduración; observaciones similares han sido realizadas por Körmeny y Gantner¹⁹ y Dierick y col.⁹ en diversos embutidos desecados. Esta máxima producción de aminoácidos libres coincide con el período en que el metabolismo de los hidratos de carbono y el crecimiento bacteriano son máximos. En el caso de los embutidos artesanales, se produce un aumento en el nitrógeno amoniacido a un ritmo similar a lo largo del período madurativo.

Son muy escasos los trabajos en los que se ha estudiado la evolución del nitrógeno peptidico a lo largo de la maduración de los embutidos fermentados, solamente Dierick y col.⁹ lo han realizado en embutidos belgas. A pesar del diferente comportamiento de cada uno de los lotes, resulta evidente que durante la maduración de los chorizos existe un descenso en la tasa de este tipo de nitrógeno, fundamentalmente

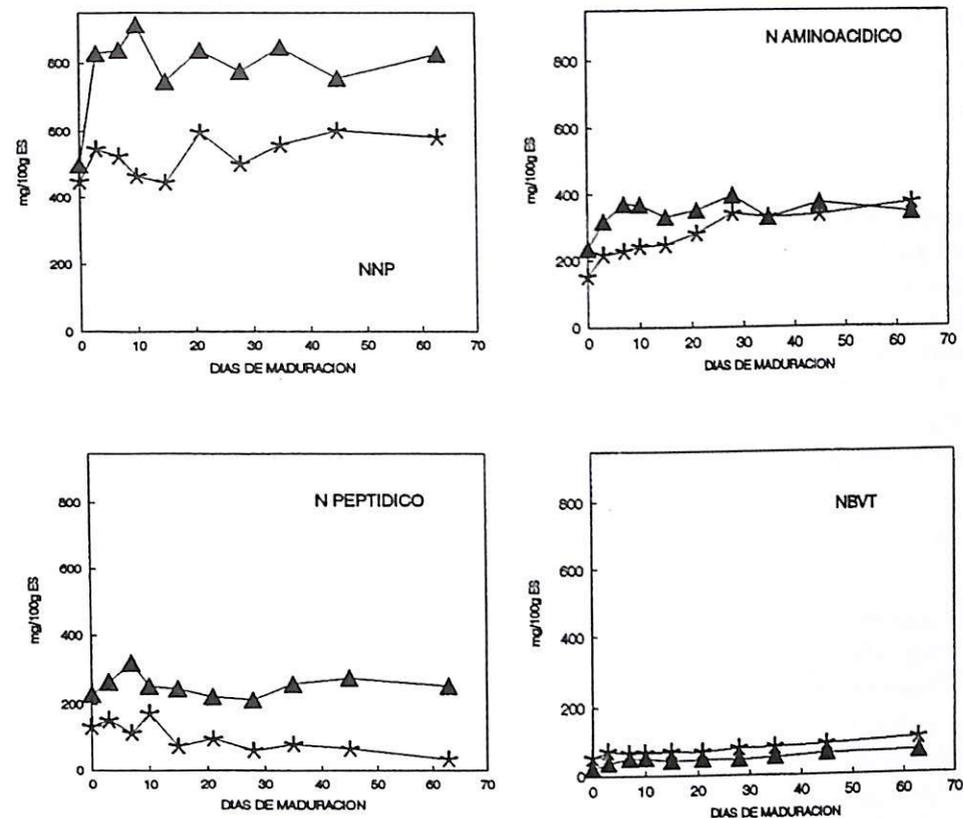


FIGURA 4

Evolución del nitrógeno no proteico (NNP), nitrógeno amoniacido, nitrógeno peptidico y nitrógeno básico volátil total (NBVT) en dos lotes de chorizos industriales.

en la etapas finales de la maduración, debido probablemente a su transformación en aminoácidos libres. Dierick y col.⁹ también observaron tanto el citado descenso como un aumento en la tasa de péptidos en los primeros días de la maduración, que en nuestro caso se ha puesto de manifiesto en 3 de los 4 lotes estudiados.

Aunque en todos los lotes de chorizos analizados se observa un aumento del NBVT, el comportamiento es distinto en los industriales que en los de elaboración artesanal. En estos últimos se observa un aumento hasta el día 28 de la maduración para luego descender paulatinamente. Este descenso en los últimos períodos de la maduración ha sido también puesto de manifiesto por León Crespo y col.²⁰ en el salchichón español, que lo atribuyen a la volatilidad del NH_3 . En los embutidos de tipo industrial el aumento en el NBVT a lo largo de la maduración es constante, si bien se observa un rápido aumento en los primeros días del proceso madurativo; observaciones similares han sido puestas de manifiesto por Lois y col.²¹ en los chorizos y Cantoni y col.⁵ en el salami. Las diferencias observadas en ambos tipos de embuti-

dos, tanto en la evolución como en los valores finales, es muy probable que se deban al mayor contenido en aminoácidos libres en los embutidos industriales que servirían de sustrato para las reacciones de desaminación y a la propia actividad microbiana de cada tipo de embutido.

Los valores del NNP total determinado en el presente estudio son en la totalidad de las muestras superiores a los obtenidos al sumar las distintas fracciones nitrogenadas no protéicas cuantificadas por nosotros. Esta divergencia en los resultados es probable que sea debida a la presencia en los chorizos de otros compuestos nitrogenados no protéicos no analizados en el presente estudio, como es el caso de los nucleótidos y nucleósidos determinados en algunos tipos de embutidos^{9,20} y otros compuestos no α -aminoacídicos presentes en la fracción aminoácidos libres totales que no reaccionan con la ninhidrina. En este sentido, Dierick y col.⁹ consideran que el nitrógeno no α -aminoacídico de los embutidos por ellos analizados representa un 25% del total de los aminoácidos libres.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) ASTIASARAN, I., VILLANUEVA, R. y BELLO, J. (1990). Analysis of proteolysis and protein solubility during the manufacture of some varieties of dry sausage. *Meat Sci.*, **28**, 111-117.
- 2) BELLO, J., LARRALDE, J. y SÁENZ DE BURUAGA, M.I. (1974a). Estudio de las modificaciones protéicas que tienen lugar durante la curación de algunos derivados cárnicos 1: Curación del chorizo tipo Pamplona. *Anal. Bromatol.*, **XXVI**-3, 195-210.
- 3) BELLO, J., SÁENZ DE BURUAGA, M.I. y LARRALDE, J. (1974b). Estudio de las modificaciones protéicas que tienen lugar durante la curación de algunos derivados cárnicos. 2: Influencia de la materia prima en el proceso de curación del chorizo tipo Pamplona. *Anal. Bromatol.*, **XXVI**-3, 249-262.
- 4) CANTONI, C., D'AUBERT, S., BIANCHI, M.A. y BERETTA, G. (1975). Alcuni aspetti del metabolismo dei lattobacilli durante la maturazione degli insaccati stagionati (salami). *Ind. Aliment.*, **1**, 88-92.
- 5) CANTONI, C., D'AUBERT, J. y BRESCIANI, C.M. (1985). Microbiologia e biochimica della maturazione degli insaccati. *Scienze*, **10**, 87-95.
- 6) DE KETELAERE, A., DEMEYER, D., VANDEKERCKHOVE, P. y VERVAEKE, I. (1974). Stoichiometry of carbohydrate fermentation during dry sausage ripening. *J. Food Sci.*, **39**, 297-300.
- 7) DeMASI, T., WARDLAW, F., DICK, R. y ACTON, J. (1990). Nonprotein nitrogen (NNP) and free amino acid contents of dry, fermented and nonfermented sausages. *Meat Sci.*, **27**, 1-12.
- 8) DEMEYER, D.I. (1992). En "New Technologies for meat and meat products". Eds. Smulders, F.J.M., Toldrá, F., Flores, J. y Prieto, M. ECCEAMST. Utrecht. Holanda..
- 9) DIERICK, N., VANDEKERCKHOVE, P. y DEMEYER, D. (1974). Changes in nonprotein nitrogen compounds during dry sausage ripening. *J. Food Sci.*, **39**, 301-304.
- 10) DOMÍNGUEZ, M.C. y ZUMALACÁRREGUI, J.M. (1991). Lipolytic and oxidative changes in "chorizo" during ripening. *Meat Sci.*, **29**, 99-107.
- 11) FERRER, J. y ARBOIX, P. (1986). The salchichon of Vich (Vich sausage). II. Evolution of chemical parameters during the curing process and valoration of his organoleptic quality. *Proc. 32th Europ. Meet. Meat Res. Work.*, Ghent. Belgica., 279-281.
- 12) GARCÍA DE FERNANDO, G. y FOX, P. (1991). Study of proteolysis during the processing of a dry fermented pork sausage. *Meat Sci.*, **30**, 367-383.
- 13) GARRIGA, M., CALSINA, M.D. y MONFORT, J.M. (1986). Study of proteolysis during the curing of dry sausages manufactured with good quality pork. *Proc. 32th Europ. Meet. Meat Res. Work.*, Ghent. Belgica., 283-286.
- 14) HELANDER, E. (1957). On quantitative muscle protein determination. *Acta Physiol. Scand.*, **41**, Suppl. 141
- 15) JOHANSSON, G., BERDAGUÉ, J.L., LARSSON, M. TRAN, N. y BORCH, E. Lipolysis, proteolysis and formation of volatile components during ripening of a fermented sausage with *Pediococcus pentosaceus* and *Staphylococcus xylosus* as starter cultures. *Meat Sci.*, **38**, 203-218.
- 16) KLEMENT, J.T., CASSENS, R.G. y FENNEMA, O.R. (1973). The association of protein solubility with physical properties in a fermented sausage. *J. Food Sci.*, **38**, 1128-1131.
- 17) KLEMENT, J.T., CASSENS, R.G. y FENNEMA, O.R. (1974). The effect of bacterial fermentation on protein solubility in a sausage model system. *J. Food Sci.*, **39**, 833-835.
- 18) KLEMENT, J.T., CASSENS, R.G., FENNEMA, O.R. y GREASER, M.L. (1975). Effect of direct acidification and heat on the solubility of protein extracts from a fermented sausage mix. *J. Animal Sci.*, **41**, 554-559.
- 19) KÖRMENDY, L. y GANTNER, G. (1962). Über freie aminosäuren bei der roh-wurdtreifung. *Die Fleischwirtsch.*, **8**, 774-780.
- 20) LEÓN CRESPO, F., MILLAN, R. y SERRANO MORENO, A. (1978). Cambios químicos durante la maduración del salchichón. 3. Modificaciones experimentadas por los compuestos nitrogenados solubles en agua. *Archivos de Zootecnia*, **27**, 1-12.
- 21) LOIS, A.L., GUTIÉRREZ, L.M., ZUMALACÁRREGUI, J.M. y LOPEZ, A. (1987). Changes in several constituents during the ripening of "chorizo" - A spanish dry sausage-. *Meat Sci.*, **19**, 169-177.
- 22) LÜCKE, F.K. (1985). En "Microbiology of fermented food" vol.2. Ed. B.J.B. Wood Elsevier Applied Science. Londres. Inglaterra.
- 23) MOORE, S. y STEIN, E.H. (1948). *J. Biol. Chem.*, **176**, 367.

- 24) PEARSON, J. (1968). Assessment of meat freshness in quality control employing chemical techniques: a review. *J. Sci. Food Agri.*, **19**, 357-369.
- 25) REUTER, G., LANGNER, H.J. y SINELL, H.J. (1968). Development of microflora in quick-ripening germany dry sausage and analogous quantitative aminoacids analysis in a salami. *Die Fleischwirtsch.*, **48**, 170-176,
- 26) TOLDRA, F. (1992). En "New Technologies for meat and meat products". Eds. Smulders, F.J.M., Toldrá, F., Flores, J. y Prieto, M. ECCEAMST. Utrecht. Holanda.
- 27) WARDLAW, F.B., SKELLEY, G.C., JOHNSON, M.G. y ACTON, J.C. (1973). Changes in meats components during fermentation meat processing and drying of a summer sausage. *J. Food Sci.*, **38**, 1228-1231.

INVESTIGACIÓN SOBRE CANGREJOS DE RÍO EN LA UNIVERSIDAD DE LEÓN.

(FRESHWATER CRAYFISH RESEARCH AT THE UNIVERSITY OF LEÓN, SPAIN).

*J. D. Celada Valladares**
*J. M. Carral Llamazares**
*M^a. Sáez-Royuela Gonzalo**
*V. R. Gaudioso Lacasa**
*M^a. C. Muñoz Asenjo**
*J. R. Pérez Blanco**

Palabras clave: Cangrejo de río, investigación, Universidad de León.
 Key words: Freshwater crayfish, research, University of León.

SUMMARY

After the last great outbreaks of aphanomycosis in Europe, the need to produce astacids under controlled conditions has become obvious, in order to make the availability of animals for both restocking in natural habitats and for human consumption possible. Taking this situation into account, the aquaculture research team, at present located in the Department of Animal Production II in the Faculty of Veterinary Sciences in León, has been developing an overall research program including the study of astacids in natural habitats and restocking practices as well as the performance and improvement of techniques of controlled production, mainly focused on *Pacifastacus leniusculus* and *Austropotamobius pallipes*. Within this context, surviving populations from the aphanomycosis epizooty have been studied and restocking possibilities have been evaluated. With regard to culture techniques, the efforts point to the knowledge of the reproductive processes (mating, spawning, egg development), the improvement of the reproductive efficiency on maternal incubation, the performance of suitable techniques of artificial incubation, the design of systems for the storage and transport of eggs and the increase of juvenile survival and growth rates.

* Dpto. de Producción Animal II, Facultad de Veterinaria, Universidad de León.
An. Fac. Vet. 1992-1994, 38, 55-70