


Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Exactas
Departamento de Química

PROCESOS DIFUSIONALES
EN EL CURADO DE CARNE

Tesis Doctoral

Natalia Gisel Graiver
2006

TESIS
No 1132

<p>(043.2) TESIS 01132</p>	<p>Universidad Nacional de La Plata Facultad de Ciencias Exactas Biblioteca 50 y 115 1° subsuelo biblioteca@exactas.unlp.edu.ar Tel 0221 422-6977/79 int. 129</p>  <p>DEX-58394</p>
------------------------------------	--

DONACION.....

A.....

Fecha..... 13-07-07

Inv. E..... Inv..... B..... 58394

El presente trabajo de Tesis Doctoral para optar por el título de Doctor de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata fue realizado en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, bajo la dirección de la Dra. Noemí Zaritzky y co-dirección de la Dra. Alicia Califano.

A Mati, Jere y Abi.
A mis abuelos y padres.

A la Dra. Noemí Zaritzky por haberme dirigido durante el desarrollo de la tesis. Por brindarme todo su apoyo, experiencia, predisposición y sobre todo por su esfuerzo en la corrección de esta Tesis.

A la Dra. Alicia Califano por haberme dado su apoyo y colaboración para la realización de este trabajo.

A Adri con quien compartí triunfos y dificultades, por su colaboración y experiencia, por su apoyo y por su amistad.

A Lore, Alba, Adri, Ale, Marina y Marina, por su colaboración en las cosas de cada día, por los momentos compartidos, por escucharme en todo momento, por los consejos, por estar siempre dispuestas a ayudarme y por su amistad.

A Miriam por haber compartido mis primeros años de beca y por sus consejos.

A Mica, Alejandro, Elisa, Edgardo por compartir conmigo buenos momentos en el laboratorio, y por estar siempre dispuestos a ayudarme y aconsejarme.

A Norita por haberme orientado y aconsejado en muchas oportunidades.

A Manuel con quien compartí alegrías y dificultades durante los primeros años.

A todos mis compañeros de cátedra por ayudarme en lo que necesite y por su amistad. Gracias por todos los consejos. Gracias Fer! Gracias Ana!

A Sara, Natalia, Diana y Ana Laura por su buena onda, colaboración y predisposición.

A Sara y Arturo por su orientación en las experiencias del DSC.

A Caffa por resolver todos los problemas que surgen en la computadora.

A Silvina, Laura, Estela, Gabi y Vicky por las charlas y momentos compartidos.

A mis compañeros del CIDCA, a todos y cada por su apoyo y compañerismo.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y a la Universidad Nacional de La Plata por haberme otorgado las becas que me permitieron realizar este trabajo.

A Abi por su paciencia infinita y por toda la colaboración, la comprensión y la fuerza que me da y me dio para seguir adelante con el trabajo de Tesis.

Índice

Capítulo 1: Introducción

1.1 Consideraciones generales acerca del proceso de curado de carnes.....	1
1.2 Curado de la carne.....	3
1.3 Tejido muscular.....	9
1.3.1 Constitución química y bioquímica del músculo.....	9
1.3.2 Características generales de los músculos.....	11
1.4 Cambios en el músculo postmortem	21
1.5 Proteínas.....	22
1.5.1 Solubilidad de las proteínas musculares - Capacidad de retención de agua.....	22
1.5.2 Desnaturalización proteica. Su determinación por Calorimetría Diferencial de Barrido.....	26
1.6 Sales de curado.....	28
1.6.1 Cloruro de sodio.....	28
1.6.1.1 Funciones de la sal.....	28
1.6.1.2 Penetración de la sal en carne.....	29
1.6.1.3 Cuantificación de la sal.....	30
1.6.2 Nitritos y nitratos.....	31
1.6.2.1 Funciones.....	33
1.6.2.2 Toxicidad del nitrito.....	38
1.6.2.3 Cuantificación de nitrito.....	41

1.6.2.4 Valores límites.....	41
1.7 Efecto del curado sobre los microorganismos.....	41
1.8 Proceso difusivo.....	45
1.8.1 Modelo matemático.....	46
1.8.2 Antecedentes del modelado de la difusión salina en sistemas cárneos.....	48
1.9 Objetivos.....	50

Capítulo 2: Materiales y métodos

2.1 Materiales	53
2.1.1 Carne.....	53
2.1.2 Soluciones salinas utilizadas para determinar los coeficientes de difusión	53
2.2 Determinaciones analíticas.....	55
2.2.1 Determinación de nitrito.....	55
2.2.2 Determinación de nitrato.....	56
2.2.3 Determinación de cloruro.....	57
2.3 Observación microscópica del tejido cárneo.....	60
2.4 Actividad acuosa (a_w) del tejido.....	62
2.5 Análisis estadístico.....	63

Capítulo 3: Difusión de NaCl en tejido cárneo

3.1 Actividad acuosa (a_w) del tejido.....	64
3.2 Modelo matemático del proceso difusivo.....	66
3.3 Determinación del coeficiente de difusión del cloruro de sodio	69
3.3.1 Procedimiento experimental para determinar coeficientes de difusión en soluciones individuales de NaCl en el tejido cárneo.....	69
3.3.2 Valores experimentales de masa de NaCl incorporada en soluciones individuales a diferentes concentraciones.....	70
3.3.3 Valores experimentales de masa de NaCl incorporada en soluciones que incluían nitrito de sodio o nitrato de potasio.....	74
3.3.4 Resultados preliminares.....	76
3.4 Modificaciones sufridas por el tejido cárneo debido al proceso de incorporación de sales. Balances de materia en el tejido cárneo durante la inmersión en NaCl.....	77
3.4.1 Metodología.....	77
3.4.2 Planteo de los balances de materia en el tejido cárneo durante el proceso de curado.....	78
3.4.3 Análisis de la variación en el contenido de agua en el tejido cárneo.....	79
3.4.4 Análisis del contenido de NaCl en el tejido cárneo.....	84
3.4.5 Solubilización proteica.....	86
3.5 Análisis del efecto de NaCl en la microestructura de las fibras musculares por observación microscópica en SEM (Microscopía Electrónica de Barrido).....	88

3.6 Análisis de la desnaturalización proteica por efectos de NaCl a través de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).....	90
3.6.1 Metodología.....	90
3.6.2 Resultados y discusión.....	90
3.7 Estimación del coeficiente de difusión de NaCl en el tejido cárneo.....	96
3.8 Conclusiones.....	102

Capítulo 4: Difusión de NaNO_2 y KNO_3 en tejido cárneo

4.1 Estimación del coeficiente de difusión de nitrito de sodio y de nitrato de potasio.....	104
4.1.1 Metodología.....	104
4.1.2 Valores experimentales de nitrito de sodio y nitrato de potasio.....	105
4.2 Estimación del coeficiente de difusión de nitrito de sodio y de nitrato de potasio en soluciones que incluían cloruro de sodio.....	112
4.3 Cálculo de la difusividad efectiva del nitrito de sodio y del nitrato de potasio en soluciones de electrolitos aplicando la teoría de Stefan- Maxwell.....	123
4.3.1 Modelo matemático.....	123
4.3.2 Resultados y Discusión.....	126
4.4 Efecto del NaCl sobre la microestructura del tejido.....	130
4.4.1 Difusión de nitrito de sodio en muestras previamente sumergidas en cloruro de sodio.....	130
4.4.1.1 Metodología	130

4.4.1.1 Resultados y discusión.....	130
4.4.2 Análisis por microscopía electrónica de barrido.....	135
4.3 Conclusiones.....	137

Capítulo 5: Simulación numérica de la incorporación simultánea de NaNO₂, KNO₃ y NaCl en tejido cárneo.

5.1 Desarrollo del modelo numérico.....	139
5.2 Alimentación de parámetros al modelo numérico.....	145
5.2.1 Aporte convectivo de solutos.....	145
5.2.2 Coeficiente de transferencia de materia en la solución de inmersión.....	147
5.2.3 Efecto de la concentración de NaCl en los coeficientes de difusión de las sales de curado en el tejido cárneo.....	147
5.3 Validación experimental del modelo.....	150
5.4 Cálculo de las concentraciones medias en el modelo.....	155
5.5 Comparación de los resultados el modelo con los datos experimentales.....	156
5.6 Perfiles de concentración.....	160
5.7 Características del producto curado comercial.....	164
5.8 Optimización del proceso de curado.....	164
5.9 Conclusiones.....	167
Conclusiones generales.....	169

Apéndice.....172

Referencias.....185

Capítulo 1

Introducción

1.1 CONSIDERACIONES GENERALES ACERCA DEL PROCESO DE CURADO DE CARNES

La provisión de alimentos ha sido una de las principales preocupaciones para el hombre desde el comienzo de los tiempos. La producción, el procesado y la distribución de los mismos ha evolucionado paralelamente a la civilización. El aumento y la expansión de la población mundial, junto con la necesidad de mejorar la calidad de vida hacen que se busque el máximo aprovechamiento posible de los recursos naturales. Uno de los objetivos principales del tratamiento de alimentos destinados al consumo es mejorar su calidad y conseguir una mayor vida útil, además de lograr una atractiva presentación para el consumidor.

Debido a esto se ha logrado optimizar el rendimiento de alimentos tanto de origen animal como vegetal, reduciendo al mínimo las pérdidas originadas por microorganismos y procedimientos deficientes. Como resultado se incluye la obtención de alimentos suplementarios a partir de cereales, legumbres, proteínas de pescado y de soja. Estos avances son para el mercado de productos de origen animal una agresiva competencia que obliga al mejoramiento de su procesado y su calidad.

Debido a que Argentina es uno de países exportadores de carne por excelencia, y que tradicionalmente el consumo de carne por habitante es elevado, esto hace que también los productos cárnicos sean de importancia en el mercado interno del país. En vista del papel clave de la carne y de otros productos de esta procedencia en la dieta de la mayoría de la población y de su importancia en el aporte de proteínas de alta calidad, minerales y vitaminas, la demanda de carne es alta.

En nuestro país existen reglamentaciones y regulaciones municipales, provinciales y nacionales sobre la faena de animales para carne y la elaboración de productos y subproductos; generalmente las reglamentaciones

municipales y provinciales se basan en las nacionales, pero con exigencias menores. En 1968 el SENASA, en ese entonces “Servicio Nacional de Sanidad Animal” dependiente de la Secretaría de Agricultura y Ganadería de la Nación (hoy en día Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria, dependiente de la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos de la Nación), publicó el “Reglamento de Inspección de productos, subproductos y derivados de origen animal (Decreto N° 4238/68) que es el primer compendio de todas las regulaciones sobre los productos de origen animal y define las condiciones de faena, producción y almacenamiento de la carne de animales de distintas especies y de los productos derivados. Este Reglamento, con numerosas modificaciones y ampliaciones, rige hasta nuestros días, y dedica el Capítulo XV a los productos cárnicos en el que se incluye los requisitos de construcción del establecimiento, los requisitos higiénicos-sanitarios, y un detalle de los productos comprendidos en las salazones, coincidentes con los detallados en el Código Alimentario Argentino, que las incluye en su Capítulo VI (Alimentos cárneos y afines).

Desde 1996, la producción mundial de porcinos se encuentra estabilizada en valores cercanos a los 80 millones de toneladas. Argentina participa con un ínfimo porcentaje en el volumen en el ámbito mundial. La producción nacional se destina principalmente al mercado interno. El consumo local está dirigido a los fiambres casi exclusivamente, mientras que a nivel internacional se consume principalmente carne fresca. El total de cabezas faenadas en frigoríficos con habilitación nacional (SENASA) correspondiente al período de enero-octubre de 2005 asciende a 1.674.186 cabezas. Esta es superior en 19.3% a la registrada durante igual período del año 2004. Fueron exportadas durante el período enero/octubre de 2005, 1.516 tn de productos y subproductos porcinos. El volumen en cuestión resulta superior en un 23% al volumen exportado en el mismo período del año 2004; mientras que en valor es superior en un 121.8%, constituyendo del monto total exportado “Fiambres y Chacinados” el 15.9%. (Informe de carne porcina, Secretaría de Agricultura,

Ganadería, Pesca y Alimentos de la Nación, N°25 octubre 2005; Boletín de información porcina, dirección de ganadería diciembre de 2005 .

Un producto cárnico debe conjugar la capacidad de retener un alto valor nutritivo, flavor, color, aroma, un determinado contenido de grasa intramuscular, etc. Estos son factores que afectan el valor potencial de la carne para su ulterior procesado y también su aceptabilidad por parte del consumidor.

Mediante distintos métodos y procesos de conservación pueden prolongarse estas características ideales hasta que el producto llegue al consumidor.

1.2 CURADO DE LA CARNE

Históricamente, la conservación de la carne se lograba mediante la impregnación de la misma con cloruro de sodio. Su origen se desconoce, probablemente fue casual, pero básicamente consistía en poner las piezas cárneas en contacto con cristales de NaCl durante tiempos largos, logrando una penetración de la sal en el tejido y una deshidratación parcial del mismo. Este proceso se conoce con el nombre de curado en seco.

Con el transcurso del tiempo el procedimiento se fue perfeccionando añadiendo otras sustancias a la carne y hoy el término curado de la carne se refiere a la conservación y mejora del sabor del producto por adición de sal, salitre (nitrato, nitrito), azúcar y en algunos casos otros ingredientes saborizantes.

La utilidad del nitrato se descubrió a consecuencia de su presencia como impureza del cloruro de sodio empleado (Girard, 1991) A finales del siglo pasado se supo que en la carne y en las salmueras de curados de carne que contenían ion nitrato se formaba nitrito por reducción bacteriana del nitrato, y que el ión nitrito era el responsable de la formación del pigmento termoestable de las carnes curadas, presentando poder inhibidor frente a las bacterias.

La importancia del curado como medio de conservación ha disminuido a consecuencia del uso generalizado de la refrigeración, pero en cambio han adquirido mayor importancia factores tales como el sabor, color y rendimiento de los productos curados.

Procedimiento de curado

En nuestro país se elaboran distintos productos curados crudos tales como jamón, bondiola y panceta salada. Según los define nuestra legislación con el Código Alimentario Argentino (artículo 287, capítulo VI) se entiende por bondiola “una salazón preparada con músculos del cuello del cerdo, debiendo someterse a un proceso de maduración, una vez terminada la maduración, se envuelve o se introduce en una tela orgánica o plástica y se ata fuertemente”; se entiende por jamón crudo “una salazón preparada con el pernil del cerdo, con o sin hueso, debiendo someterse a un proceso de maduración”; y por panceta salada “una salazón preparada con trozos de tejido adiposo y muscular de la región abdominal del cerdo sometidos a la acción de la sal en seco, que puede concluirse con un ahumado natural”.

El proceso de curado es decisivo para la adecuada capacidad de conservación, estabilidad del color y formación del aroma en los productos curados crudos. Se conocen varios procedimientos de curado: curado en seco, curado húmedo e inyección de salmuera (Grau, 1965). Estas diversas formas de curado pueden hacerse individualmente o combinándolas entre sí.

La velocidad con que se curan las piezas de carne depende de la velocidad de difusión de los ingredientes del curado en los tejidos. La velocidad de difusión de los ingredientes del curado depende a su vez del método de aplicación de los mismos, del tamaño de la pieza de carne, de la cantidad de grasa de cobertura y de la temperatura, y determina el tiempo necesario para el proceso y la concentración adecuada de las sales en el tejido.

El curado más lento tiene lugar cuando los agentes de curado se aplican externamente por frotamiento en seco o en forma de salmuera de cobertura. Estos métodos se utilizan para curar panceta y recortes de carne para la fabricación de embutidos. La penetración de las sales de curado aplicadas externamente puede acelerarse bastante elevando la temperatura, aunque aumenta el riesgo de alteración bacteriana.

La penetración de los agentes de curado es mucho más rápida, y su distribución más uniforme, cuando se inyectan directamente en los tejidos. La salmuera en que se introduce la carne durante el curado suele tener una concentración de cloruro de sodio de 140-150 g/L, en contraste con la que se le inyecta, que tiene mayor concentración, aproximadamente 240 g/L (Bard y col. 1976). La elaboración de jamones curados se efectúa a partir de piezas enteras o de partes del jamón.

En la salazón de estas piezas grandes, que dura varias semanas debido al gran contenido salino, se detiene la actividad bacteriana y enzimática, y, sin embargo, se producen continuamente modificaciones en las proteínas cárnicas, lo que lleva consigo la aparición de aromas muy apreciados.

El curado húmedo se realiza por inmersión de las piezas de carne en salmuera. Aplicando el curado en húmedo se acorta el tiempo de proceso y se distribuyen mejor las sales, pero se requiere práctica en su utilización.

A partir de información suministrada por empresas que elaboran en nuestro país bondiola se presenta un modelo de diagrama de producción típico:



Fase 1. Recepción de materias primas

En esta fase tiene lugar la recepción de los diferentes ingredientes que van a entrar en la composición del producto final, es decir la materia prima cárnica y la mezcla de sal empleada en la salazón.

Se utiliza la Bondiola sin hueso que es el corte de carne porcina que limita hacia la parte anterior con la cabeza, hacia la posterior con las costillas y el tocino y hacia la póstero-inferior con la paleta. La base muscular es: largo del cuello, intertransversos del cuello, trapecio cervical, romboides cervical, serrato cervical, esplenio, complejo, multífido cervical.

El peso de las bondiolas pueden variar entre 2.0 –3.5 kg. Las dimensiones de las mismas oscilan entre 10-12 cm el diámetro y entre 26-30 cm el largo.

Fase 2.- Refrigeración

Tras la recepción de las materias primas e ingredientes, se procede a su refrigeración, hasta el momento de su procesamiento.

Fase 3.- Acondicionamiento.

Antes de su inmersión en la solución salina, las piezas cárnicas se someten a un acondicionamiento previo, consistente en un conjunto de operaciones de preparación de las mismas para su uso en el proceso de fabricación. Tales operaciones pueden ser el calibrado, desangrado mediante masaje, deshuesado, limpieza, etc. o una combinación de cualquiera de ellas.

Fase 4.- Clasificación.

Debido a que las piezas no guardan un tamaño y características uniformes, es muy recomendable la clasificación de las piezas, puesto que se conseguirán mejores resultados en el proceso de elaboración, especialmente en la fase de salazón de las piezas, ya que dependiendo del peso de las

mismas, así como de la cantidad de grasa que tengan, variará el tiempo de salazón.

Fase 5.- Salazón.

Una vez acondicionadas las piezas, se procede a su tratamiento con sal para su penetración en la masa del producto.

El curado por inmersión se realiza por un tiempo de 6 días a una temperatura entre 0 y 6 °C, siendo la óptima entre 5 y 6 °C.

Una formulación típica de la solución de curado está constituida por nitrato de potasio 2.5 g/L, nitrito de sodio 3 g/L, NaCl 140 g/L y saborizantes (nuez moscada 2.5 g/L, laurel 2.5 g/L y pimienta 2.5 g/L).

Fase 6

Se extraen las piezas de la salmuera, se realiza la determinación del contenido de cloruro y se procede a colocar cada producto en una redecilla.

Fase 7 Secado

Después se procede a secar las piezas cárnicas durante 1 día a una temperatura entre 10-14 °C y a continuación se colocan en un horno estático durante 4hs a una temperatura de 60°C (hasta que el interior alcanza una temperatura de 50°C). Luego se continúa el secado en secadero a 10-12°C.

Fase 8 Almacenamiento

Una vez que el producto ha sido acabado será almacenado en un local a una temperatura adecuada (entre 6-10°C), dejando las piezas en maduración por aproximadamente 10 días. Una vez concluida la maduración se envuelve o se introduce en una tela orgánica o plástica y se ata fuertemente, y el producto queda listo para la venta. El contenido de humedad final del producto es aproximadamente del 50% y el contenido de NaCl final es 2.5-3%. La bondiola tiene un $a_w = 0.834$ a 25°C.

Muchos de los fenómenos que en la salazón seca sólo ocurren en la carne, en la salazón húmeda transcurren también en la salmuera. En ella se desarrollan bacterias de gran interés para el proceso de salazón.

Durante la salazón húmeda, las sustancias solubles de la carne pasan en gran cantidad a la solución, hasta llegar a establecerse un equilibrio. Por ello, en las salmueras normalmente empleadas se encuentran proteínas solubles, sales y vitaminas en cantidades considerables procedentes de la carne. El color de la carne se debe básicamente a la presencia del pigmento muscular mioglobina, cuyo contenido en la carne de cerdo es muy bajo; no obstante, la mioglobina de la musculatura del jamón experimenta un aumento paulatino al reducirse el contenido acuoso, al tiempo que al incrementarse la concentración de sal se producen modificaciones químicas que dan lugar a una coloración roja intensa durante el curado.

En este tipo de curado húmedo es en el cual focalizamos esta tesis doctoral, ya que para la industria es importante y necesario conocer el tiempo necesario para alcanzar la concentración de sales deseadas.

1.3 TEJIDO MUSCULAR

1.3.1 Constitución química y bioquímica del músculo

En la **Tabla 1.2** se detalla la distribución de los distintos componentes de la carne porcina.

Tabla 1.2: Composición de carne porcina fresca, sin huesos, separada la porción magra de la grasa. (USDA National Nutrient database for standard reference, 2004, Nutrient data laboratory , Agricultural Research service, accedido 5-5-05).

Nutriente	Valor por cada 100 g de producto comestible
Agua	71.29 g
Energía	144 Kcal, 604 KJ
Proteína	21.35 g
Lípidos totales (grasas)	5.89 g
Cenizas	1.45 g
Carbohidratos (por diferencia)	0.00 g
Fibra (total dietaria)	0.0 g
Azúcar total	0.00 g
Minerales	Calcio 8 mg, hierro 0.57 mg, magnesio 24 mg, fósforo 264 mg, potasio 454 mg, sodio 178 mg, zinc 1.43mg, cobre 0.052mg, manganeso 0.000 mg, selenio 24.6 mcg.
Vitaminas	Vitamina C 0.0 mg, tiamina 0.610 mg, riboflavina 0.140 mg, niacina 8.522 mg, ácido pantoténico 0.772 mg, vitamina B6 0.569.

La composición de la carne porcina varía con respecto a la vacuna. En términos generales puede decirse que la carne vacuna contiene aproximadamente un 75% de agua, un 18 % de proteína, un 3.5% de sustancias no proteicas solubles y un 3% de grasa (Lawrie, 1974; Ranken 1984).

1.3.2 Características generales de los músculos

Los músculos son tejidos u órganos del cuerpo animal caracterizado por su capacidad para contraerse, por lo general en respuesta a un estímulo nervioso. La unidad básica de todo músculo es la miofibrilla, estructura filiforme muy pequeña formada por proteínas complejas. Cada célula muscular o fibra contiene varias miofibrillas, compuestas de miofilamentos de dos tipos, gruesos y delgados, que adoptan una disposición regular. Cada miofilamento grueso contiene varios cientos de moléculas de la proteína miosina. Los filamentos delgados contienen dos cadenas de la proteína actina. Las miofibrillas están formadas de hileras que alternan miofilamentos gruesos y delgados con sus extremos solapados. Durante las contracciones musculares, estas hileras de filamentos interdigitadas se deslizan una sobre otra por medio de puentes cruzados que actúan como ruedas. La energía que requiere este movimiento procede de mitocondrias densas que rodean las miofibrillas. Existen tres tipos de tejido muscular: liso, esquelético y cardíaco.

Tejido muscular esquelético o estriado

Este tipo de músculo está compuesto por fibras largas rodeadas de una membrana celular, el sarcolema. Los músculos esqueléticos están inervados a partir del sistema nervioso central, y debido a que éste se halla en parte bajo control consciente, se llaman músculos voluntarios. La mayor parte de los músculos esqueléticos están unidos a zonas del esqueleto mediante inserciones de tejido conjuntivo llamadas tendones. Las contracciones del músculo esquelético permiten los movimientos de los distintos huesos y cartílagos del esqueleto. Los músculos esqueléticos forman la mayor parte de la masa corporal de los vertebrados.

Estructura del músculo esquelético

La unidad estructural y funcional mínima del músculo esquelético es la fibra. El diámetro de la fibra varía entre 10 y 100 μm , son células cilíndricas muy largas (de hasta 30 cm), multinucleadas y estriadas transversalmente, como se observa en la **Figura 1.1**.

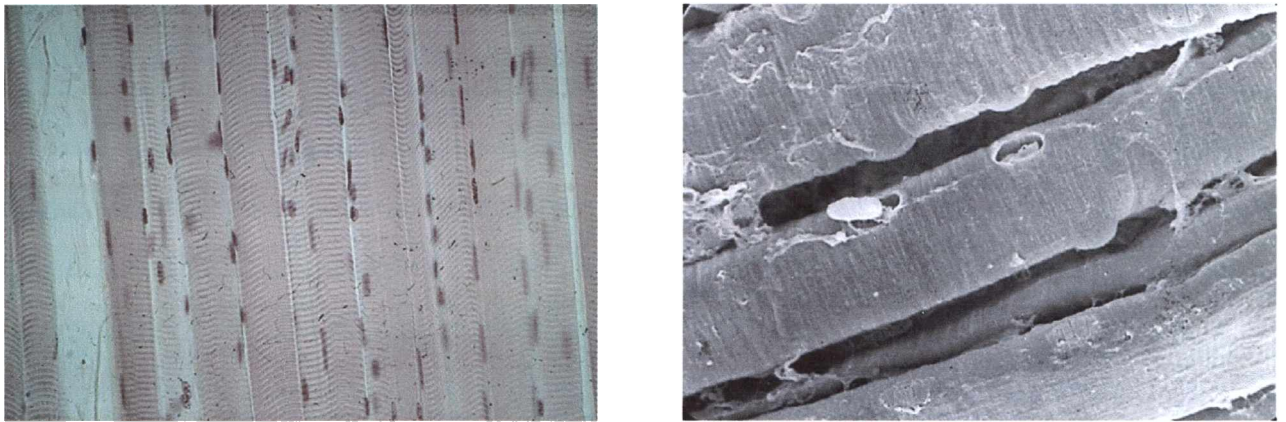


Figura 1.1: Micrografías del músculo esquelético, se observan las fibras que son células fusiformes alargadas que contienen muchos núcleos y estriás transversales.

Las fibras musculares se encuentran en haces o fascículos que a su vez forman los distintos músculos. Un músculo se rodea de una capa de tejido conectivo, el **epimisio**, que está más o menos entretelado con la fascia muscular circundante. El epimisio se extiende hacia adentro del músculo y rodea todos los fascículos formando el **perimisio**, que finalmente forma una vaina fina de fibras reticulares, el **endomisio**, rodeando cada fibra muscular, como puede observarse en la **Figura 1.2**. Los músculos están unidos al esqueleto por medio de los tendones, los cuales están unidos al epimisio. Además de unir las fibras musculares y los fascículos, las vainas de tejido conectivo permiten a cada fibra y fascículo el movimiento independiente.

Los vasos sanguíneos y los nervios atraviesan las vainas de tejido conectivo y penetran en el interior del músculo, estando cada fibra muscular rodeada de una rica red capilar.

Este espacio intersticial de las células musculares contiene tres proteínas extracelulares: colágeno, reticulina y elastina. El colágeno y la reticulina son constituyentes del endomisio, perimisio y epimisio. La elastina está principalmente asociada con los vasos sanguíneos, los capilares y el sistema nervioso, en la carne se encuentra en pequeñas cantidades.

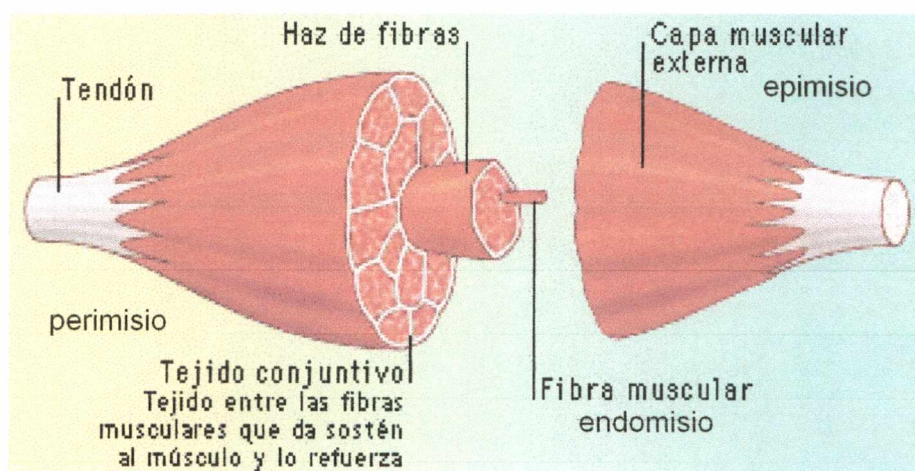


Figura 1. 2: Esquema de un haz de fibras.

Cada fibra muscular contiene en el citoplasma fibrillas finas paralelas, con estrías transversales denominadas **miofibrillas** (Figura 1.3). Son pequeñas unidades estructurales y funcionales; pueden hallarse alrededor 2000 miofibrillas en cada fibra muscular. No presentan envolturas y los espacios entre ellas están ocupados por el citoplasma de la fibra muscular, llamado sarcoplasma, que contiene núcleos y mitocondrias y a través del cual transcurre una red tubulomembranosa que desempeña un rol importante en el proceso de excitación-contracción, denominada el sistema sarcotubular. Este sistema está formado por un sistema T y un retículo sarcoplasmático (Figura

1.4). El sistema T de túbulos transversos forma una rejilla perforada sobre la superficie de las fibras musculares individuales. La función del sistema T es la transmisión rápida del potencial de acción desde la membrana celular a todas las miofibrillas contenidas en la fibra muscular. La contracción de una fibra muscular requiere de la contracción simultánea de todas sus miofibrillas.

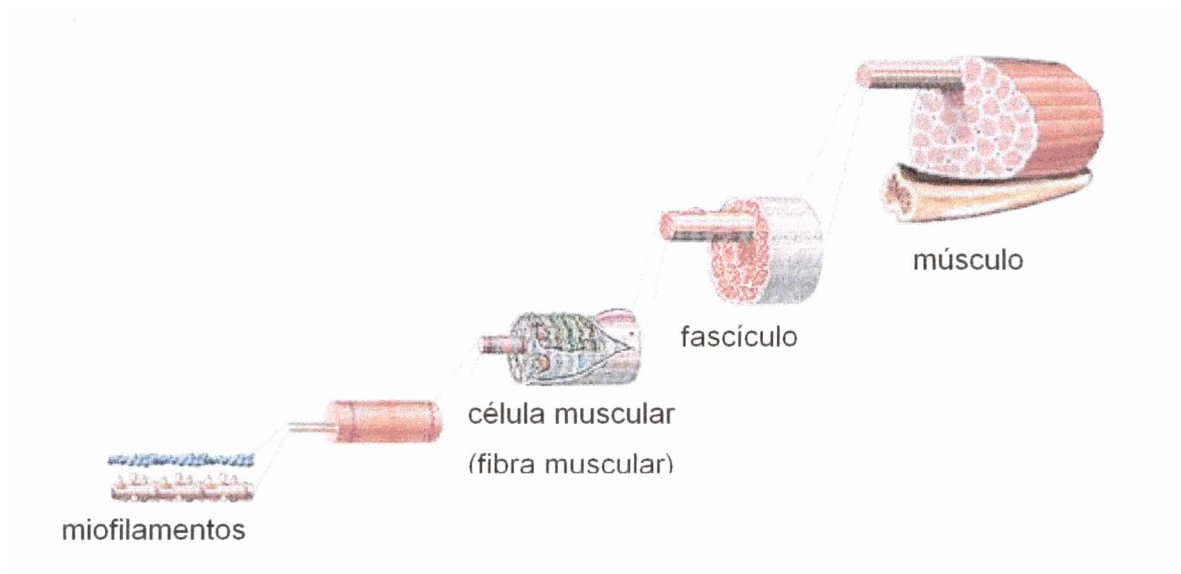


Figura 1.3: Esquema en el cual se observa la disposición de los miofilamentos en el músculo.

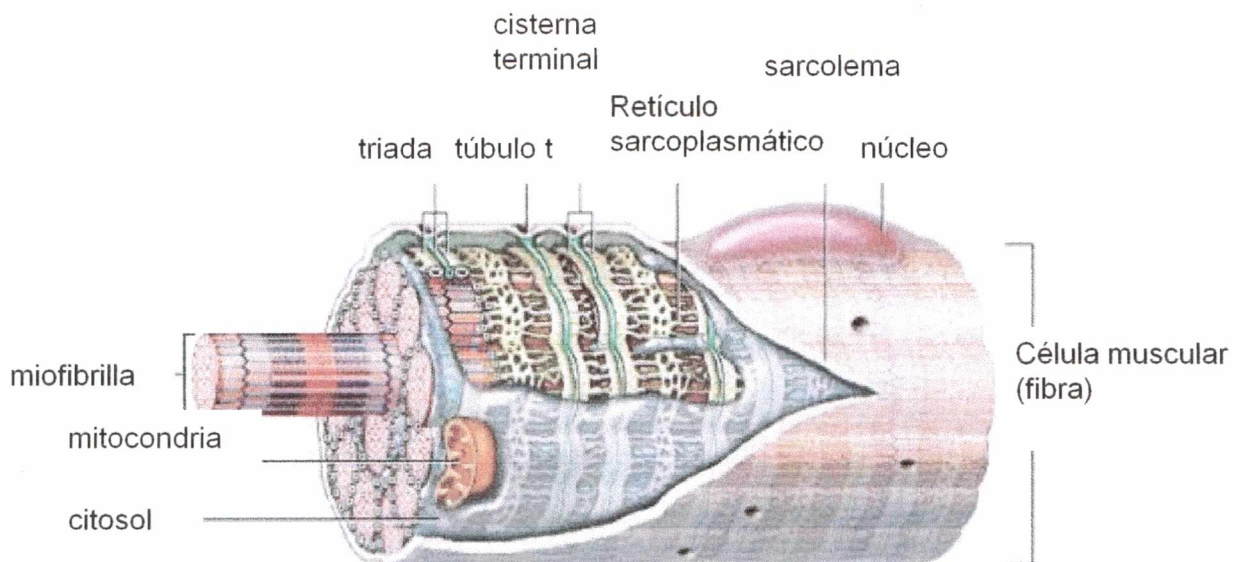


Figura 1.4: Diagrama que muestra las miofibrillas, el retículo sarcoplasmático que las envuelve y los sistemas membranosos de túbulos transversos.

Las miofibrillas están constituidas por distintas proteínas miofibrilares. Según sus roles fisiológicos y estructurales en el tejido vivo las proteínas miofibrilares pueden ser divididos en tres subgrupos: (a) el principal son las proteínas contráctiles las cuales son directamente responsables de la contracción del músculo y la estructura de la miofibrilla, (b) proteínas reguladoras relacionadas con el inicio y el control de la contracción y (c) proteínas citoesqueléticas las cuales proveen soporte estructural.

Cada miofibrilla consta de múltiples miofilamentos que son unas hebras delgadas o gruesas compuestas químicamente de dos proteínas especiales actina y miosina respectivamente. Los miofilamentos de una miofibrilla no abarcan toda la extensión de la fibra muscular sino que se dividen en compartimentos llamados sarcómeros.

La agrupación de miofilamentos delgados o de actina forman las bandas transversales claras de una miofibrilla y la agrupación de las segundas o de

miosina, las bandas oscuras, como puede observarse en la **Figura 1.5**. Las primeras se conocen también como bandas I y las segundas como bandas A. Estas bandas se alternan. Las banda I y A en conjunto se denominan sarcómero, éste constituye la unidad estructural funcional de la miofibrilla.

Un sarcómero está separado de los otros por zonas angostas de material denso que son las líneas Z. Los filamentos delgados se fijan en las líneas Z y se proyectan en ambas direcciones.

Cada banda A posee una zona transversal menor denominada banda H. En el interior de la banda H puede observarse una línea angosta denominada línea M.

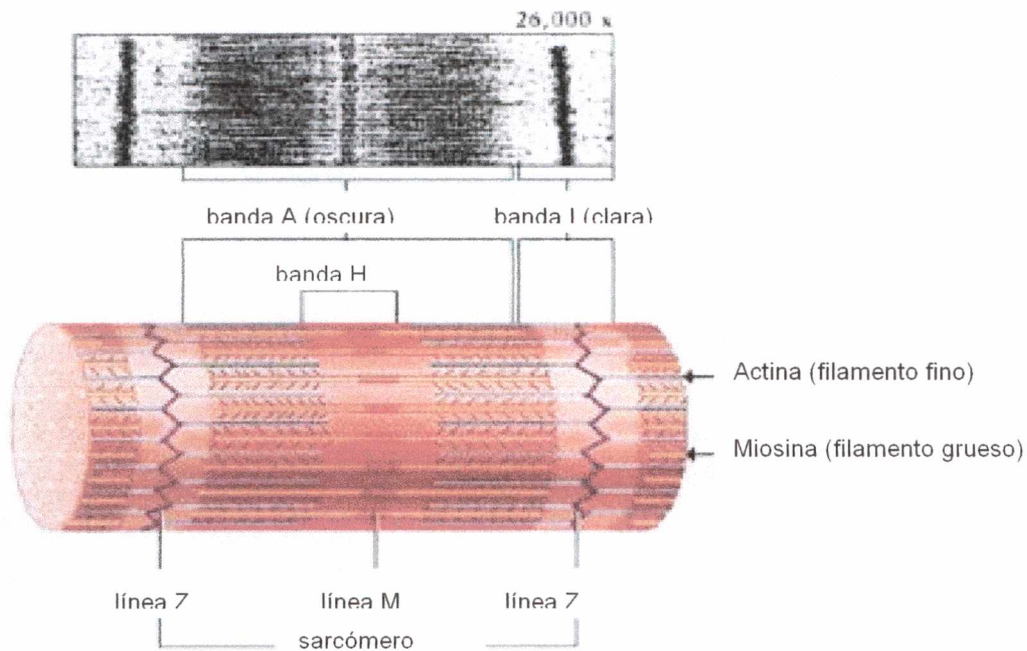


Figura 1.5: Fibra muscular estriada en corte longitudinal. La banda I está formada solamente por filamentos delgados. La banda A es más oscura está formada por el solapamiento de los filamentos gruesos y delgados y más clara en la zona H, donde está formada sólo por filamentos delgados. La línea M se debe a una protuberancia en el centro de cada filamento grueso.

Durante la contracción la longitud del sarcómero disminuye, ya que los filamentos de actina se deslizan más hacia el centro de la banda A, es decir los dos tipos de filamentos se superponen más. De este modo, la banda H y la banda I se hacen más angostas mientras que la banda A mantiene inalterada su longitud. La longitud de los filamentos gruesos y delgados no cambia durante la contracción muscular (**Figura 1.6**). Este mecanismo de contracción, denominado “hipótesis de deslizamiento de los filamentos” tiene como resultado total, que los discos Z se acercan entre sí, y toda la miofibrilla (y, por lo tanto, la fibra) se acorta (Geneser, 1990).

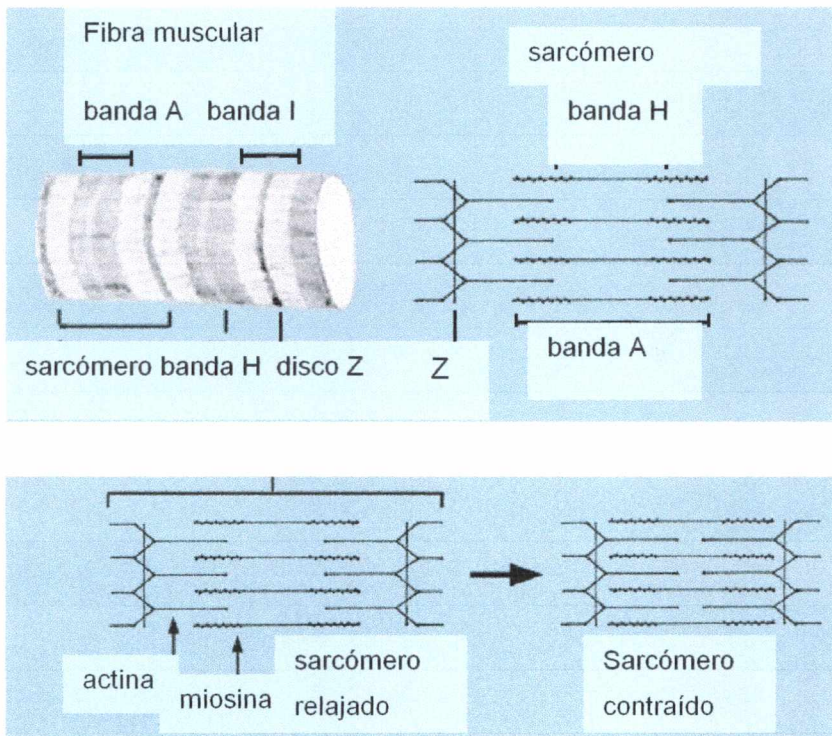


Figura 1.6: Esquema del sarcómero de la fibra muscular durante la contracción-relajación del mismo.

La miosina es la más abundante de las proteínas miofibrilares (43% de las proteínas miofibrilares), tiene un PM de 500000 y una longitud de 150 nm. Las moléculas de miosina se hallan constituida de dos subunidades: meromiosina liviana o L ("light", LMM), con forma de bastón y una longitud de 85 nm, y meromiosina pesada o H ("heavy", HMM). Esta última se compone de una parte en forma de bastón que se continúa en la parte LMM y una estructura doble globular terminal, la cabeza de miosina. La molécula de miosina es flexible, por lo que ambas subunidades pueden moverse una en relación con la otra (Xiong, 1997) (**Figura 1.7**).

Los filamentos de miosina se componen de moléculas de miosina densamente empaquetadas con las partes en forma de bastón paralelas al eje longitudinal del filamento. La cabeza de miosina está localizada en el extremo de la molécula con orientación opuesta a la línea M. Las cabezas de miosina se

distribuyen en forma de espiral a lo largo del filamento de miosina con una distancia de 42 nm entre cada giro. De esta manera se forman 6 hileras de cabezas de miosina en la superficie de miosina (**Figura 1.8**).

La otra proteína principal de la miofibrilla es la actina, la cual constituye un 22% de la masa miofibrilar. Puede existir en dos formas G-actina, que consiste en unidades globulares relativamente pequeñas (PM 70000) y F-actina constituida por las citadas unidades globulares agregadas una a continuación de la otra, como cadenas de perlas, formando una doble cadena. Las moléculas de G-actina polimerizan para formar F-actina en presencia de sales y pequeñas cantidades de ATP (**Figura 1.8**)

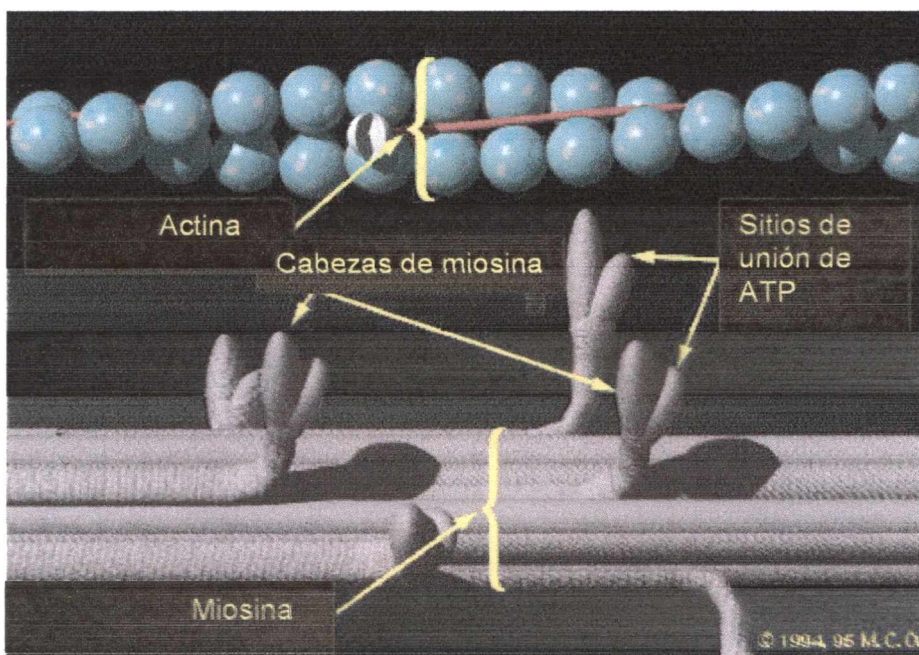
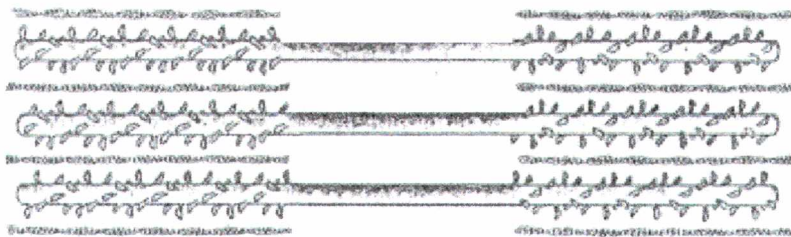
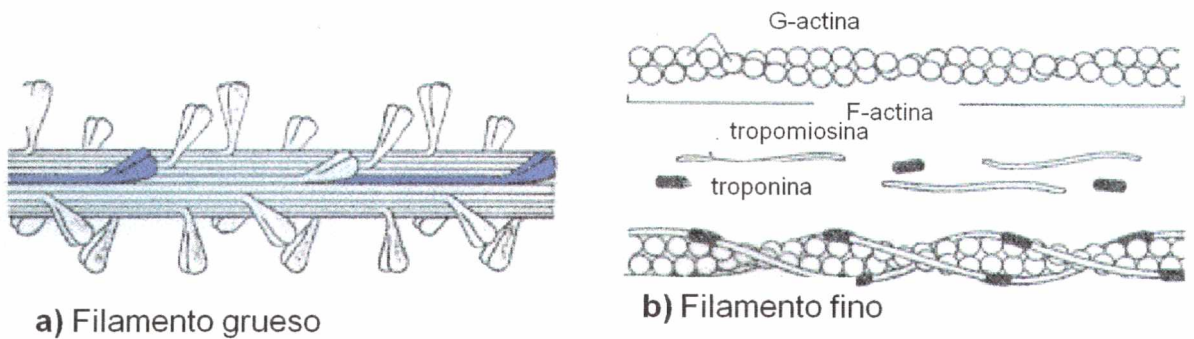


Figura 1.7: Esquema de actina y miosina.

Unidas a los filamentos de actina se encuentran ciertas proteínas reguladoras. Dos cadenas (enroscadas entre sí) de tropomiosina, que es una proteína de 40 nm de longitud, están localizadas en las hendiduras formadas

entre las dos cadenas del filamento de F-actina y localizada en un extremo de cada molécula de tropomiosina está la troponina.

Durante la instauración del rigor mortis la F-actina se combina con la miosina para formar cadenas rígidas de actomiosina (inextensible).



c) Sección longitudinal de los filamentos

Figura 1.8: a) Filamentos de miosina en los cuales se observa las cabezas de miosina distribuidas en forma de espiral a lo largo del mismo. b) Complejo de filamento delgado con tropomiosina en la doble hélice de actina. El complejo troponina está espaciado a 400 A. c) Sección longitudinal de los filamentos.

1.4 CAMBIOS EN EL MÚSCULO *POSTMORTEM*

La calidad final del producto depende de las principales modificaciones metabólicas que experimenta el animal, sus músculos, en los momentos inmediatos al sacrificio y de los consecuentes cambios físicos y químicos que acompañan al *rigor-mortis*. El lapso entre la muerte y la rigidez depende de las actividades relativas de las enzimas involucradas en la síntesis y consumo de energía. El consumo de energía (ATP) es acompañado por un consumo de oxígeno, pero cuando éste se agota el proceso se torna anaeróbico, dando lugar a la producción de ácido láctico.

Normalmente, la contracción de los músculos ocurre a través de una compleja serie de reacciones bioquímicas. Existe una demora en la instauración del rigor mortis que es única en cada especie (8-12 horas en carne vacuna, 2-6 horas en carne porcina, 6-10 horas en cordero y 1-2 horas en pollo) (Olson 1987). En general, mientras más grande es el animal, más larga es la instauración del rigor mortis. La edad del animal, su estado de nutrición, su constitución genética determinan la repuesta a estos cambios. Las condiciones de sacrificio deben ser óptimas. Uno de los procesos bioquímicos importantes que se manifiestan en el tejido muscular post mortem es la disminución del pH. Este descenso del pH (7.0 músculo vivo a 5.3-5.6 post mortem) se debe sobre todo a la hidrólisis del ATP, así como también a la acumulación de ácido láctico en el músculo, el cual, en el animal vivo, normalmente sería enviado al hígado por medio del flujo sanguíneo. Son importantes tanto la magnitud como la velocidad de cambio de pH. La velocidad del cambio de pH es importante, pues si el pH desciende suficientemente despacio mientras la temperatura de la res es todavía alta, por ejemplo pH 6.0 y 35 °C, se produce una considerable desnaturalización de las proteínas contráctiles y/o sarcoplasmáticas. Si las proteínas sarcoplasmáticas se desnaturalizan, se pueden adsorber a las proteínas contráctiles, modificando así las propiedades físicas de las mismas. Este fenómeno, junto con la

desnaturalización de las proteínas contráctiles, disminuye la capacidad de éstas de fijar agua (Foegeding, 2000). En los casos en que el pH del músculo disminuye más rápidamente que lo normal, el músculo porcino seguramente resultará ser pálido, suave y exudativo (PSE), un fenómeno particularmente marcado en la carne de cerdo. Es importante también el pH último o final que alcanza el tejido muscular. El pH último bajo proporciona resistencia al desarrollo microbiano y color normal. Ocurre a veces un pH último elevado, que puede ser producido por algún estrés *ante mortem*, casi siempre de naturaleza prolongada, que agota las reservas de glucógeno y limita la glucólisis *post mortem*. Esta es una situación común en el vacuno, que genera carne sea oscura, firme y seca (DFD). Los músculos de corte oscuro exhiben excelentes propiedades de retención de agua, pero tienen una pobre resistencia al desarrollo de los microorganismos. Como el pH alcanzado durante el rigor coincide con el punto isoeléctrico de muchas proteínas musculares, incluidas las miofibrilares, la capacidad de retención del agua del músculo es menor en estado *post mortem* que *in vivo*, incluso aunque las proteínas no se desnaturalicen.

Los cambios físico-químicos citados anteriormente se traducen en cambios de coloración, terneza y textura, que influyen directamente en las propiedades organolépticas del alimento.

1.5 PROTEÍNAS

1.5.1 Solubilidad de las proteínas musculares - Capacidad de retención de agua.

Las proteínas del músculo pueden clasificarse en: solubles en agua o soluciones salinas diluidas ($\mu < 0.1$; proteínas sarcoplásmicas), solubles en soluciones salinas concentradas (proteínas miofibrilares) e insolubles en

soluciones salinas concentradas, al menos a baja temperatura (proteínas del estroma o del tejido conectivo) (Sebranek, 1984; Morrissey, 1987; Xiong, 1997).

Las proteínas sarcoplásmicas constituyen aproximadamente 30-45% del total de proteína o el 5.5-5.6 % del peso total del músculo. Están localizadas en el sarcolema y son solubles a bajas concentración de sal (< 7.55 g/L KCl). La mioglobina es la proteína más importante de esta clase debido a que es la responsable del color y por lo tanto de la calidad. El punto isoeléctrico de estas proteínas se encuentran entre un valor de pH 6-7.

Las proteínas miofibrilares comprenden el 55-60 % del total de proteínas del músculo. La miosina es soluble fácilmente en solución de 30-50 g/L de NaCl. Las proteínas del estroma además de constituir el endomisio, perimisio y epimisio, y estar asociadas a los vasos sanguíneos, capilares y sistema nervioso, también se encuentran como constituyentes de las membranas en muchas organelas intracelulares. Sin embargo comparado con las proteínas del tejido conectivo, el contenido de las proteínas de la membrana son despreciables.

La solubilidad de las proteínas es afectada por las condiciones de sus alrededores como ser pH, temperatura, sales (concentración y especie de sal) y sus interacciones con otros componentes. La mínima solubilidad se observa en la zona del punto isoeléctrico de las proteínas (pH 5.2-5.3), pero la misma puede ser alterada por las sales las cuales modifican las fuerzas electrostáticas, la hidratación y los efectos estructurales del agua. La cantidad de agua unida a las proteínas se incrementa al aumentar la concentración del electrolito neutro en la solución de inmersión hasta 6-10 g/L resultando en un aumento de la solubilidad (salting-in). A altas concentraciones (~ 120 g/L) hay un descenso del agua ligada ya que los iones compiten con los grupos de las proteínas por el agua. La doble capa eléctrica alrededor de la molécula de proteína es suprimida. La conformación de la proteína es alterada resultando una "proteína con menos agua" y una probable precipitación (salting-out). Los efectos de la sal varían con las especies aniónicas y catiónicas y están

relacionados con el radio de hidratación de los iones de la sal. En general de acuerdo a la serie de Hofmeister, los siguientes cationes $\text{Ca}^{+2} > \text{Mg}^{+2} > \text{Li}^{+1} > \text{Cs}^{+1} > \text{Na}^{+1} > \text{K}^{+1} > \text{NH}_4^{+1}$ tienden a mejorar la solubilidad de las proteínas cuando son adicionados con el ion Cl^- , mientras que con el Na^{+1} los aniones $\text{SCN}^- > \text{ClO}_4^- > \text{I}^- > \text{NO}_3^- > \text{Br}^- > \text{Cl}^- > \text{CH}_3\text{COO}^- > \text{F}^- > \text{HPO}_4^{-2} > \text{SO}_4^{-2}$ tienen un comportamiento similar (Morrisey y col., 1987). El "Salting-out" es fuertemente dependiente de la hidrofobicidad de la proteína, mientras que el "salting-in" depende más de la distribución de la carga superficial y de las interacciones con el solvente.

En el procesado de la carne, donde se introduce, como anteriormente se dijo, sal en la formulación de los productos, las fibras musculares y las proteínas sufren cambios estructurales debido a la interacción electrostática entre las proteínas y los iones cloruro y sodio. La sal induce cambios en las miofibrillas que incluyen: (a) hinchamiento de las miofibrillas causada por la repulsión entre los filamentos, la cual puede ser observada por microscopía, (b) depolimerización de los miofilamentos, en especial de los filamentos gruesos y (c) disociación de la actina de la miosina o actomiosina desde la estructura miofibrilar, conduciendo a la extracción de miosina, actina y el complejo actomiosina y otras miofibrillas constituyentes, con un máximo en la extracción a una concentración de 58.5 g/L de NaCl (Offer y col., 1983, Parsons y col., 1990).

El efecto de la sal sobre la cantidad de agua retenida en la carne se debe principalmente al anión cloruro, ya que tanto los iones sodio como cloruro tiene un potencial de atracción con los sitios cargados de las proteínas, pero los iones cloruro están más cercanos, por lo cual el resultado global es una proteína cargada negativamente, y por consecuencia se produce un aumento en la repulsión proteica y un incremento en la cantidad de agua incorporada. También la adición de sal hace que el punto isoeléctrico de las proteínas se corra a valores más bajo de pH, ya que como ahora las proteínas están cargadas "más negativamente", más cantidad de protones (más acidez) es

requerida para alcanzar la carga neta cero, por lo cual el punto isoeléctrico de las proteínas de la carne disminuye de pH 5.2-5.3 a pH 4.5 (Sebranek, 1984).

La capacidad de la carne y de los productos cárnicos para retener la humedad antes, durante y después del procesado o de la cocción juega un rol crucial en el sabor y la aceptabilidad del producto por parte del consumidor y es usualmente descrito en términos de capacidad de retención de agua. Este término se utiliza para referirse a la capacidad de la carne a retener su propia agua así como adicionar agua durante el procesamiento (Xiong, 1997).

El principal componente estructural de la carne son las miofibrillas las cuales ocupan alrededor del 70% del volumen en las carnes magras. Las miofibrillas contienen alrededor de 20% de proteína, el resto es agua (Xiong, 1997). La mayor cantidad de agua en la carne está presente entre la miofibrillas, entre los espacios finos y gruesos de los filamentos. Se sabe que los espacios entre los filamentos no permanecen constantes, varían con el pH, longitud del sarcómero, fuerza iónica, presión osmótica y si el músculo está relajado o en rigor. Modificaciones en los espacios interfilamentosos originan cambios en la capacidad de retención de agua en la carne.

En términos generales es razonable suponer que la incorporación de agua por las miofibrillas ocurre por una expansión de los filamentos, debido a un incremento de las fuerzas repulsivas.

Se ha observado que la capacidad de retención de agua de la carne de diferentes especies varía considerablemente. En general la carne de cerdo tiene mayor capacidad de retención de agua que la carne de bovina (Bowell, 1976). La capacidad de retención de agua de la carne de la misma especie varía considerablemente, siendo mayor la variación en los cerdos que en los bóvidos. Esto se debe a que en los músculos de cerdo las fluctuaciones de pH son mayores y a que el descenso del pH ocurre rápidamente post-mortem (Bowell, 1976).

1.5.2 Desnaturalización proteica. Su determinación por Calorimetría Diferencial de Barrido.

Fundamento de la calorimetría diferencial de barrido

Muchos de los cambios que se producen en los productos alimenticios involucran la toma o cesión de energía (congelación de agua, cambios de fase en lípidos, desnaturalización de proteínas, gelatinización de almidón). Estos cambios pueden detectarse mediante la técnica conocida como calorimetría diferencial de barrido (DSC).

Con esta metodología, la muestra que se ensaya y una muestra de referencia se someten a un calentamiento controlado; la diferencia de flujo calórico necesario para mantener la muestra y la referencia a una misma temperatura se determina mediante termosensores y se registra con un dispositivo adecuado. Si en la muestra tiene lugar una transformación acompañada de un cambio de entalpía, el área por debajo de la curva flujo calórico versus temperatura obtenida por el equipo sirve de medida para dicho cambio.

La muestra y la referencia son colocadas en cápsulas de aluminio selladas herméticamente y están ubicadas en la celda. La capacidad de las cápsulas es de 10 a 20 μl , pudiendo soportar presiones de hasta 2-3 atmósferas. Es necesario que la muestra esté finamente dividida para un óptimo contacto con la superficie de la cápsula; en el caso de trabajar con muestras con alto contenido de agua este requerimiento se ve facilitado.

La calibración del instrumento se lleva a cabo generalmente con sustancias de alta pureza, de entalpías y punto de fusión perfectamente conocidos. El más utilizado es el indio (ΔH fusión = 28.424 J/g; punto de fusión = 156.4 °C, ASTM 968-83).

La determinación de la entalpía del proceso bajo estudio requiere la medición del área de la endo o exoterma. Esto presenta a veces dificultades ya

que la línea de base puede no ser horizontal debido a las diferencias de calor específico entre la muestra y la referencia, asimismo el pico generalmente no es simétrico.

El área medida se relaciona con el cambio entálpico mediante una serie de constantes y se refiere a la masa de muestra.

La calorimetría diferencial de barrido es una poderosa técnica para estudiar la estabilidad de las proteínas y ofrece un método para estudiar la desnaturalización de las proteínas miofibrilares del tejido muscular *in situ* (Stabursvik y col., 1983; Barbut y Flindlay, 1991; Thorarinsdottir y col., 2002). Las tres transiciones más importantes en carne ha sido atribuida para la proteínas del músculo de la siguiente manera: 54-58°C, miosina; 65-67 °C, miosina, proteínas sarcoplasmáticas y colágeno; 71-83°C actina, como actomiosina y como subfragmentos de F y G (Starbursvik y Martens, 1980; Wright y Winding, 1984; Findlay y col., 1986).

Diversos autores estudiaron el efecto del NaCl en la desnaturalización de las proteínas utilizando diversas técnicas (electroforesis, calorimetría diferencial de barrido). En la literatura hay disparidad de opinión respecto a los termogramas de DSC correspondientes a las proteínas miofibrilares por efecto del tratamiento con NaCl.

Existen trabajos referidos a la desnaturalización proteica en diferentes sistemas y especies : músculo de pollo y miofibrillas aisladas de pollo, músculo de conejo, músculo porcino, músculo vacuno, emulsiones cárnicas y distintos pescados (Wright y col., 1977; Quinn y col., 1980; Stabursvik y Martens, 1980; Kijowski y col., 1988; Barbut y col., 1991; Thorarinsdottir y col., 2002; Barbieri y Ghillani 1997). Si bien los diferentes autores coinciden en que un incremento en la concentración de las sales desestabiliza térmicamente a la miosina y a la actina, hay diferentes resultados publicados en cuanto a los corrimientos de los picos en los termogramas , por lo cual resulta necesario

analizar el efecto de la concentración de NaCl sobre la desnaturalización de la proteínas miofibrilares.

1.6 SALES DE CURADO

1.6.1 Cloruro de sodio

Es ciertamente el aditivo más antiguamente conocido y utilizado y cumple múltiples funciones.

1.6.1.1 Funciones de la sal

- **Acción bacteriostática**

El NaCl no es un agente antiséptico ya que no destruye a las bacterias o lo hace mínimamente; aunque sí frena y detiene el crecimiento de la mayoría de ellas, cuando se utiliza a concentraciones suficientes. Se considera generalmente que a la concentración de 100 g/L, inhibe el crecimiento de numerosos microorganismos; en cambio a la concentración de 50 g/L, su acción se hace sentir solamente sobre los anaerobios.

La concentración que debe alcanzar el producto terminado es del 2-2.5%.

- **Agente de sapidez**

La sal aporta un gusto salado debido al anión Cl⁻; mientras que el catión Na⁺ tiene su efecto principal sobre la capacidad de estimular los receptores gustativos (Girard, 1991).

- **Acción sobre las proteínas**

Mediante el aumento de la fuerza iónica, la sal aumenta la solubilidad de las proteínas musculares (Girard, 1991), como se explicó anteriormente, favoreciendo así la manifestación de sus propiedades tecnológicas (poder emulsificante, ligante, etc).

- **Influencia sobre el poder de retención de agua de la carne**

La adición de sal a una carne cruda disminuye el pH de las proteínas aproximadamente en 0,2 unidades y lo lleva por tanto a las proximidades de 5,0 (Girard, 1991). Por esto, en las condiciones prácticas de fabricación de los productos cárnicos (pH: 5,4 a 5,9), la diferencia entre el punto isoeléctrico de las proteínas y el pH del medio está aumentada, lo que se traduce en un aumento de retención de agua.

La carne tratada con cantidades crecientes de NaCl experimenta cambios característicos como se citó anteriormente.

- **Acción sobre las grasas**

La sal favorece la oxidación y el enranciamiento de las grasas, lo que constituye un efecto no deseado.

1.6.1.2 Penetración de la sal en la carne

La penetración de la sal en la carne está en relación con el establecimiento de un equilibrio entre las concentraciones de sal en el interior y el exterior de la pieza. Por otra parte, un cierto número de factores, tanto

externos como internos, tienen influencia en la rapidez con la que se establece el equilibrio. Entre los factores externos se puede citar a la temperatura y a la concentración de la salmuera.

Con respecto a los factores internos, el más importante es el pH. Cuanto más elevado es el pH menos fácilmente penetra la sal. Desde las observaciones de Callow (1936) se clasifican las carnes como de estructura firme (mala penetración de sal) o abierta (buena penetración). Accesoriamente la presencia de grasa en los tejidos frenaría la penetración de la sal. La "historia" de la carne antes del procesamiento en salmuera tiene también una influencia marcada. En particular un ciclo de congelación / descongelación tiene un gran efecto sobre la penetración de la sal (Gonzales-Mendez y col., 1983; Girard 1991) ya que por la acción de los cristales se rompe la microestructura del tejido.

En general se estima que para conseguir la salazón completa de la carne se requieren dos días a dos días y medio por cada 500g de carne (Pearson y col., 1996). La penetración de la sal siguiendo la dirección de las fibras es más fácil que en sentido transversal a los haces, pues en este caso hay que vencer el obstáculo representado por la fina membrana de tejido conjuntivo.

1.6.1.3 Cuantificación de la sal

Como su empleo no está reglamentado y puesto que el gusto salado es suficiente para limitar el consumo de productos que contiene demasiada sal, su dosificación no tiene el carácter de control (eventualmente represivo) que tienen otros numerosos aditivos. De modo clásico se realiza mediante la valoración de los iones Cl^- , según diferentes métodos fundamentados en la insolubilidad del cloruro de plata o mediante un electrodo selectivo. En el caso de los alimentos dietéticos se dosifica el catión Na^+ ya que es el contenido de

este elemento el que está reglamentado (y la sal no es la única fuente de estos cationes).

1.6.2 Nitritos y nitratos

Aunque el nitrato de potasio era conocido y utilizado empíricamente en la salazón por lo menos desde la Edad Media, y probablemente aún en el Imperio Romano, es sólo desde finales del siglo XIX que se comenzó a adquirir conocimientos sobre su papel. Polenski, en 1891, demostró que el nitrato era reducido a nitrito por acción bacteriana; Lehman, en 1899 estableció que el color característico de los productos de salazón era debido al nitrito, finalmente Haldane, en 1910, explicó el mecanismo de formación de ese color por la combinación del óxido de nitrógeno (NO) con el pigmento de la carne. La utilización de nitrito solo en salazón fue estudiada por Lewis (1925) y Kerr (1926), ellos mostraron que la adición de 156 ppm de nitrito permitían la obtención del color deseado, el empleo de nitrito de sodio en esta dosis fue autorizada en USA y luego se extendió a otros países ya que era más fácil su control por adición directa que por intermedio de la reducción bacteriana de nitrato, difícil de controlar.

El poder inhibitor del nitrito frente a las bacterias fue descubierto por Grindley en 1929. Finalmente, Brooks (1940) realizó el primer trabajo que mostraba la existencia de un sabor característico asociado al nitrito en los productos de salazón (Lawrie, 1974).

Al comienzo de los años 40, los tres papeles esenciales (color, sabor, acción antibacteriana) eran conocidos, sin embargo los mecanismos de acción no habían sido elucidados. A pesar de ello, como el nitrito tiene efectos tóxicos, simultáneamente a su empleo se pusieron en marcha los correspondientes controles en su uso, con el fin de proteger la salud de los consumidores, y estos controles precisamente han demostrado que una parte importante del nitrito desaparecía en el curso de la fabricación y del almacenamiento. Esta

observación dio nacimiento a los estudios sobre el uso del nitrito en la carne y en los productos cárnicos desde 1940, y el interés de las investigaciones en este sector fue acentuado por el descubrimiento de Magee y Barnes (1956) sobre el efecto cancerígeno de las nitrosaminas.

Las propiedades químicas del nitrito de sodio se derivan directamente de su carácter oxidoreductor y de su poder nitrosante (Price y Schweigert 1976). En solución está en equilibrio con el ácido nitroso no disociado. A los pH usuales de la carne, está esencialmente bajo la forma de sal.

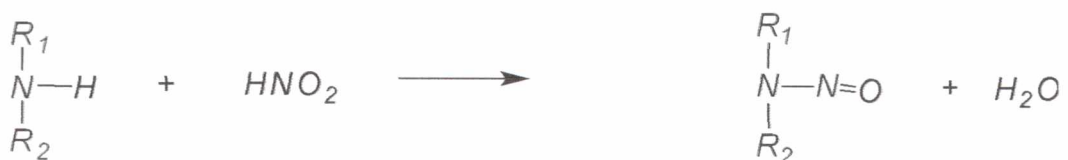
En los sistemas biológicos, el ácido nitroso o el ión NO_2^- son susceptibles de participar de numerosas reacciones en función del pH, de la temperatura y de la presencia de otras sustancias, por ejemplo:

- Reacción de Van Slyke con los aminoácidos



A consecuencia de esta reacción parte del nitrito añadido puede desaparecer durante el curado de la carne. El nitrito desaparece más rápidamente cuando las carnes curadas contienen ácido acético u otros ácidos.

- Reacción con una amina secundaria con formación de una nitrosamina.



1.6.2.1 Funciones

El agregado de NaNO_2 en las sales de curado cumple tres funciones: como bacteriostático y para lograr el color y sabor deseados.

En cuanto al ión nitrato, este debe reducirse a nitrito, lo que tiene lugar gracias al poder reductor de una serie de bacterias que siempre se encuentran en la carne como *Achromobacter dentriticum*, *Micrococcus epidermis* y *M. nitrificans*. Para que esto se verifique hace falta un pH ácido determinado y un potencial redox óptimo para la reducción bacteriana. Los glúcidos existentes en la carne o el añadido en el proceso de curado se transforman por acción de las enzimas cárnicas y bacterianas en ácido láctico, por lo que el valor del pH desciende *postmortem* y se alcanza el valor de pH que favorece la formación de nitrito a partir de nitrato.

- **Color**

En solución ligeramente ácida el ácido nitroso se descompone de la siguiente manera:



En solución el NO (gas incoloro) formado puede oxidarse, en presencia de oxígeno, a dióxido de nitrógeno:



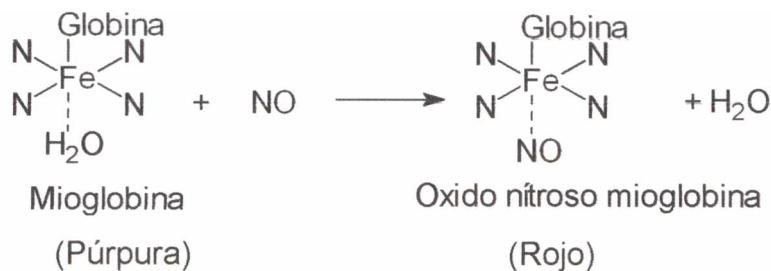
El dióxido de nitrógeno disuelto a su vez forma ácido nitroso y ácido nítrico:



Sin embargo, se duda de que la cantidad de oxígeno que pueda existir en la carne sea suficiente para oxidar una cantidad significativa de monóxido de nitrógeno. En las salmuera de curado, sin embargo, es posible que se oxide una proporción sustancial de NO, sobre todo si la solución de curado se usa durante mucho tiempo.

Se sabe que el NO forma complejos con los compuestos porfirínicos como la catalasa, las peroxidasas, los citocromos, la citocromooxidasa, la hemoglobina y la mioglobina. La catalasa es rápidamente inactivada por el nitrito. El principal pigmento que contiene la carne en el momento de someterla a curado es la mioglobina (**Figura 1.9**) y por eso se presta mayor atención a los cambios químicos experimentados por este pigmento durante el proceso del curado.

La reacción química básica que produce el pigmento muscular de la carne curada es el siguiente:



En esta reacción una molécula de monóxido de nitrógeno sustituye a la molécula de agua que se halla unida al átomo de hierro del grupo hemo del pigmento, sin que se modifique el estado de oxidación del hierro.

En la representación anterior N indica los átomos de nitrógeno de la estructura pirrólica heterocíclica del gran anillo planar de la porfirina.

En el curado intervienen también otras reacciones. Instantes después de desangrar el animal, cesa prácticamente la actividad respiratoria a consecuencia de la falta de oxígeno. La mayor parte del pigmento de la carne se encuentra en forma de mioglobina salvo una pequeña cantidad presente en la superficie que se oxigena a oximioglobina (**Figura 1.10**).

En ambos casos puede formarse directamente óxido nítrico mioglobina (rojo) al reaccionar el monóxido de nitrógeno con la mioglobina (rojo púrpura), aunque la mayor parte de la mioglobina se oxida a metaglobina por la acción del nitrito añadido. La metamioglobina formada tiene que reducirse después para producir el pigmento de la carne curada.

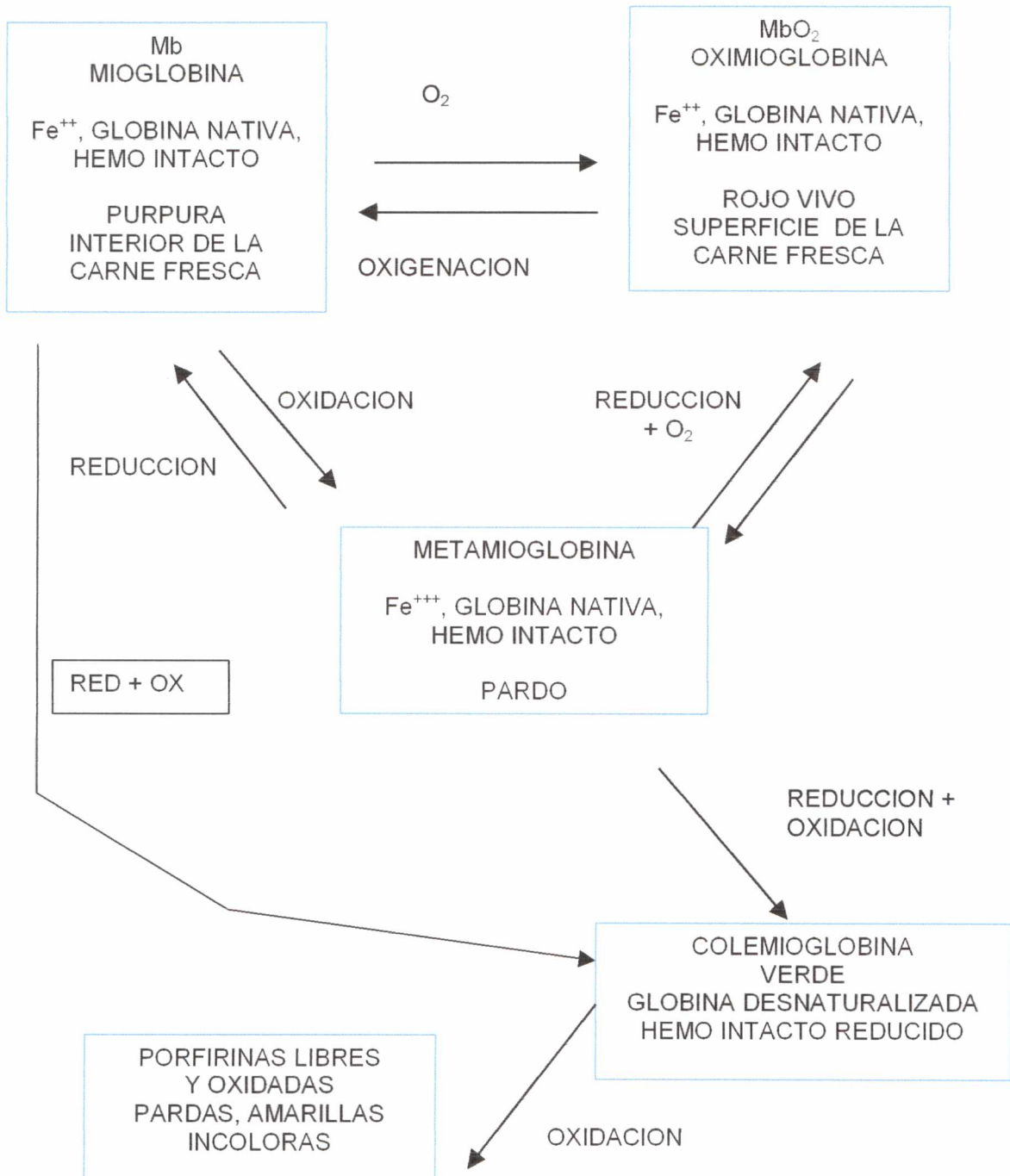


Figura 1.9: Modificaciones de la mioglobina en la carne no sometida a tratamiento.

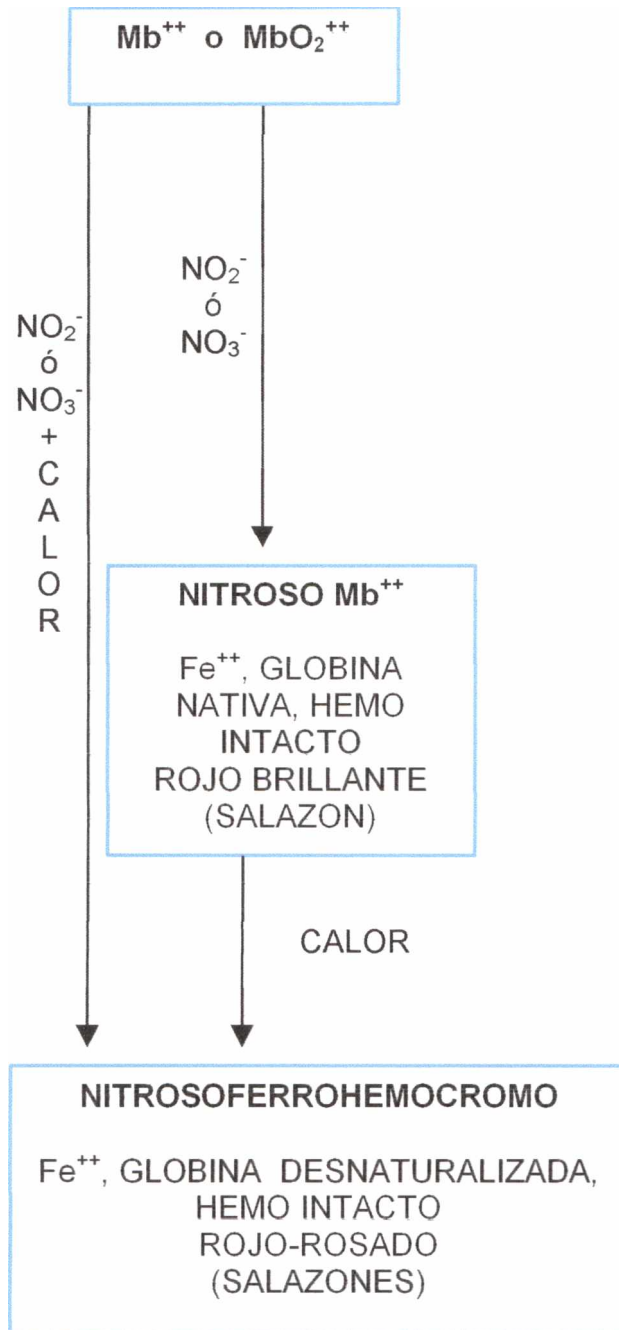


Figura 1.10: Modificaciones de la mioglobina en la carne curada.

- **Sabor**

Desde el primer estudio realizado por Brooks y col (1940) que establecía una diferencia de sabor relacionada con la utilización de nitrito, los trabajos posteriores han confirmado regularmente la existencia de un sabor especial diferente del correspondiente al cerdo tratado solamente con el cloruro de sodio. Los productos responsables del sabor característico provienen de la reacción del nitrito con los componentes de la carne. Son suficientes cantidades relativamente pequeñas de nitrito añadido (25 ppm) para obtener el sabor característico, mientras que con dosis demasiado elevadas (300 ppm) se observa una degradación de este sabor, posiblemente debido a fenómenos de oxidación (Girard, 1991).

La mayoría de los autores que han estudiado la influencia del nitrito sobre el sabor han tratado de identificar el o los productos responsables. Por cromatografía gaseosa han sido aislados un gran número de compuestos volátiles.

- **Papel bacteriostático**

El nitrito tiene poder bacteriostático frente a un gran número de cepas principalmente de *Clostridia* y algunos *Staphylococos*. El poder inhibidor del mismo depende de la cantidad en sal, del pH, de la presencia de nitrato, del número de bacterias, de la temperatura de almacenaje y del hecho que el producto haya sufrido un tratamiento térmico o no.

Robers y col. (1976) y Leistner (1974) concluyeron que 100 ppm de nitrito incorporados a los productos sometidos a un tratamiento térmico son suficientes para asegurar la protección antibotulínica (Girard 1991), ya que el ión nitrito inhibe el crecimiento de *Clostridium botulinum* que produce esta toxina botulínica. Los mecanismos y factores de esta acción antimicrobiana se desconocen. Sin embargo puesto que las carnes curadas se almacenan en

condiciones anaerobias, es muy importante confirmar la seguridad de estos alimentos (Shibamoto y col., 1996).

Se considera que hoy en día, bajo la mayoría de circunstancias, los niveles de nitrito en carne curada alcanzan para asegurar la estabilidad de la carne y el control de la toxina botulínica, mientras que no presente riesgo el producto debido a las nitrosaminas.

1.6.2.2 Toxicidad del nitrito

La toxicidad propia del nitrito está relacionada con su poder oxidante. Tiene la propiedad de oxidar la hemoglobina sanguínea (Fe^{+2}) a metahemoglobina (Fe^{+3}) que bajo esta forma no es ya apta para jugar su papel de transportador de oxígeno y entraña una hipoxia a nivel de los tejidos. En los adultos el organismo es capaz de luchar contra esta agresión ya que está equipado de un sistema enzimático apto para efectuar la reacción inversa y transformar la metahemoglobina en hemoglobina reducida (sistema metahemoglobina reductasa). Por el contrario el niño lactante no posee este equipamiento enzimático y los riesgos de intoxicaciones graves son entonces mucho mayores.

La toxicidad indirecta del nitrito pasa por la formación de nitrosaminas. Ya ha sido estudiada la actividad cancerígena de muchas nitrosaminas; de las 100 hasta ahora estudiadas, el 80% aproximadamente son cancerígenas, al menos en una especie animal. La dietilnitrosamina lo es en 20 especies. La dimetilnitrosamina y la dietilnitrosamina son los cancerígenos más potentes de su grupo. El suministro a las ratas de 50 ppm de dietilnitrosamina con el alimento les produce tumores malignos hepáticos en 26-40 semanas. Dosis mayores originan tumores renales. A medida que se reduce la dosis de dietilnitrosamina, por debajo de los 0.5 mg/kg, el periodo de latencia entre la administración y la aparición de tumores se alarga, si bien la incidencia total de tumores permanece prácticamente la misma. Con una dosis de 0.3 mg/kg el

período de latencia es de 500 días en tanto que con una dosis de 0.075 mg/kg, el tiempo de latencia se aumenta hasta los 830 días. Todavía no se ha establecido una dosis umbral de carcinogenicidad de las nitrosaminas en la dieta (Shibamoto y col., 1996).

Las nitrosaminas, como otros grupos de cancerígenos químicos, necesitan una activación metabólica para convertirse en tóxicos. El proceso de activación está mediado por enzimas e implica, al menos en ciertos casos, la hidroxilación del carbono α (**Figura 1.11**). Las nitrosaminas son muy organoespecíficas en sus acciones cancerígenas; por ejemplo, la dimetilnitrosamina es un cancerígeno hepático con cierta actividad renal y la bencilnitrosamina es específica del esófago (Shibamoto y col. 1996).

En algunos casos se puede minimizar la formación de nitrosaminas adicionando a un nivel determinado de nitrito, agentes reductores como ascorbato o eritorbato, o antioxidantes como tocoferoles (Varnam, 1995).

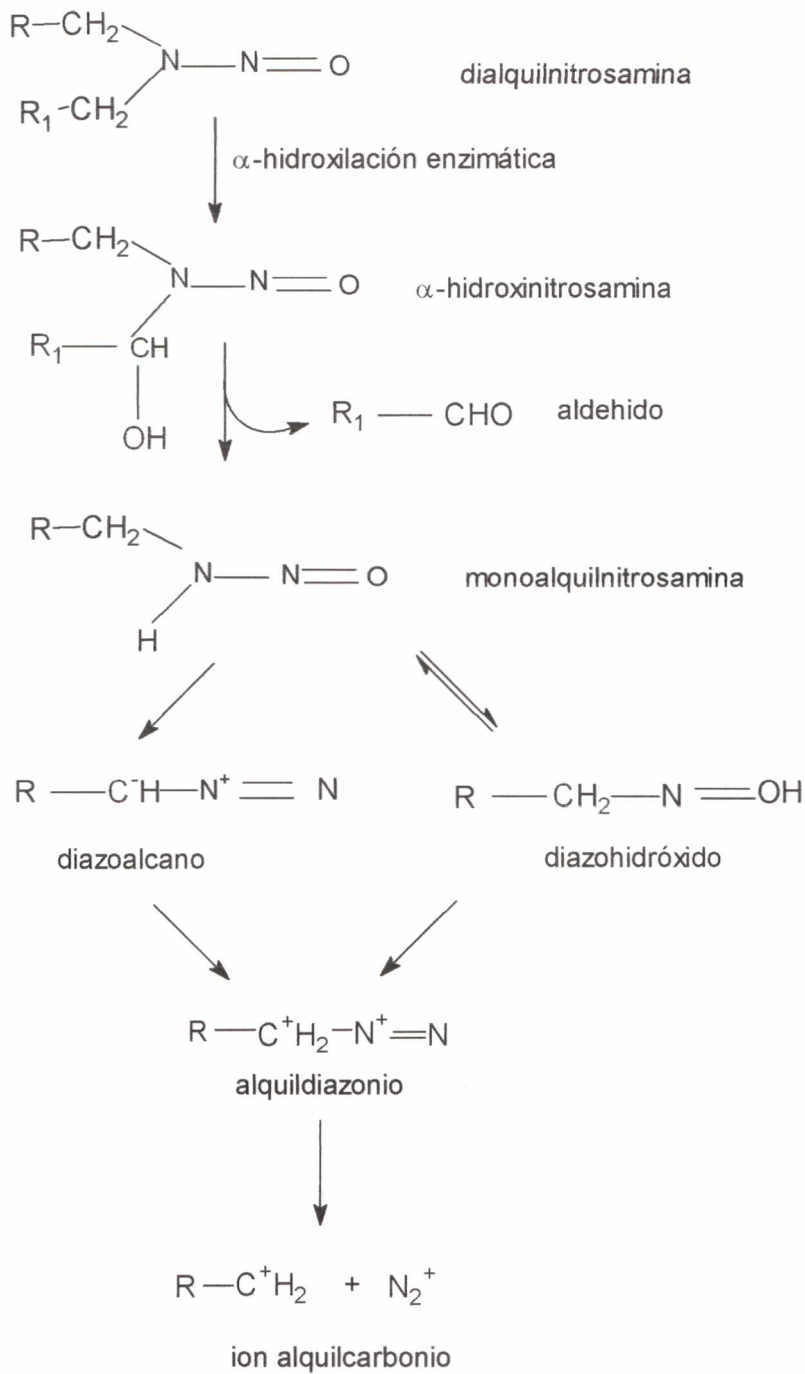


Figura 1.11: Formación de nitrosaminas y de un agente alquilante.

1.6.2.3 Cuantificación de nitrito

En la bibliografía existen distintos métodos para dosar nitrito pero la mayoría de ellos están basados en la propiedad fundamental de la sal de diazonio formada por la reacción entre el ácido nitroso y el ácido sulfanílico de dar un colorante azoico por la unión con una amina aromática en medio ácido (reacción de Griess), o con un fenol en medio básico (reacción de Zambelli).

Existen igualmente métodos fluorométricos basados bien sea en la diazotación de la p-cloroanilina seguida de un acoplado con la 2,6-diaminopiridina, o bien sobre la reacción con la 5-amino-fluoresceína. Estos métodos, muy sensibles (detección 10^{-9}) son de una realización complicada. Hay otros métodos no muy utilizados como el polarográfico, el entalpimétrico, o la quimio-luminiscencia.

1.6.2.4 Valores límites

La máxima cantidad residual de nitrito de sodio permitida por el Código Alimentario Argentino es 0.015 g/100gr (150 ppm) (Código Alimentario Argentino 2001/2003, artículo 286).

En Estados Unidos, la legislación establece que el uso de nitrito, nitrato o su combinación no debe superar las 200 ppm calculado como nitrito de sodio en el producto final (USDA-FSIS 1999).

1.7 EFECTO DEL CURADO SOBRE LOS MICROORGANISMOS

La carne es uno de los alimentos más perecederos; las causas de ello se exponen en la **Tabla 1.2**, que indica la composición química *postmortem* de un músculo porcino típico. Las carnes contienen una abundante cantidad de

todos los nutrientes necesarios para el crecimiento de bacterias, mohos y levaduras, y en las carnes frescas existe en forma disponible una adecuada cantidad de estos componentes.

La estabilidad microbiológica intrínseca de las carnes curadas varía considerablemente según la tecnología de curado utilizada y los niveles de NaCl y otros ingredientes de curado (Varnam, 1995). Como se ha mencionado, el uso de sal fue uno de los primeros métodos utilizados para preservar los alimentos. La sal en solución ejerce cierto grado de presión osmótica y de este modo afecta el crecimiento de microorganismos (Weiser y col. 1969). La presión osmótica depende del número y tamaño de las moléculas en solución.

El uso de soluciones hipertónicas tiene una gran aplicación en alimentos. En este caso, el medio o el alimento es más concentrado que la célula por lo cual el agua sale de la misma y la célula se contrae separándose de la pared (plasmólisis), perdiendo viabilidad, probablemente debido a que la presión del turgor es necesaria para el crecimiento de la pared y la división celular.

La seguridad microbiológica de los productos cárneos curados es alta. Desde principios del siglo XX se sabe que además de utilizarse la sal por su acción deshidratante en la carne, hay otros factores adicionales que contribuyen a la acción preservadora de la sal: 1) el efecto directo del ion cloruro, 2) reducción del oxígeno del medio, por disminución de la solubilidad del gas, 3) sensibilización al CO₂ y 4) interferencia con la rápida acción de las enzimas proteolíticas.

Durante todo el proceso de curado se van sucediendo cambios en la superficie del producto, desde una materia prima fresca y tierna con un alto grado de humedad, hasta conseguir un producto final con una actividad de agua baja y cierto grado de concentración salina.

Los microorganismos son sensibles al estado del agua del medio y existen valores de actividad de agua (a_w) límites por debajo de los cuales no pueden permanecer metabólicamente activos, es decir, no pueden multiplicarse, esporular o producir metabolitos, entre otros, metabolitos tóxicos.

Estos valores pueden ser diferentes para cada proceso metabólico (Beuchat, 1987) existiendo además una gran variación en la tolerancia a la reducción de la a_w entre los distintos microorganismos.

Existen tablas con valores de a_w mínima de crecimiento y de producción de toxinas para distintos microorganismos de interés en la conservación de alimentos, obtenidos manteniendo las demás condiciones ambientales (temperatura, nutrientes, pH, etc.) en los valores óptimos para la multiplicación del microorganismo particular. Cuando éstos y otros factores ambientales se desvían de los puntos óptimos, disminuye la resistencia del microorganismo frente a a_w reducidas, aumentando la a_w mínima que permite el crecimiento. Del análisis de los valores de a_w mínimos reportados pueden obtenerse generalizaciones:

a) actividades de agua menores de 0.90 inhiben usualmente el crecimiento de la mayoría de las bacterias, incluidas las bacterias patógenas, excepto el caso de *S. aureus* que pueden crecer a $a_w = 0.86$ en aerobiosis. La contaminación por hongos y levaduras, por lo contrario, ocurre en un rango de a_w mucho más amplio, siendo dichos microorganismos capaces de tolerar niveles de a_w muy reducidos (por ej., *Monascus bisporus* puede crecer a a_w tan baja como 0.61).

b) La a_w mínima de crecimiento es menor o igual a la a_w mínima de producción de toxina. Para muchos microorganismos, la producción de toxina ocurre a valores de a_w considerablemente mayores que los requeridos para el crecimiento (por ej., la generación de muchas micotoxinas); para otros, como es el caso de *C. botulinum*, el crecimiento ha estado siempre asociado a la producción de toxina.

c) El soluto utilizado para controlar la a_w tiene un efecto *per se* (efecto "soluto"), lo cual se traduce en valores diferentes de a_w mínima para un mismo microorganismo según el humectante agregado. En general, los solutos iónicos como el NaCl son más inhibitorios que los solutos no-iónicos como los azúcares, mientras que el glicerol, a diferencia de sales y azúcares, permea

rápidamente al interior de la mayoría de las bacterias siendo el menos inhibitorio. Un comportamiento opuesto exhibe el *S. aureus*, menos resistente al glicerol que al NaCl. Estas diferencias han sido atribuidas a la habilidad o inhabilidad de la membrana celular para excluir ciertos humectantes y a la interferencia del humectante sobre la pared y membranas celulares, enzimas metabólicas, material genético y sistemas de síntesis de proteínas (Troller, 1987; Christian, 1981; Kabara y col., 1991).

En general, la flora superficial predominante de la carne fresca es Gram negativa, la cual evoluciona progresivamente hasta ser esencialmente Gram positiva en la carne curada.

En el secadero, al cambiar la temperatura y la humedad ambiental la actividad de agua en la carne curada disminuye y por lo tanto limita el crecimiento de los microorganismos manteniendo su concentración con muy ligeras variaciones.

Los *Micrococcus* y *Staphylococcus* constituyen la flora predominante en las carnes curadas. El *Staphylococcus aureus* es un microorganismo halotolerante y no se inhibe su crecimiento con las combinaciones permitidas de sales curadas. De hecho, la acción inhibitoria de las sales sobre otras bacterias convierte a las carnes curadas de algún modo en medios selectivos que favorecen el crecimiento de los estafilococos. En los Estados Unidos, aproximadamente el 95 % de los brotes de intoxicación alimentaria vinculados al jamón se atribuyen a *Staphylococcus*.

Las bacterias ácido-lácticas (*Lactobacillus*, *Aerococcus*, *Pediococcus*) sufren una disminución en la cámara de reposo, puesto que son sensibles a las bajas temperaturas. A medida que disminuye el a_w se va limitando el crecimiento de estos microorganismos.

En las carnes curadas, algunas cepas de *Salmonella* son halotolerantes, aunque raramente están implicadas en algún caso de intoxicación.

Otros microorganismos que comúnmente se encuentran en la carne son las bacterias del género *Clostridium*, tanto el *C. botulinum* y *C. perfringens*, pero son inhibidas por el nitrito como se mencionó anteriormente.

1.8 PROCESO DIFUSIVO

En la industria alimentaria, la migración por difusión molecular juega un rol importante en la producción de alimentos, el procesado y el almacenamiento. En alimentos se utilizan dos formas principales de difusión sólido - líquido. Una de ellas es la lixiviación, transferencia de solutos desde el sólido al líquido adyacente, la cual es utilizada para la extracción de azúcares, aceites vegetales, café, te, gelatina y otros solutos (Schwartzberg, 1980); la otra es la infusión, se transfieren solutos desde el líquido hacia el sólido, es utilizada para transferir colores, sabores, agentes de curado y otros ingredientes en el alimento (Schwartzberg y col., 1982). La determinación de los parámetros de infusión ha sido mayormente limitada a carnes (Wang, 1993). El salado de alimentos y particularmente el salado de pescado es un método antiguo pero aun utilizado incluso en los países desarrollados, tanto por razones económicas debido a su bajo costo de producción y así como también para satisfacer los hábitos de los consumidores.

Es importante conocer la velocidad de difusión para determinar con exactitud la duración de dichos procesos.

El salado, y la adición de ciertos aditivos son aplicaciones de difusión que juegan un importante papel en el procesamiento de carnes. Wistreich y col. (1959) estudiaron la infusión de sal en carne, ellos fueron los primeros que simularon un proceso de difusión en una dimensión empleando una ecuación empírica que incluía los efectos de la concentración de la solución, el tiempo de inmersión y el volumen.

Numerosos autores estudiaron la difusión de sal en alimentos sólidos como carne porcina, vacuna, pescado y quesos (Wood, 1966; Fox, 1980;

Dussap y col., 1980; Favetto y col., 1981; Gros y col., 1984; Djelveh y col., 1988; Sabadini y col., 1998; Wang y col., 2000; Gou y col., 2003)

La transferencia de masa por difusión es debido a la diferencia de potencial (por ejemplo, gradiente de concentración) causado por el movimiento molecular aleatorio (movimiento Browniano).

Han sido reportadas en la literatura muchas soluciones de las ecuaciones diferenciales de Fick para diferentes geometrías y distintas condiciones iniciales y de contorno (Djelveh y col., 1989; Crank, 1975; Cussler, 1984; Díaz, 1993). Los coeficientes de difusión se determinan por lo general experimentalmente debido a que no hay una teoría universal con suficiente precisión para calcularlos. Sin embargo bajo ciertas condiciones es posible predecir o al menos estimar los coeficientes de difusión sobre la base de relaciones empíricas (Díaz, 1993), por ejemplo las ecuaciones de Stokes-Einstein (Cussler, 1984), Wilke y Chang (Wilke, 1955) y una ecuación derivada de la teoría de electroquímica de Nernst-Planck (Harned, 1958).

1.7.1 Modelo matemático

La transferencia de una sustancia desde la superficie hacia el centro del alimento puede llevarse a cabo a través del espacio extracelular y/o a través de las paredes y membranas de la célula, y es normalmente analizado como si fuera un sistema pseudo-binario (soluto-tejido). Dado que las matrices alimenticias son extremadamente complejas, tienen una estructura heterogénea y el comportamiento del agua varía, existen numerosas dificultades para predecir cuáles de estas formas de transporte tiene lugar en cada caso particular, o qué parámetros son determinantes de la velocidad de transporte de una sustancia en cada uno de los alimentos. Por esta razón no siempre es posible aplicar las soluciones analíticas exactas para sistemas binarios (Zaritzky y col., 1999) y normalmente se asume un coeficiente de

difusión efectivo que se determina experimentalmente (Wood, 1966; Stahl y col., 1979; Fox, 1980; Dussap y col., 1980; Schwartzberg y Col., 1982; Gros y col., 1984; Djelveh y col., 1988; Sabadini y col., 1998; Wang y col., 2000).

Puede considerarse al tejido cárneo como una matriz sólida constituida por proteínas y grasas y una fase acuosa en la cual difunden los solutos. El mecanismo de difusión en tejidos puede ser analizado usando la forma general del balance microscópico de materia, en términos de una difusividad efectiva en la matriz (D_m).

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{1}{r^{\phi-1}} \frac{\partial}{\partial r} \left(r^{\phi-1} D_m \frac{\partial C}{\partial r} \right) \quad (1.1)$$

donde C es la concentración del soluto en el sólido como un todo expresado como el peso del soluto por unidad de peso del tejido; con $\phi = 1$ para una placa fina infinita, 2 para un cilindro infinito, 3 para una esfera; r es la distancia medida desde el centro del sólido.

El coeficiente de difusión efectivo en una matriz compleja está relacionado con la difusividad molecular por diferentes factores que tiene en cuenta la fricción hidrodinámica, el grado de obstrucción en la matriz y las interacciones matriz-solvente-soluto (Díaz, 1993).

En la industria alimenticia las esferas, cilindros, cubos y paralelepípedos son formas comunes, para las cuales se utiliza para el estudio la **Ecuación 1.1**, aplicándoles las condiciones iniciales y de contorno adecuadas.

La difusividad es una característica de un componente y su entorno (temperatura, presión, concentración y la naturaleza de los otros componentes).

La preservación de la carne por el curado de sal depende de la sal remanente en el tejido. El paso determinante del proceso es la difusión de las sales en el tejido. Para un tejido dado la velocidad de difusión está gobernada por el gradiente de concentración y la temperatura. La difusión dentro del tejido

puede originar transporte del líquido debido a la ósmosis y a los cambios en la estructura proteica. El efecto de la temperatura puede ser complejo, en el rango de temperatura que usualmente involucra el proceso (0 a 30°C) ocurren cambios físicos en las propiedades del tejido. Se puede utilizar la ecuación de Arrhenius para analizar el efecto de la temperatura sobre el coeficiente de difusión efectivo.

Muchas veces la ecuación de Fick para mezclas binarias no resulta aplicable en forma simple a sistemas complejos como los alimentos en los que existen fuertes interacciones entre los componentes.

1.8.2 Antecedentes del modelado de la difusión salina en sistemas cárneos

Diversos autores informaron valores de los coeficientes de NaCl, NaNO₂ y KNO₃ en tejido cárneo.

Fox (1980) estudió la difusión de cloruro de sodio, nitrito y nitrato en carne vacuna y porcina. En tejido porcino *Longissimus dorsi* para una solución de NaCl 180g/L el valor de D_m de cloruro de sodio obtenido fue $2.2 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ a 5°C, mientras que el coeficiente efectivo del nitrito de sodio (2.25g/L en la solución de inmersión) a 5°C fue de $1.2\text{-}1.3 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ y para el nitrato de potasio (2.66g/L) a 5°C fue de $2.2 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$. Encontró que el nitrito difunde más lentamente que el cloruro en carne, pero la velocidad de difusión del nitrato fue a veces mayor que la de cloruro. La difusión del nitrito en su estudio mostró que estaba gobernada principalmente por dos factores, uno físico debido a los cambios que produjo el cloruro en el tejido y el segundo químico debido a la reacción del nitrito con los componentes endógenos del tejido. No encontró diferencias en la velocidad de difusión del cloruro en los distintos músculos porcinos. Los valores de difusión para cloruro y nitrito en tejido porcino fueron menores que los correspondientes para carne vacuna, pero para

el caso de nitrato fueron mayores. De estos resultados infirió que la difusión de las sales en carne es un proceso variable, dependiendo de la interacción específica entre los iones que difunden y de la muestra de la carne individual.

Djelveh y col. (1988) trabajaron con músculo vacuno congelado y luego descongelado, en un rango de concentraciones de NaCl desde 20 a 200g/L y obtuvieron coeficientes de difusión de NaCl entre $7.69 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ y $8.73 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ a 25°C respectivamente. Asimismo encontraron que el coeficiente de difusión del KNO_3 a 5°C fue de $2.87 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ para carne vacuna (músculo semitendinoso).

Dado que la migración de sal por difusión en pescados juega un rol importante durante el proceso de salado, se han realizado varios estudios en el salado de pescado aplicando la segunda ley de Fick (Peters, 1971; Stefanovskaya y col., 1976; Sakai 1982; Rodger, 1984; Sakai, 1985) para modelar el sistema. En estos trabajo se supuso un coeficiente de difusión de NaCl constante y se utilizaron diversas soluciones de la segunda ley de Fick para diferentes condiciones de contorno y distintas geometrías de muestras de pescado.

Wang y col. (2000) investigaron la influencia del rigor mortis sobre el coeficiente de difusión de la sal en salmón Atlántico. Desarrollaron un programa de diferencias finitas para determinar el coeficiente de difusión de la sal y para predecir la distribución de la sal en el músculo durante en salado, asumiendo que el coeficiente de difusión tiene una dependencia lineal positiva con la concentración de NaCl en el músculo para cada estado del rigor. Para pescado post-rigor obtuvieron valores de D_m que se encuentran comprendidos entre 1.09 a $1.52 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ para muestras inmersas en solución de NaCl cuya concentración es de 200 g/L a 10°C .

Wood (1966), Dussap y col. (1980) y Gros y col. (1984) obtuvieron valores de coeficientes de difusión efectivos para el cloruro de sodio en tejido cárneo comprendidos entre $2.19 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ y $2.5 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$, trabajando a temperatura cuyo rango varía entre 2 - 12°C .

En contraste con estos valores de coeficientes de difusión de NaCl, otros autores obtuvieron mayores valores de coeficientes de difusión, Sabadini y col. (1998) y Del Valle y col. (1967) hallaron valores de D_m comprendidos entre 11.8 y $19.37 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ trabajando con carne vacuna a 20°C y Pez espada a 25°C , respectivamente. Estos valores extremadamente altos están cercanos al coeficiente de difusión de NaCl en agua pura ($D=8.5 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ a 4°C y $16.1 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ a 25°C).

A partir de la información presentada se desprende que existe disparidad de valores de los coeficientes de difusión de sales de curado y la determinación de estos valores resulta necesaria para poder optimizar el proceso de curado húmedo.

1.9 OBJETIVOS

El curado de productos cárneos, en medios líquidos, se lleva a cabo en la industria sin tener un conocimiento profundo de los efectos que tienen las sales en la microestructura tisular. A través de contactos con el sector industrial, surgió el interés de analizar este problema de la difusión simultánea de sales de curado, en piezas sumergidas en salmueras cuya composición se encuentra en el rango de las utilizadas en los procesos industriales y que contienen fundamentalmente, cloruro de sodio, nitrito de sodio y nitrato de potasio, para determinar los tiempos de inmersión adecuados y optimizar el proceso. Los objetivos generales propuestos en el presente trabajo de tesis son los siguientes:

1. Determinación de los coeficientes de difusión efectivos (D_m) de sales (NaCl , NaNO_2 y KNO_3) en tejido muscular tejido porcino (*Longissimus dorsi*) a 4°C y 20°C .

- ◆ Puesta a punto del método de dosaje de nitrito de sodio, nitrato de potasio, cloruro de sodio.

- ◆ Realización de experimentos para medir la concentración media de sales ingresadas al tejido cárneo, a partir de ensayos en estado no estacionario, en cilindros largos de pequeño radio sin efecto de extremos, a los efectos de considerar transferencia unidireccional.

- ◆ Determinación de las concentraciones residuales de las sales, en carnes sumergidas en soluciones individuales de nitrito de sodio (3 g/L), nitrato de potasio (2.5 g/L), y cloruro de sodio (30, 70, 100, 140, 200 g/L) en función del tiempo de contacto.

- ◆ Determinación de los coeficientes de difusión de las sales de curado (NaCl , NaNO_2 y KNO_3) en tejidos cárneos.

- ◆ Análisis del efecto de la presencia de cloruro de sodio en la difusividad efectiva del nitrito y nitrato.

- ◆ Aplicación de las ecuaciones de Stephan Maxwell para evaluar el efecto de la presencia de electrolitos en las soluciones de inmersión sobre los coeficientes de difusión.

2. Análisis del efecto del NaCl en la microestructura del tejido cárneo (fibras musculares) a través de:

- ◆ Observación microscópica en SEM (Microscopía electrónica de Barrido)
- ◆ Estudio de la desnaturalización proteica por efectos de NaCl a través de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).
- ◆ Determinación de la capacidad de retención de agua en el tejido en función de la concentración de NaCl.
- ◆ Estudio de la influencia del NaCl sobre los cambios en el contenido de agua, la sal incorporada y las proteínas solubilizadas utilizando balances de materia.

3. Optimización del proceso de difusión simultánea de NaNO_2 , KNO_3 y NaCl en piezas de gran tamaño.

- ◆ Realización de experimentos de difusión en carnes sumergidas en soluciones constituidas por cloruro de sodio (140g/L), nitrito de sodio (3g/L), nitrato de potasio (2.5g/L) cuyo tamaño implique transferencia de materia multidireccional tratando de simular las condiciones operativas de la industria.
- ◆ Modelado matemático del fenómeno de difusión de sales de curado utilizando métodos numéricos, en piezas de tamaño similar al que se utiliza en la industria, y considerando la variación de los coeficientes de difusión con la concentración de los solutos y transferencia de materia en más de una dirección.
- ◆ Determinación las condiciones operacionales del proceso.

Capítulo 2

Materiales y Métodos

2.1 MATERIALES

2.1.1 Carne

En todos los experimentos se utilizó carne porcina de músculo *Longissimus dorsi* fresca. Se cortaron las muestras de modo tal que no se observara grasa visible.

2.1.2 Soluciones salinas utilizadas para determinar los coeficientes de difusión.

Para la determinación del coeficiente de difusión efectivo (D_m) de las distintas sales (NaCl , NaNO_2 y KNO_3) en el tejido, las muestras cárneas fueron sumergidas en diferentes soluciones salinas constituidas por cloruro de sodio, nitrito de sodio y nitrato de potasio; cuyas concentraciones se presentan en la **Tabla 2.1**. Las concentraciones utilizadas se encuentran en el rango de las condiciones industriales.

Tabla 2.1: Soluciones salinas utilizadas para estimar el coeficiente de difusión (D_m) de cloruro de sodio, nitrito de sodio y nitrato de potasio.

Soluciones de inmersión utilizadas para determinar D_m del NaNO_2
NaNO_2 3 g/L
NaNO_2 3 g/L + KNO_3 2.5 g/L
NaNO_2 3 g/L + NaCl 10 g/L
NaNO_2 3 g/L + NaCl 70 g/L
NaNO_2 3 g/L + NaCl 140 g/L
NaNO_2 3 g/L + NaCl 140 g/L + KNO_3 2.5 g/L
Soluciones de inmersión utilizadas para determinar D_m del KNO_3
KNO_3 2.5 g/L
KNO_3 2.5 g/L + NaCl 10 g/L
KNO_3 2.5 g/L + NaCl 70 g/L
Soluciones de inmersión utilizadas para determinar D_m del NaCl
NaCl 30 g/
NaCl 70 g/L
NaCl 100 g/L
NaCl 140 g/L
NaCl 200 g/L
NaCl 70 g/L + NaNO_2 3 g/L
NaCl 140 g/L + NaNO_2 3 g/L
NaCl 140 g/L + KNO_3 2.5 g/L

2.2 DETERMINACIONES ANALÍTICAS

2.2.1 Determinación de nitrito

El tejido cárneo fue homogeneizado en un equipo Omnimixer (Sorvall Omni-Mixer 17106, Du Pont Instrument, Newtown, Conn., U.S.A.). Luego se le agregó agua bidestilada a 90°C y 10 ml de solución saturada de HgCl_2 para desnaturalizar las proteínas (AOAC, 1980).

Se agitó la suspensión durante 10 minutos, se llevó a 500 ml con agua bidestilada en un matraz aforado, se filtró con papel de filtro mediano y se hicieron las diluciones necesarias. Una vez realizadas estas diluciones, se tomaron 25 ml de la solución final y se le agregó el reactivo Hach, (método 371, kit Nitrivier 3 de determinación de nitrito en agua, compuesto por: sal trisódica del ácido 1,2 ciclohexandiamintetraacético, sal sódica del ácido 4,5 dihidroxi 2,7 naftalendisulfónico, fosfato de potasio monobásico, piro sulfato de potasio y sulfanilato de sodio). Se dejó reaccionar 15 minutos y se midió la concentración de nitrito sódico a 507 nm en un espectrofotómetro Hach (Modelo DR/2000), utilizando como blanco la solución sin reactivo. Los resultados se expresaron como: mg NaNO_2 / g tejido.

La reacción colorimétrica se basa en una propiedad que tiene la sal de diazonio (formada por la reacción entre el ácido nitroso y el ácido sulfanílico) de dar un colorante azoico por unión con una amina aromática en medio ácido (reacción de Griess) o con un fenol en medio ligeramente básico (reacción de Zambelli) (**Figura 2.1**). El color rosa de la muestra es directamente proporcional a la cantidad de nitrito presente en la muestra (Girard, 1991).

En la puesta a punto del método, se inyectaron diferentes cantidades conocidas de nitrito de sodio a la carne, procediendo luego a extraer y valorar el nitrito de la manera ya descrita. La recuperación fue del 98%. También se verificó la calibración del espectrofotómetro con muestras de concentración conocidas.

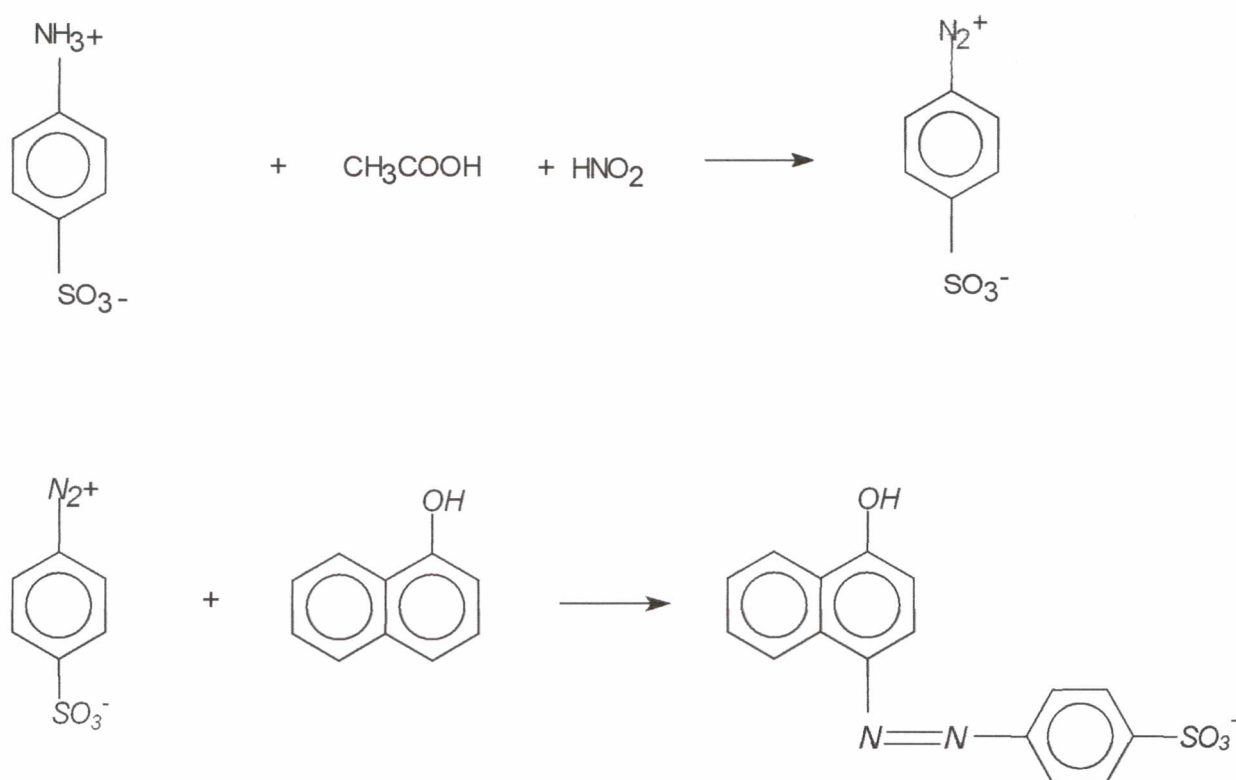
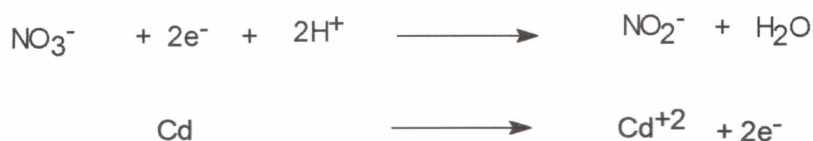


Figura 2.1: Formación de un colorante azoico por la reacción entre el ácido nitroso y el ácido sulfanílico con una 1-naftol, en medio ligeramente básico (reacción de Zambelli).

2.2.2 Determinación de nitrato

Para determinar nitrato se siguió un procedimiento de extracción similar al empleado en la determinación de nitrito. El nitrato en la solución final se redujo a nitrito usando cadmio (método 351, Hach kit NitraVer 6 compuesto por: sal trisódica del ácido 1,2 ciclohexandiamintetraacético, cadmio, sulfato de magnesio, sulfato de sodio, tartrato de sodio y ácido tartárico), y luego el nitrito

se valoró como se explicó previamente en 2.2.1. Los resultados se expresaron como: mg KNO₃/ g tejido.



En la puesta a punto del método, se inyectaron cantidades conocidas de nitrato de potasio a la carne, procediendo luego a extraer y valorar el nitrato de la manera explicada anteriormente, obteniéndose una recuperación satisfactoria (91%). Además se verificó la calibración del espectrofotómetro mediante el uso de soluciones de concentración conocida.

2.2.3 Determinación de cloruro

Para medir la cantidad de NaCl presente en las muestras luego de cada período de inmersión, el tejido cárneo fue homogeneizado en un equipo Omnimixer (Sorvall Omni-Mixer 17106, Du Pont Instrument, Newtown, Conn., U.S.A.) con agua bidestilada a 90°C. La suspensión se agitó durante 10 minutos, se hicieron las diluciones necesarias y se filtró. El contenido de NaCl fue determinado por medida de cloruro en una alícuota de 100ml utilizando un electrodo selectivo de cloruro (Cole-Parmer 27502-12) previamente calibrado. Los resultados se expresaron como mg NaCl/ g tejido.

Los electrodos de membrana permiten la determinación rápida y selectiva de numerosos cationes y aniones por medidas potenciométricas directas. El mecanismo general por el que se desarrolla en estos dispositivos un potencial selectivo a iones depende de la naturaleza de la membrana y es completamente diferente del origen del potencial en los electrodos indicadores metálicos. En los electrodos selectivos el potencial observado es un tipo de

potencial de unión que se desarrolla en la membrana que separa la solución del analito de la solución de referencia (Skoog y col. 2001).

El electrodo selectivo para cloruro Cole-Parmer está compuesto por un cuerpo de vidrio o epoxi y una membrana de cloruro de plata/sulfuro de plata. La solución de llenado está compuesta por KNO_3 1M y KCl 0.1M. Cuando la membrana se pone en contacto con una solución que contiene iones cloruro, se desarrolla un potencial eléctrico a través de la membrana. Este potencial eléctrico se mide contra un potencial de referencia constante utilizando un voltímetro pH/mV. El nivel de iones cloruro, correspondiente a la medida de potencial, está descrita por la ecuación de Nernst:

$$E = E_0 - S \log X$$

donde: E es el potencial eléctrico medido, E_0 es el potencial de referencia constante, S es la pendiente del electrodo (~ 56 mV/ década), X es el nivel de iones cloruro en la solución.

La actividad, X, representa la concentración efectiva de iones en solución. La actividad está relacionada con la concentración de iones libres, Cf por el coeficiente de actividad γ , por:

$$X = \gamma C_f$$

El coeficiente de actividad varía, dependiendo de la fuerza iónica total, I, definida como:

$$I = \frac{1}{2} \sum C_x Z_x^2$$

donde C_x es la concentración del ion X, Z_x es la carga del ion X, y Σ es la suma de todas las especies iónicas presentes en la solución.

Para el caso de fuerza iónica alta y constante en relación con la concentración del ion detectado, el coeficiente de actividad (γ) es constante y la actividad (X) es directamente proporcional a la concentración.

Diariamente se preparó una curva de calibración del electrodo, para lo cual se utilizaron soluciones patrones de NaCl de 10, 100, 250, 500 y 1000 ppm. En la **Figura 2.1** se observa una curva típica.

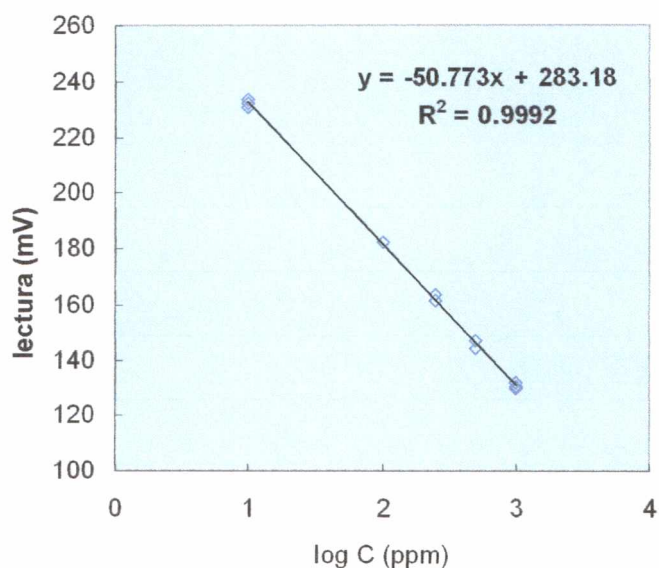


Figura 2.1: Curva de calibración típica del electrodo selectivo para cloruro.

Para asegurar que todas las muestras y las soluciones patrones tuviesen la misma fuerza iónica se les agregó, previo a la medición, 2 ml de una solución de NaNO_3 5M a 100 ml de la muestra o estándar, ajustando así la fuerza iónica a 0.1 M. Las medidas se realizaron con una agitación suave y constante.

En los ensayos preliminares, se inyectaron cantidades conocidas de NaCl a la carne, procediendo luego a extraer y valorar el cloruro de la manera citada anteriormente, obteniéndose una recuperación de 95 %.

2.3 OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA DEL TEJIDO CÁRNEO

Para observar la microestructura de un tejido cárneo se pueden utilizar diferentes técnicas de microscopía. En un microscopio óptico la potencia amplificadora está limitada por la longitud de onda de la luz visible. El microscopio electrónico, en cambio, utiliza electrones para iluminar un objeto. Dado que los electrones tienen una longitud de onda mucho menor que la de la luz pueden mostrar estructuras mucho más pequeñas. La longitud de onda más corta de la luz visible es de alrededor de 4.000 ángstroms. La longitud de onda de los electrones que se utilizan en los microscopios electrónicos es de alrededor de 0,5 ángstroms.

Todos los microscopios electrónicos cuentan con varios elementos básicos. Disponen de un cañón de electrones que emite los electrones que chocan contra el espécimen, creando una imagen aumentada. Se utilizan lentes magnéticas para crear campos que dirigen y enfocan el haz de electrones, ya que las lentes convencionales utilizadas en los microscopios ópticos no funcionan con los electrones. El sistema de vacío es una parte relevante del microscopio electrónico. Los electrones pueden ser desviados por las moléculas del aire, de forma que tiene que hacerse un vacío casi total en el interior de un microscopio de estas características. Por último, todos los microscopios electrónicos cuentan con un sistema que registra o muestra la imagen que producen los electrones.

Hay dos tipos básicos de microscopios electrónicos: el microscopio electrónico de transmisión (Transmission Electron Microscope, TEM) y el microscopio electrónico de barrido (Scanning Electron Microscope, SEM).

El microscopio electrónico de transmisión permite la observación de muestra en cortes ultrafinos. Un TEM dirige el haz de electrones hacia el objeto que se desea aumentar. Una parte de los electrones rebotan o son absorbidos por el objeto y otros lo atraviesan formando una imagen aumentada del espécimen. Para utilizar un TEM debe cortarse la muestra en capas finas, no

mayores de un par de miles de ángstroms. Se coloca una placa fotográfica o una pantalla fluorescente detrás del objeto para registrar la imagen aumentada. Los microscopios electrónicos de transmisión pueden aumentar un objeto hasta un millón de veces.

Un microscopio electrónico de barrido crea una imagen ampliada de la superficie de un objeto. No es necesario cortar el objeto en capas para observarlo con un SEM, sino que puede colocarse en el microscopio con muy pocos preparativos. El SEM explora la superficie de la imagen punto por punto, al contrario que el TEM, que examina una gran parte de la muestra cada vez. Su funcionamiento se basa en recorrer la muestra con un haz muy concentrado de electrones. Los electrones del haz pueden dispersarse de la muestra o provocar la aparición de electrones secundarios. Los electrones perdidos y los secundarios son recogidos y contados por un dispositivo electrónico situado a los lados del espécimen. A medida que el haz de electrones barre la muestra, se presenta toda la imagen de la misma en el monitor. Los microscopios electrónicos de barrido pueden ampliar los objetos 200.000 veces o más. Este tipo de microscopio es muy útil porque, al contrario que los TEM o los microscopios ópticos, produce imágenes tridimensionales realistas de la superficie del objeto.

Tratamiento de las muestras

Para el análisis por microscopía electrónica de barrido (SEM) de la microestructura del tejido curado se usaron pequeñas muestras de tejido cárnico de 0.5 cm de diámetro y 0.2-0.3 cm de espesor. Las muestras fueron sumergidas en diferentes soluciones de nitrato de potasio 2.5 g/L o nitrito de sodio 3 g/L (en ausencia de NaCl y con 10, 70 y 140 g/L de NaCl) y en distintas concentraciones de NaCl (5, 10, 70, 140 y 330 g/L) durante al menos 48 horas hasta alcanzar las concentraciones de equilibrio. Las muestras se fijaron con Carnoy (alcohol etílico 60% v/v, cloroformo 30% y ácido acético

glacial 10%) a 4°C durante 24 horas. Luego se deshidrataron usando una serie de alcohol etílico de concentración creciente: 70% (12h), 95% (2h) y 100% (2h) y se evaporó el alcohol. Las muestras fijadas fueron montadas sobre una matriz de aluminio y recubiertas por una lámina de oro (40-50 nm). Las micrografías se observaron en un microscópico electrónico de barrido (JEOL JSMP100, Japón).

2.4 ACTIVIDAD ACUOSA (a_w) DEL TEJIDO

Metodología

Para medir la actividad acuosa del tejido se utilizó un equipo Aqua Lab Serie 3 TE (E.E.U.U.), calibrado con una solución de NaCl ($a_w = 0.753 \pm 0.002$) y agua bidestilada ($a_w = 1$). El equipo utiliza la técnica de punto de rocío por condensación sobre un espejo sometido a enfriamiento controlado eléctricamente basado en el efecto Peltier. Las medidas fueron realizadas a 25°C.

Modelo para el cálculo de a_w

Lupin y col. (1981), Favetto y Chirife (1985) propusieron una ecuación para predecir valores de a_w

$$a_w = 1 - K^*M \quad (2.1)$$

siendo K^* una constante para cada soluto, que incluye el efecto de la presión osmótica y en el caso de ser un electrolito, el grado de disociación de éste; y M la molalidad del soluto.

Esta ecuación es válida para calcular la actividad de agua de una solución o de un alimento que se comporta como una solución binaria, en donde el soluto puede ser un electrolito o un no electrolito, y supone que si

bien el coeficiente osmótico varía con la molalidad del soluto, estos cambios son relativamente pequeños dentro de cierto intervalo de molalidad. De esta forma y utilizando datos experimentales de a_w para soluciones binarias, Favetto y Chirife (1985) aplicaron la **Ecuación 2.1** y a partir de un análisis de regresión lineal obtuvieron valores de K^* para diferentes solutos; para el caso de NaCl $K^*=0.03710$ (mol^{-1}). Dichos autores recomiendan emplear dicha ecuación dentro del intervalo de a_w de 0.85 a 0.99, intervalo en el cual encontraron una buena concordancia entre los valores predichos y experimentales (Welti y col. 1997).

2.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando el software SYSTAT (SYSTAT Inc., 1990, version 5.0). Las diferencias significativas entre las medias fueron determinadas por el método de la menor diferencia significativa, LSD ($P<0.05$).

Capítulo 3

Difusión de cloruro de sodio en tejido cárneo

En este capítulo se analiza la difusión de NaCl en tejido cárneo, mediante la inmersión a distintos tiempos de muestras de tejido en soluciones cuyas concentración estaban comprendidas entre 30-200 g/L. También se estudia el efecto que produce la adición de NaNO_2 3g/L y KNO_3 2.5g/L sobre los coeficientes de difusión de NaCl.

Se aplicaron balances de materia para determinar los cambios en el contenido de agua, en la cantidad de sal ingresada en el tejido y cuantificar la solubilización de proteínas durante la inmersión a distintos tiempos (15 minutos - 48 horas) de muestras pequeñas en diferentes soluciones de NaCl cuya concentraciones estaban comprendidas entre 5-330 g/L.

Se utilizó la técnica de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) para analizar el efecto del NaCl en la desnaturalización proteica en muestras de carne porcina sumergidas en soluciones con concentraciones comprendidas entre 5-50 g NaCl /L .

Se estudió el efecto del NaCl sobre la microestructura de las fibras musculares por observación microscópica en Microscopio Electrónico de Barrido.

3.1 ACTIVIDAD ACUOSA (A_w) DEL TEJIDO

Es importante asegurarse la estabilidad microbiológica del producto curado, por lo cual es necesario conocer los valores de a_w ya que como se explicó en el capítulo 1, existen valores mínimos de actividad acuosa para diferentes microorganismos, por debajo de los cuales los microorganismos no se desarrollan.

Se midió la actividad acuosa en el tejido para muestras inmersas en diferentes concentraciones de NaCl en equilibrio. Los valores obtenidos de actividad acuosa se presentan en la **Tabla 3.1**.

Los valores experimentales de a_w se pueden comparar con las predicciones obtenidas a partir de la ecuación propuesta por Lupin y col. (1981), Favetto y Chirife (1985), presentada en la sección 2.4.

Tabla 3.1 Variación de la actividad acuosa del tejido cárneo con la concentración del NaCl.

Concentración de NaCl en el tejido mg NaCl/ g carne	Concentración de inmersión de NaCl g/L	a_w de las muestras carneas a 25°C	Predicción de a_w mediante la Ecuación 2.1
3.7	5g/L	0.997	0.997
7.4	10g/L	0.993	0.993
22.2	30g/L	0.985	0.980
51.1	70g/L	0.955	0.952
72.0	100g/L	0.946	0.930
105.0	140g/L	0.918	0.897
149.0	200g/L	0.876	-
246.2	330g/L	0.803	-

La ecuación utilizada (**Ecuación 2.1**) para realizar la predicción de los valores de a_w ajustó correctamente los valores experimentales (diferencia entre el valor predicho y experimental ≤ 0.005) hasta 70 g/L, y para mayores concentraciones las diferencias entre dichos valores se incrementa, mientras que para 200 y 330 g/l queda fuera del intervalo de aplicación del modelo.

3.2 MODELO MATEMÁTICO DEL PROCESO DIFUSIVO

Las matrices alimenticias son extremadamente complejas, tienen una estructura heterogénea, sin embargo en muchos casos la transferencia de una sustancia desde la superficie hacia el centro del alimento es analizado como si fuera un sistema pseudo-binario (soluto-tejido) y resulta posible aplicar las soluciones analíticas exactas para sistemas binarios (Zaritzky y Califano 1999), utilizando un coeficiente de difusión efectivo que se determina experimentalmente (Wood, 1966; Stahl y Loncin, 1979; Fox, 1980; Dussap y Gros, 1980; Schwartzberg y Chao, 1982; Gros y col., 1984; Djelveh y Gros, 1988; Sabadini y col., 1998; Wang y col., 2000).

Puede considerarse al tejido cárneo como una matriz sólida constituida por proteínas y grasas y una fase acuosa en la cual difunden los solutos. El mecanismo de difusión en tejidos puede ser analizado usando la forma general del balance microscópico de materia, en términos de una difusividad en la matriz (D_m).

Para la determinación experimental de los coeficientes de difusión de las distintas sales se utilizó un sistema de difusión radial en cilindros infinitamente largos. Para el caso no estacionario de difusión binaria radial (cilindro infinito), la concentración es función del radio (r) y del tiempo (t), y la ecuación de difusión viene dada por:

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(r D_m \frac{\partial C}{\partial r} \right) \quad (3.1)$$

donde C es la concentración de soluto en el tejido cárneo expresada en g soluto/ g tejido; r , es el radio del cilindro; D_m , el coeficiente de difusión efectiva en el tejido (m^2/s), y t , tiempo (s).

La solución de la **Ecuación 3.1** depende de las condiciones iniciales y de contorno. Si consideramos que el material sólido inicialmente contiene una

concentración del soluto C_0 (expresada como la masa de soluto por masa de tejido); y además consideramos que la muestra está sumergida en una solución de gran volumen tal que la cantidad de soluto captada por la muestra es una fracción despreciable de la solución y el medio líquido está bien agitado, entonces la concentración del soluto en la interfase permanece constante (C_f); teniendo en cuenta que en el centro se cumple la condición de simetría, entonces las condiciones iniciales y de contorno son las siguientes:

$$\begin{array}{lll}
 t = 0 & C = C_0 & 0 \leq r \leq R \\
 t > 0 & C = C_f & r = R \\
 t > 0 & \frac{\partial C}{\partial r} = 0 & r = 0
 \end{array} \quad (3.2)$$

donde C_f es la concentración del soluto en el tejido en la interfase expresada como masa de soluto /masa de tejido la cual se halla en equilibrio con la concentración del soluto en la solución de inmersión C'_f (masa de soluto por unidad de volumen de solución). Dicha relación de equilibrio está dada por :

$$C_f = \varepsilon \cdot C'_f$$

Si el soluto difunde en la matriz sólida a través de una fase acuosa, el valor de ε está relacionado con el contenido de agua en el tejido (volumen de agua/ masa de tejido cárneo).

Considerando estas condiciones de contorno la solución analítica de la **Ecuación 3.1** que permite calcular los perfiles de concentración del soluto en función del tiempo es (Crank 1975):

$$\frac{C - C_f}{C_0 - C_f} = 1 - \frac{2}{R} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{\exp(-Dm\alpha_n^2 t) J_0(r\alpha_n)}{\alpha_n J_1(R\alpha_n)} \quad (3.3)$$

donde $(R \cdot \alpha_n)$ son las raíces enésimas de la ecuación $J_0(R \cdot \alpha_n) = 0$ con J_0 función Bessel de orden cero y J_1 función Bessel de orden uno.

Integrando la solución analítica (Ecuación 3.3) entre 0 y R se obtiene la masa del soluto que penetra en el tejido $M(t)$ en función del tiempo:

$$M^* = \frac{M(t)}{M(\infty)} = \left(1 - \sum_{n=1}^{\infty} 4 \frac{\exp(-Dm\alpha_n^2 t)}{R^2 \alpha_n^2} \right) \quad (3.4)$$

donde $M(t)$ es la masa de soluto que ingresó al tejido al tiempo t , $M(\infty)$ es la máxima cantidad de soluto que puede entrar a tiempo infinito y que corresponde a la concentración de sal en el tejido que está en equilibrio con la solución externa. Las magnitudes $M(t)$ y $M(\infty)$ se expresan como g soluto /g tejido. La cantidad de soluto incorporada se expresa en forma adimensional como M^* .

A los efectos de determinar los coeficientes de difusión de las sales de curado en el tejido cárneo se realizaron ensayos experimentales unidireccional en cilindros en los cuales se midieron los valores de $M(t)$ y $M(\infty)$.

Se desarrolló un programa computacional en Mathcad 7 Professional (Mathsoft Engineering & Education, Inc., Cambridge, Mass., U.S.A.) para calcular los coeficientes de difusión de cloruro de sodio en las distintas condiciones de ensayo.

Se propusieron valores del coeficiente de difusión Dm , calculándose según la **Ecuación 3.4** los valores teóricos (M^*). En esta ecuación fue considerado el diámetro de cada muestra. Se procedió en forma iterativa hasta encontrar el valor de difusividad que hiciera mínima tanto la suma de los residuos, como la suma de los residuos al cuadrado.

Se denominó residuo a la diferencia entre los valores experimentales de la masa de soluto ingresada y la masa ingresada teórica (M^*) calculada mediante la **Ecuación 3.4**.

3.3 DETERMINACIÓN DEL COEFICIENTE DE DIFUSIÓN DE CLORURO DE SODIO

3.3.1 Procedimiento experimental para determinar coeficientes de difusión en soluciones individuales de NaCl en el tejido cárneo

Para determinar el coeficiente de difusión efectivo (D_m) del cloruro de sodio en el tejido se utilizó un sistema de difusión radial (unidireccional) en cilindros infinitamente largos. Se seccionaron cilindros de músculo *Longissimus dorsi* porcino de 10 cm de largo y aproximadamente 1.2 cm de diámetro paralelos a las fibras musculares y se sumergieron en diferentes soluciones salinas constituidas por NaCl (30g/L, 70g/L, 100g/L, 140g/L y 200g/L).

Las soluciones se agitaron fuertemente para asegurar una concentración constante de soluto en la interfase sólido-fluido. A distintos tiempos se retiraron de la solución de inmersión las muestras cilíndricas (por duplicado), eliminándose las zonas adyacentes a los extremos de modo tal que quedarán los 2,5 cm centrales, evitando así los efectos de borde que pudieran haberse producido por la difusión axial a través de las bases. Se midió el diámetro y se pesó cada muestra.

Se determinó la cantidad de cloruro en la muestras a los diferentes tiempos de contacto mediante el uso de un electrodo selectivo de cloruro siguiendo el procedimiento descrito en la sección 2.2.3. El tiempo total de cada corrida fue aproximadamente de 3 horas

Todas las experiencias se realizaron a 4°C (en cámara refrigerada) y a 20°C (en cuarto termostatzado), como mínimo por duplicado.

Para cada corrida se determinó por duplicado la humedad inicial del músculo, para lo cual se tomaron muestras de carne que se secaron en estufa a vacío a 95°C hasta peso constante.

Las concentraciones de equilibrio de NaCl así como el contenido de humedad final del tejido se obtuvieron por inmersión de las muestras (de las mismas dimensiones) en las distintas soluciones durante al menos 48 horas.

3.3.2 Valores experimentales de la masa de NaCl incorporada en soluciones individuales a diferentes concentraciones.

En las **Figuras 3.1, 3.2, y 3.3** se muestran los valores experimentales de $M(t)$ expresados como mg NaCl/ g carne en función del tiempo de inmersión para las diferentes soluciones de NaCl utilizadas (30g/L, 70g/L, 100g/L, 140g/L y 200g/L).

Para todas las concentraciones se observa que la cantidad de NaCl se incrementaba a lo largo del tiempo y que la masa de NaCl incorporada al tejido era mayor para una misma concentración a 20°C que a 4°C.

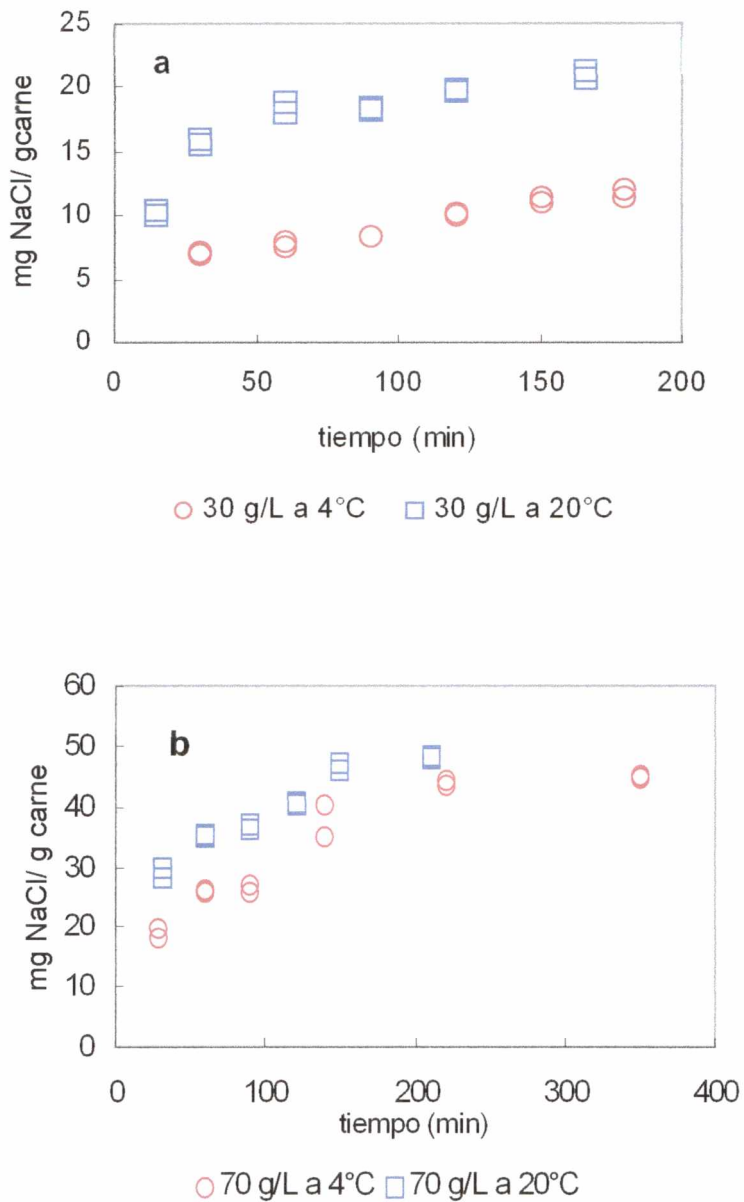


Figura 3.1: Variación del contenido de cloruro de sodio en tejido cárneo en función del tiempo de inmersión en soluciones individuales **a)** NaCl 30 g/L a 4°C y 20°C **b)** NaCl 70g/L a 4°C y a 20°C.

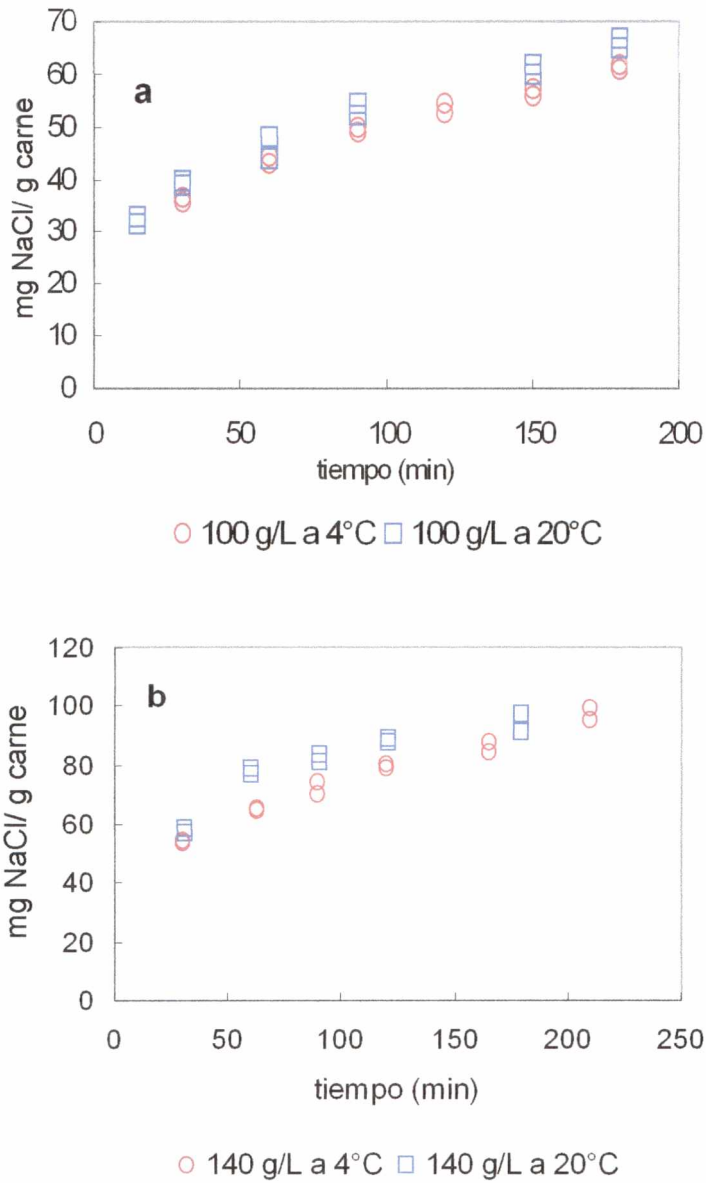


Figura 3.2: Variación del contenido de cloruro de sodio en tejido cárnico en función del tiempo de inmersión en soluciones individuales **a)** NaCl 100 g/L a 4°C y 20°C **b)** NaCl 140g/L a 4°C y a 20°C.

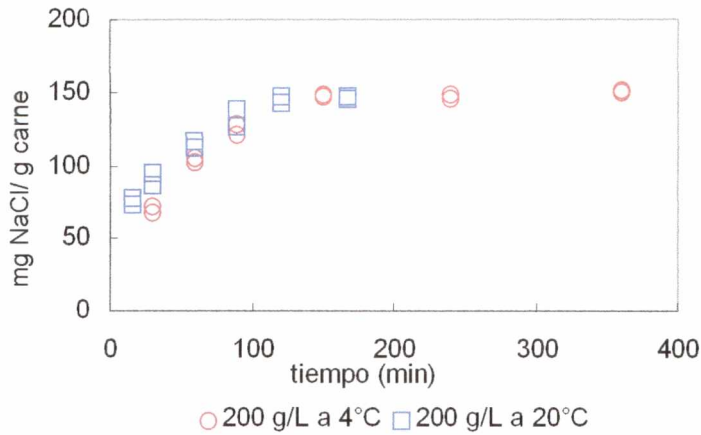


Figura 3.3: Variación del contenido de cloruro de sodio en tejido cárnico en función del tiempo de inmersión en solución individual de NaCl 200 g/L a 4°C y 20°C

La ecuación a aplicar (Ecuación 3.4) para la determinación del coeficiente de difusión en el tejido cárnico incluye además de $M(t)$ los valores de $M(\infty)$ que corresponden a la masa del soluto que se incorpora en forma difusiva en el equilibrio. Los valores experimentales para $M(\infty)$ se muestran en la **Tabla 3.2**

Tabla 3.2: Valores de equilibrio de NaCl en carne ($M(\infty)$) expresados como (masa de NaCl/masa de tejido cárnico) para diferentes concentraciones de las soluciones de inmersión a largos tiempos de contactos (48 horas).

Concentración de NaCl de las soluciones de inmersión	$M(\infty)$ mg NaCl/ g carne
NaCl 30g/L	22,2
NaCl 70g/L	51.1
NaCl 100g/L	72.0
NaCl 140g/L	105.0
NaCl 200g/L	149.0

3.3.3 Valores experimentales de masa de NaCl incorporada en soluciones que incluían nitrito de sodio o nitrato de potasio.

A los efectos de analizar si la presencia de otros solutos como nitrito de sodio o nitrato de potasio afectaba a los coeficientes de difusión de NaCl en el tejido, se realizaron experimentos en los cuales se siguió el procedimiento descrito en 3.2.1, pero sumergiendo las muestras en soluciones compuestas por: NaCl 70g/L +NaNO₂ 3g/L, NaCl 140g/L +NaNO₂ 3g/L y NaCl 140g/L + KNO₃ 2.5g/L.

Los valores experimentales para las diferentes soluciones constituidas por NaCl (70g/L ,140g/L) y NaNO₂ 3g/L o KNO₃ 2.5g/L, expresados como mg NaCl/ g carne en función del tiempo de inmersión se muestran en las **Figuras 3.4 y 3.5**.

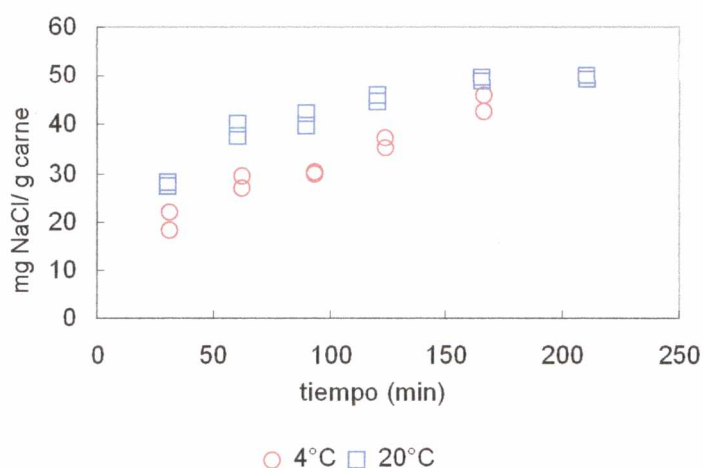


Figura 3.4: Variación del contenido de cloruro de sodio en tejido cárnico en función del tiempo de inmersión en una solución de NaCl 70g/L conteniendo NaNO₂ 3g/L a 4°C y a 20°C.

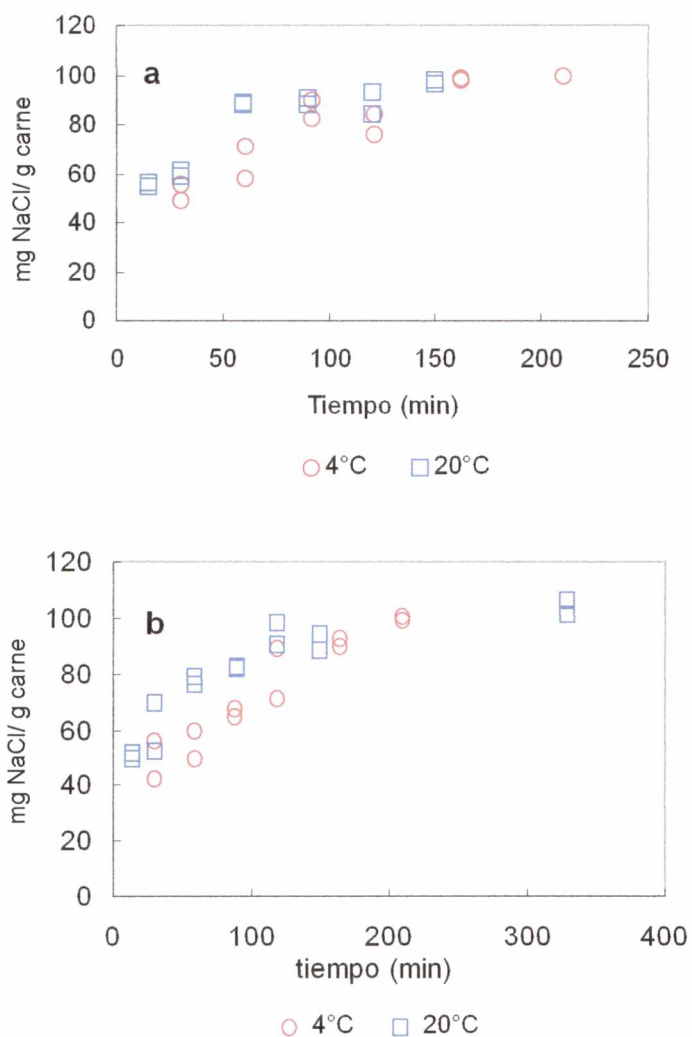


Figura 3.5: Variación del contenido de cloruro de sodio en tejido cárneo en función del tiempo de inmersión en soluciones
a) NaCl 140 g/L+ NaNO₂ 3g/L a 4°C y 20°C
b) NaCl 140g/L + KNO₃ 2.5g/L a 4°C y a 20°C.

Los valores experimentales de NaCl correspondientes a $M(\infty)$ en las soluciones que incluían nitrito de sodio y nitrato de potasio se muestran en la **Tabla 3.3**

Tabla 3.3: Valores de equilibrio de NaCl en carne $M(\infty)$ expresados como masa de NaCl/masa de tejido cárneo para diferentes soluciones de inmersión a largos tiempos de contactos (48 horas).

Soluciones de NaCl conteniendo otro solutos	$M(\infty)$ mg NaCl/ g carne
NaCl 70g/L + NaNO ₂ 3g/L	51.8
NaCl 140g/L + NaNO ₂ 3g/L	103.6
NaCl 140g/L + KNO ₃ 2.5g/L	105.0

Comparando los valores de $M(\infty)$ con los presentados en la **Tabla 3.2**, se observó que prácticamente no hay efecto del nitrito de sodio y del nitrato de potasio sobre los valores de equilibrio de NaCl a largos tiempos de contactos.

3.3.4 Resultados preliminares

Es importante remarcar que cuando se utilizó la **Ecuación 3.4** para ajustar los coeficientes de difusión del NaCl alimentando los valores de $M(t)$ y $M(\infty)$ medidos expresados como (mg NaCl/g de carne) los valores de D_m obtenidos resultaban superiores a los correspondientes a NaCl en agua ($D=8.5 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ a 4°C y $14.1 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ a 20°C).

Dados que este resultado no puede ser considerado como válido se investigaran las causas por las cuales la ecuación analítica aplicada no proporcionaba valores razonables de coeficientes de difusión y fundamentalmente el rol del agua en este proceso.

3.4 MODIFICACIONES SUFRIDAS POR EL TEJIDO CÁRNEO DEBIDO AL PROCESO DE INCORPORACIÓN DE SALES. BALANCES DE MATERIA EN EL TEJIDO CÁRNEO DURANTE LA INMERSIÓN EN NaCl.

El proceso de captación de sal en los tejidos es complejo ya que se producen modificaciones en el contenido de agua del tejido y se solubilizan las proteínas. Sin embargo en la literatura no se ha encontrado suficiente información cuantitativa acerca de estos fenómenos; por lo cual resulta necesario estudiar estos cambios en el sistema.

Por otra parte la difusión de solutos en tejido se produce a través de la fase líquida, por lo tanto expresar las concentraciones de soluto como masa de soluto por masa de carne si la masa de carne no permanece constante podría dar lugar a errores cuando se quieren determinar coeficientes de difusión utilizando la ecuación analítica 3.4.

Por lo tanto, se plantearon y resolvieron los balances de materia para cuantificar la cantidad de agua y sal incorporada y la solubilización proteica durante la inmersión en las soluciones de NaCl.

3.4.1 Metodología

Se cortaron muestras cilíndricas de músculo porcino *Longissimus dorsi* (3.6 cm de largo x 1.2 cm de diámetro). Se pesaron para obtener el peso inicial de cada muestra (M_0) y luego fueron sumergidas en soluciones de NaCl de diferentes concentraciones (10, 30, 70, 100, 140, 200, 330 g/L). Las soluciones se agitaron fuertemente (IKA Labortechnik) para asegurar una concentración constante de soluto en la interfase sólido-fluido. Los distintos tiempos de inmersión fueron 15, 30, 60, 90, 120, 150, y 180 min; luego las muestras fueron nuevamente pesadas (M_1) y se secaron en estufa a vacío a 95°C (AOAC 1984) hasta peso constante (M_2).

Para medir la cantidad de NaCl presente en las muestras luego de cada

período de inmersión (m_{NaCl}), el tejido cárneo seco fue homogeneizado en un equipo Omnimixer y la suspensión fue procesada siguiendo el procedimiento explicado en la 2.2.3. Los experimentos fueron realizados por duplicado 4°C en cámara refrigerada. Se determinó también la masa seca en muestras sin tratamiento ($m_{tejido\ seco\ 0} / M_0$).

Las concentraciones de equilibrio de NaCl y el contenido de agua se obtuvieron como ya se mencionó por inmersión de las muestras (3.6cm largo x 1.2cm diámetro) en las distintas soluciones durante al menos 48 horas.

3.4.2 Planteo de los balances de materia en el tejido cárneo durante el proceso de curado

Inicialmente el tejido puede ser considerado formado por agua y materia seca (el contenido inicial de NaCl fue despreciable) por lo cual se propuso la siguiente ecuación:

$$M_0 = m_{tejido\ seco\ 0} + m_{agua\ 0} \quad (3.5)$$

donde M_0 es la masa inicial de la muestra, $m_{tejido\ seco\ 0}$ es el contenido de materia seco, y $m_{agua\ 0}$ es el contenido de agua inicial en el tejido.

Después de la inmersión en la solución de NaCl, la sal fue incorporada a la muestra y algunas sustancias solubles pasaron a la solución, entonces:

$$M_1 = m_{NaCl} + m_{tejido\ seco} + m_{agua} \quad (3.6)$$

donde M_1 es la masa de la muestra, m_{NaCl} es la masa de NaCl que fue incorporada al tejido, $m_{tejido\ seco}$ es la masa de tejido seco, y m_{agua} es el contenido de agua en el tejido; todas estas magnitudes fueron evaluadas después de sumergir las muestras en las diferentes soluciones salinas.

El contenido de sólido luego de la inmersión en las soluciones (M_2) fue considerado como la suma del contenido de NaCl y el tejido seco, por lo tanto la masa de tejido seco luego de la inmersión fue evaluada como:

$$m_{tejido\ seco} = M_2 - m_{NaCl} \quad (3.7)$$

Durante la inmersión en las soluciones salinas parte de las proteínas fueron solubilizadas; esta cantidad fue calculada mediante la siguiente ecuación:

$$m_{\text{tejido solubilizado}} = m_{\text{tejido seco } 0} - m_{\text{tejido seco}} \quad (3.8)$$

3.4.3 Análisis de la variación en el contenido de agua en el tejido cárneo

El porcentaje medio de agua en las muestras sin tratamiento se hallaba entre 72 y 74 % (base húmeda).

El efecto del NaCl sobre la capacidad de retención de agua (CRA) para largos tiempos de contacto fue calculada como la variación entre el contenido de agua después de sumergir la muestra en la solución de NaCl (m_{agua}) y el contenido de agua inicial ($m_{\text{agua } 0}$) referido a este último valor.

$$\text{CRA} = \frac{m_{\text{agua}} - m_{\text{agua } 0}}{m_{\text{agua } 0}} \quad (3.9)$$

La **Figura 3.6** muestra los valores experimentales de capacidad de retención de agua (CRA) (**Ecuación 3.9**) en función de la concentración de NaCl en la solución para largos tiempos de contacto es decir, bajo condiciones de equilibrio.

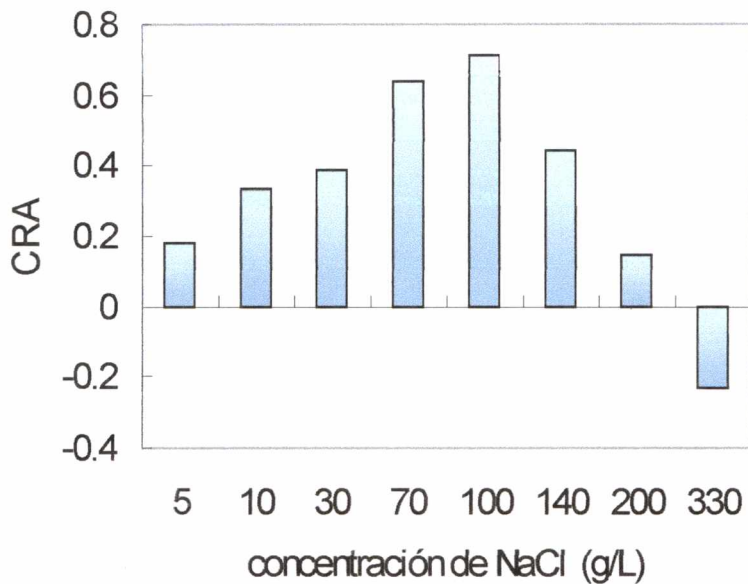


Figura 3.6: Capacidad de retención de agua $CRA = ((m_{agua} - m_{agua 0}) / m_{agua 0})$ en función de la concentración externa de la solución para largos tiempos de contacto (condiciones de equilibrio).

El tejido cárneo tratado con concentraciones crecientes de NaCl muestra importantes modificaciones. Para concentraciones de NaCl en la solución entre 5 y 200 g/L el tejido capta agua. La máxima cantidad de agua incorporada por el tejido fue observada para concentraciones de NaCl entre 70 y 100 g/L. Por encima de 200 g/L la capacidad de retención de agua desciende mostrando pérdida de agua a 330 g/L.

Similares resultados fueron encontrados por Knight y Parsons (1988) quienes trabajando con miofibrillas aisladas de músculo de conejo encontraron que hubo ganancia neta de agua hasta 4.5 M (260 g/L) NaCl con un máximo a 1M (58.5 g/L), pero se produjo pérdida de agua por arriba de 260 g/L.

A bajas concentraciones de NaCl se produjo hinchamiento de las fibras y se observó altos valores de capacidad de retención de agua, esto concuerda con los resultados obtenidos por Offer y Trinick (1983) y Belitz y Grosch (1997),

quienes utilizaron para los ensayos miofibrillas aisladas de conejo. Dichos autores trabajaron en forma no cuantitativa. De acuerdo a Xiong y col. (2000), el incremento del agua ligada y la hidratación de las fibras musculares de la carne sometida a salado se atribuye al aumento de la repulsión electrostática entre los filamentos de las miofibrillas llevando a una expansión de la red para retener mayor cantidad de agua y observándose un hinchamiento de las fibras. Akse y col. (1993) encontraron que el hinchamiento del músculo y el "salting-in" ocurren a bajas concentraciones de sal (<50g/L), pero a concentraciones mayores (superiores a 90-100g/L) se produce el "salting-out" debido a la pérdida de agua de las proteínas.

El hinchamiento de las fibras es un importante proceso fisicoquímico involucrado en el procesamiento de la carne cruda antes de cocinar, y es el responsable del incremento de la hidratación y el aumento de la capacidad de retención de agua en los músculos. Varnam (1995) y Thorarinszdottir (2002) encontraron que cuando la carne porcina y de pescado se pone en contacto con una solución aproximadamente 58 g/L (1M) de NaCl alcanza el estado de máxima imbibición y con ello la cantidad de agua en el tejido es máxima. Si se continúa agregando sal, disminuye el volumen de la carne y el agua retenida, llegándose a un estado en el cual la carne en conjunto no solo deja de fijar agua, sino que incluso pierde la suya propia. Si se considera el proceso desde el punto de vista de las proteínas en solución, se comprueba que lo que ocurre es su precipitación; lo mismo sucede por la acción de otras sales. Si se continúa agregando sal se llega a un punto en que los haces musculares no pierden más agua y a causa de la alta concentración salina se desnaturalizan las proteínas (Grau, 1965; Akse y col., 1993).

Utilizando los valores experimentales y los balances de masa fueron determinadas distintas relaciones, tales como: m_{NaCl}/M_0 , m_{agua}/M_0 , $m_{tejido\ solubilizado}/m_{tejido\ seco\ 0}$, siendo M_0 la masa inicial de muestra.

La **Figura 3.7 a y b** muestra cómo la relación m_{agua}/M_0 aumenta en función del tiempo; sin embargo cuando la concentración de NaCl en la

solución fue menor que 100g/L, el agua incorporada aumentó con la concentración de sal (**Figura 3.7 a**) mientras que para concentraciones mayores (140 y 200g/L) ocurrió lo contrario (**Figura 3.7 b**). La **Tabla 3.4** muestra los valores de equilibrio de m_{agua}/M_0 para todas las concentraciones ensayadas a largos tiempos de contacto (48 hs) (Graiver y col. 2006).

Puede notarse que a cortos tiempos de contactos (menores a 3 horas) las variaciones en el contenido de agua del tejido fueron mucho menores que a 48 horas, pasando de una humedad inicial de 0.72-0.74 a un contenido de humedad respecto de la masa inicial de carne de 0.9-1.3 para largos tiempos de contacto (48 horas). Para las concentraciones de NaCl comprendidas entre 30-140 g/L se observaron los mayores valores de incorporación de agua.

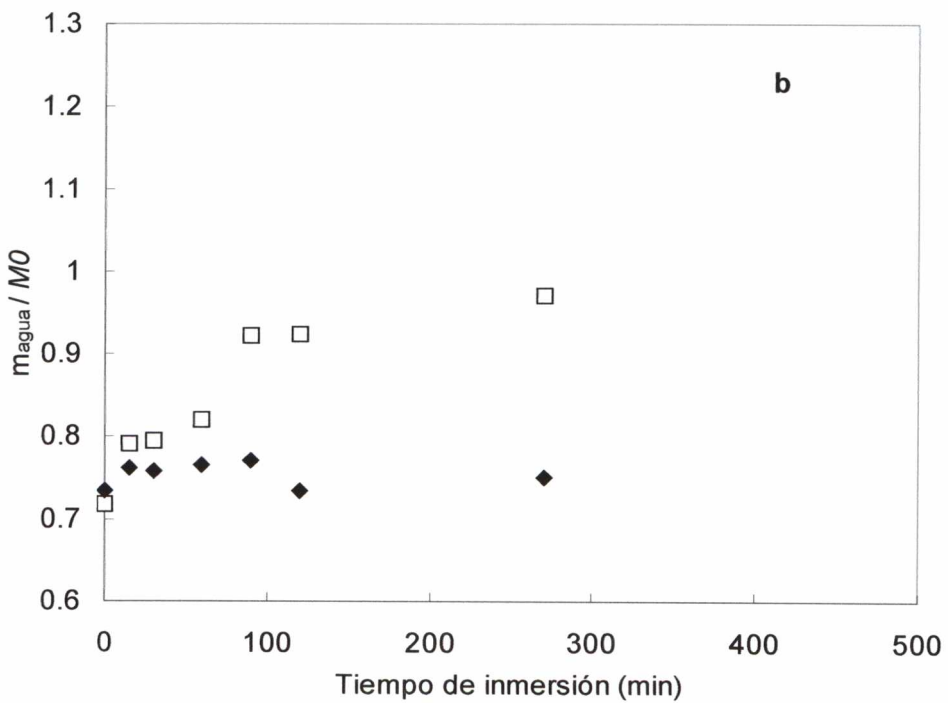
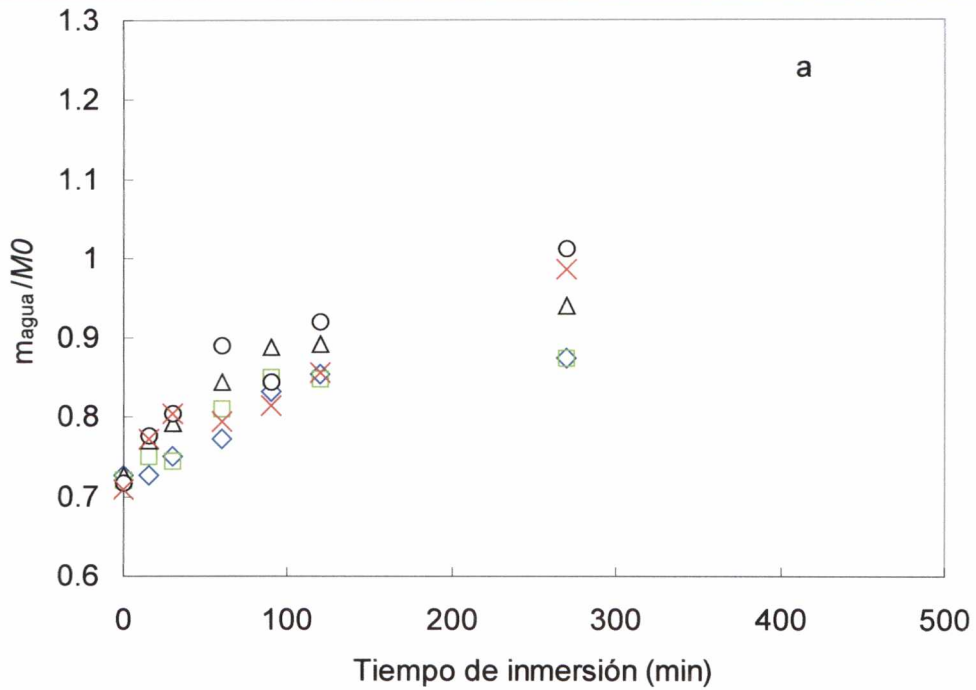


Figura 3.7: Masa de agua/masa de tejido inicial (g/g) para diferentes concentraciones de NaCl a) \diamond 5, \square 10, \triangle 30, \circ 70, \times 100 gNaCl/L y b) \square 140, \blacklozenge 200 gNaCl/L .

Tabla 3.4: Valores de equilibrio de la masa de agua/masa de tejido inicial (M_0) (g/g) para diferentes concentraciones de inmersión a largos tiempos de contactos (48 horas). La humedad inicial estaba comprendida entre 72-74%.

Concentración de la solución de inmersión NaCl (g/L)	m_{agua}/M_0 (g/g)
5	0.862
10	0.974
30	1.037
70	1.196
100	1.251
140	1.051
200	0.843

3.4.4 Análisis del contenido de NaCl en el tejido cárneo

La **Figura 3.8** muestra la relación entre la masa de NaCl incorporada por el tejido y la masa inicial de la muestra (m_{NaCl}/M_0) para diferentes tiempos de inmersión y distintas concentraciones de NaCl. En la **Tabla 3.5** se muestran los valores de m_{NaCl}/M_0 para largos tiempos de contacto a diferentes concentraciones. Esta relación aumentó en función del tiempo para todas las concentraciones ensayadas alcanzando el equilibrio para largos tiempos de contacto (48 horas).

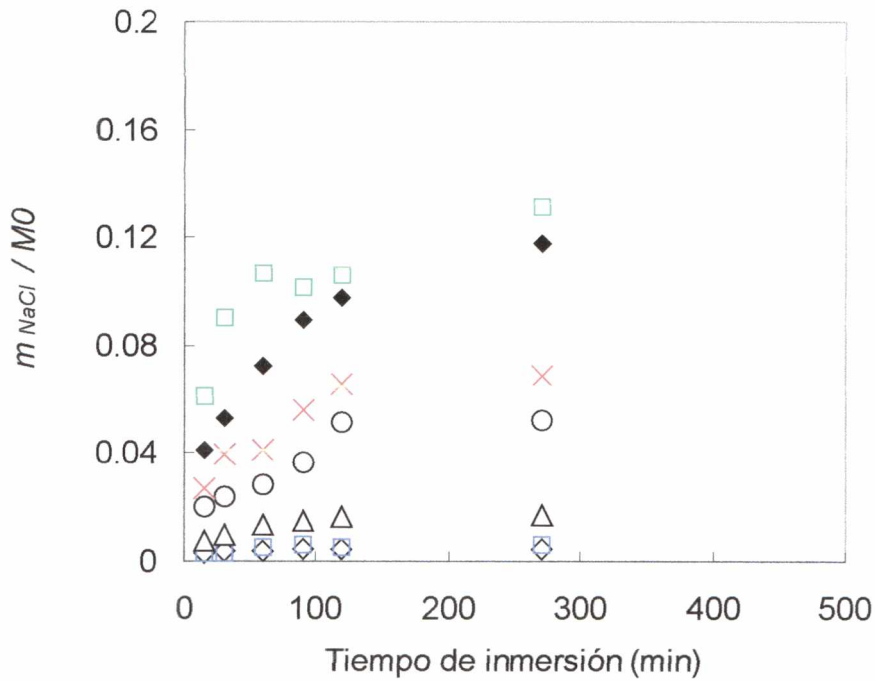


Figura 3.8: Masa de NaCl/masa inicial de muestra (M_0) (g/g) en función del tiempo de inmersión para diferentes concentraciones de NaCl: ◇ 5, ◻ 10, △ 30, ○ 70, × 100, ◆ 140, ◻ 200 g NaCl/L.

Tabla 3.5: Valores de equilibrio de la masa de NaCl/masa inicial de tejido (M_0) (g/g) para diferentes concentraciones de inmersión a largos tiempos de contactos (48 horas).

Concentración NaCl (g/L)	m_{NaCl}/M_0 (g/g)
5	0.004
10	0.006
30	0.021
70	0.082
100	0.090
140	0.122
200	0.164

3.4.5 Solubilización proteica

La relación entre la cantidad de proteína solubilizada (**Ecuación 3.9**) y el tejido seco inicial aumentó con el tiempo de inmersión. El mayor valor fue observado para una concentración de 70g/L NaCl en la solución para largos tiempos de contacto (**Figura 3.9 a**). La **Figura 3.9 b** muestra el efecto del tiempo de inmersión sobre la cantidad de proteína solubilizada para concentraciones de NaCl de 30 y 70 g/L. Se observaron diferencias significativas ($P < 0.05$) en la cantidad de proteína solubilizada. A 70g/L la solubilización de proteína fue más rápida que a 30g/L alcanzando similares valores para largos tiempos de contacto. Knight y Parsons (1988) trabajaron con músculo de conejo y obtuvieron resultados similares, ellos informaron que

la extracción de proteínas tiene un comportamiento similar al de incorporación de agua, mostrando un pico alrededor 58.5g/L NaCl que luego disminuyó a mayores concentraciones (263 g/L).

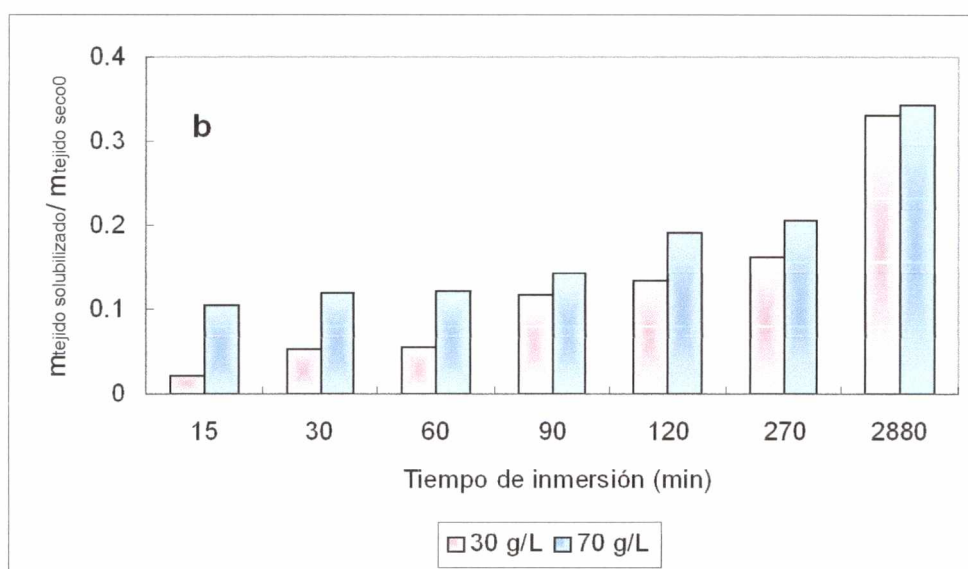
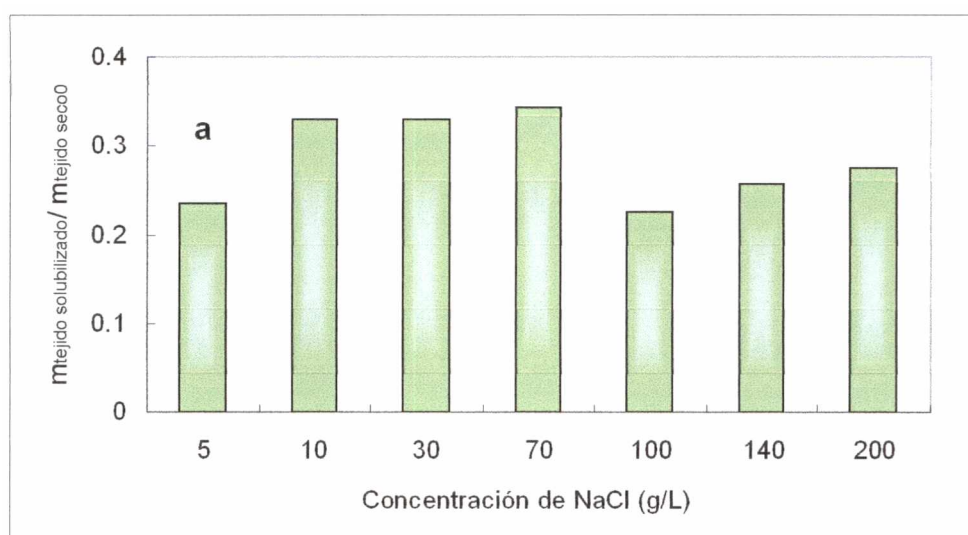


Figura 3.9: Relación entre la cantidad de proteína solubilizada y el contenido de tejido seco inicial **a)** en función de la concentración de NaCl para largos tiempos de contactos (48 horas), **b)** en función del tiempo de inmersión para concentraciones de NaCl de 30 y 70 g/L.

La cantidad de proteína solubilizada respecto a M_0 (la masa inicial de muestra) varió entre 1.8 y 9.7% para concentraciones de NaCl comprendidas entre 5g/L y 200g/L. La máxima cantidad de proteína solubilizada se observó para una concentración de NaCl de 70g/L.

3.5 ANÁLISIS DEL EFECTO DEL NaCl EN LA MICROESTRUCTURA DE LAS FIBRAS MUSCULARES POR OBSERVACIÓN MICROSCÓPICA EN SEM (MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO).

Las modificaciones de la microestructura del tejido al aumentar la concentración salina (**Figura 3.10**) pueden analizarse en las micrografías obtenidas con SEM de muestras de tejido sin tratamiento y tratadas con NaCl al 5, 140 y 330 g/L durante un tiempo de 48 horas de contacto. La muestra tratada con NaCl 5 g/L (**Figura 3.10 b**) evidenció una pequeña diferencia con respecto a la muestra control (**Figura 3.10 a**), la estructura de las miofibrillas parecen estar intactas. Las fibras en la **Figura 3.10 c** sometidas a NaCl 140 g/L muestran hinchamiento, mientras que la concentración NaCl 330 g/L (**Figura 3.10 d**) produjo fragmentación y deshidratación de las fibras, con una apariencia granular.

Estas micrografías refuerzan los resultados obtenidos mediante los balances de materia, ya que tanto el aumento de la capacidad de retención de agua como la deshidratación del tejido (330g/L) traen aparejado modificaciones en la estructura proteica.

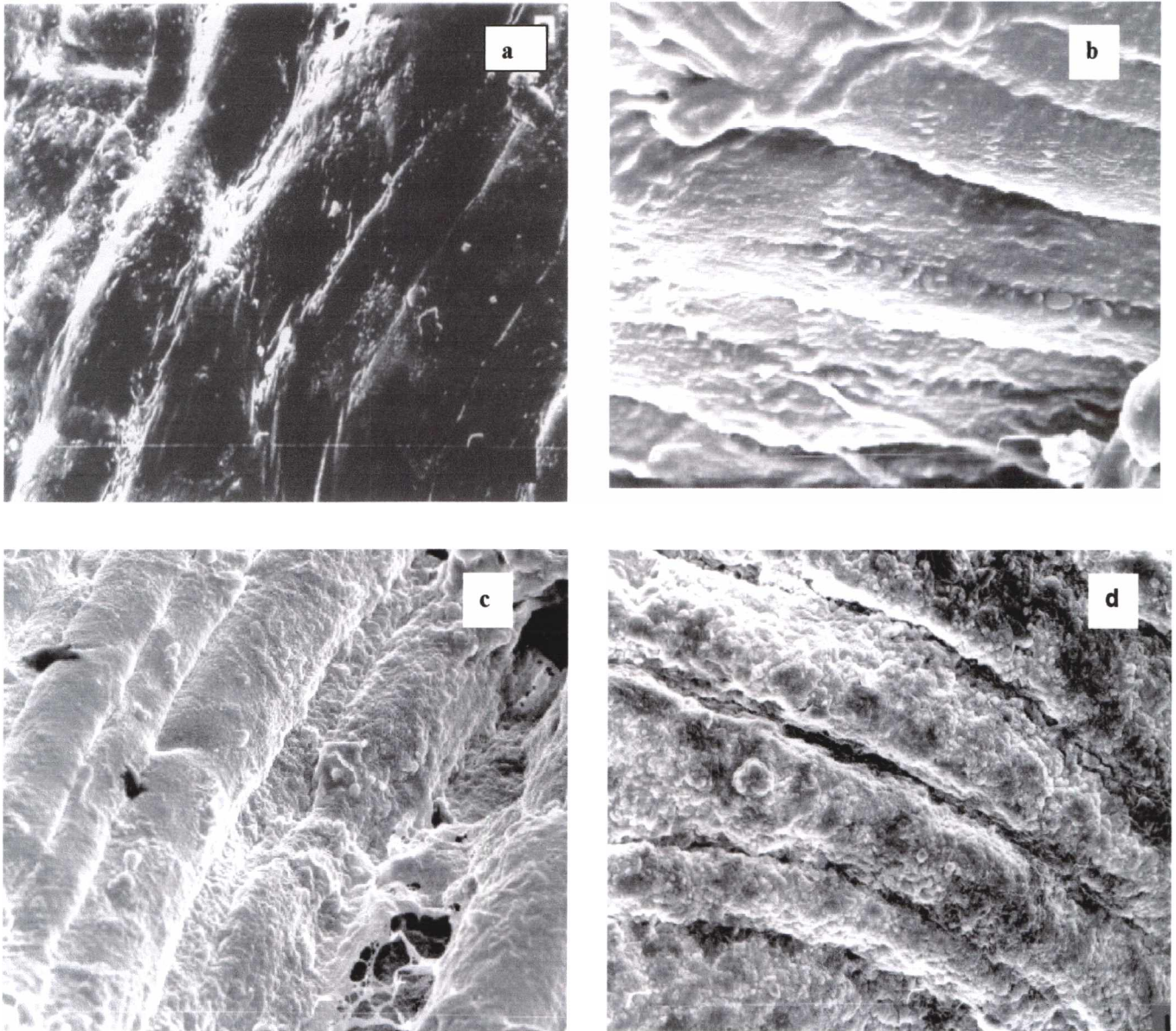


Figura 3.10: Micrografías SEM del tejido cárnico porcino tratado con diferentes soluciones de NaCl 5, 140 y 330 g/L: **a)** control, **b)** muestras tratadas con NaCl 5 g/L, **c)** muestras tratadas con NaCl 140 g/L, **d)** muestras tratadas con NaCl 330 g/L.

3.6 ANÁLISIS DE LA DESNATURALIZACIÓN PROTEICA POR EFECTOS DE NaCl A TRAVÉS DE CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC).

3.6.1 Metodología

Para estudiar el efecto del NaCl en la desnaturalización de las proteínas del músculo se realizaron ensayos de calorimetría diferencial de barrido con un DSC (Polymer Laboratories, Rheometric Scientific, UK) provisto de un software Plus V5.41. Para esto pequeñas piezas de carne (aproximadamente 500 mg) fueron sumergidas en soluciones de NaCl de 5, 10, 20, 30, 40, y 50 g/L durante 2 hs. Se obtuvieron muestras de 9-10 mg del centro de cada una de dichas pequeñas piezas; las muestras fueron colocadas en cápsulas de aluminio y selladas herméticamente. Se aseguró un buen contacto entre la muestra y el fondo de la cápsula. Se empleó una velocidad de calentamiento en el DSC de 10°C/min en el rango de 20 a 110°C utilizando como referencia una cápsula doble vacía. Luego de cada corrida del DSC las cápsulas fueron perforadas y se determinó el peso seco de las muestras por secado de las mismas bajo vacío a 95°C hasta peso constante. De los termogramas se obtuvieron las temperaturas máximas correspondientes a las transiciones de desnaturalización de proteínas. Cada ensayo fue realizado utilizando al menos cuatro muestras.

La calibración del instrumento se llevó a cabo con indio, ya que este elemento es de alta pureza, y tiene entalpías y punto de fusión perfectamente conocidos (ΔH fusión = 28.424 J/g; punto de fusión = 156.4 °C, ASTM E968-83).

3.6.2 Resultados y discusión

Mediante la técnica de Calorimetría Diferencial de Barrido se trató de analizar en los cambios proteicos que llevan a la modificación de la capacidad

de retención de agua del tejido tratado con NaCl.

Se analizaron termogramas obtenidos con DSC de muestras de carne porcina para establecer el efecto del NaCl en la desnaturalización proteica. En la muestra sin tratamiento se observaron tres picos con valores de T_{max} de 57.6°C , 66.2°C , y 80.3°C (**Figura 3.11**). Los tres picos observados corresponden a miosina (I), miosina, proteínas sarcoplásmicas y colágeno (II) y actina (III). Similares resultados fueron reportados por Quinn y col. (1980) quien encontró T_{max} a 59 , 66.5 , y 81°C para miofibrillas de carne porcina. Martens y Vold (1976) y Wright y col. (1977) hallaron que en carne bovina *M. semimembranosus* la mayor temperatura del pico (T_{max} 80°C) es debido a la desnaturalización de la actina, mientras que los dos picos con valores de T_{max} 59 y 66°C representan la desnaturalización de la miosina.

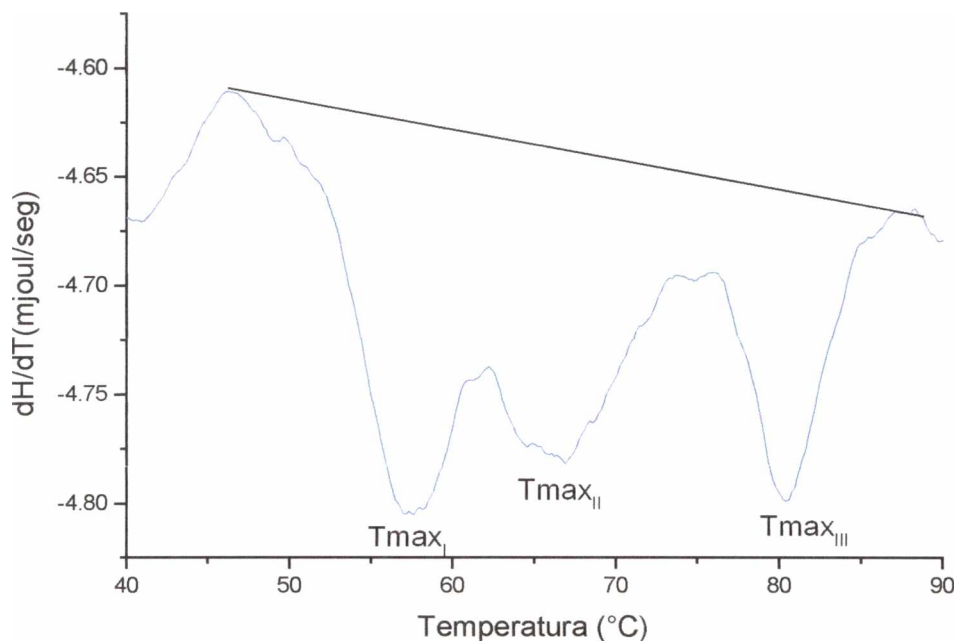


Figura 3.11: Termograma de músculo porcino
Longissimus dorsi fresco.

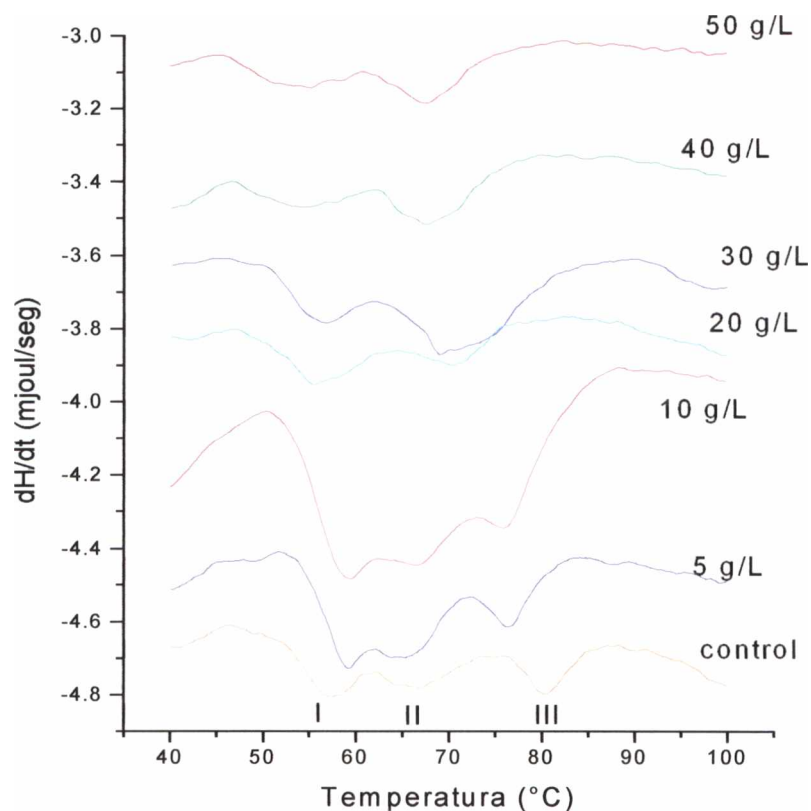


Figura 3.12: Termogramas de músculo porcino *Longissimus dorsi* después de los distintos tratamientos con concentraciones crecientes de NaCl.

Luego de sumergir las muestras en soluciones de 5 y 10 gNaCl/L todavía se observaron los tres picos, aunque perdieron definición (**Figura 3.12**). T_I aumentó a 59.2°C y T_{III} decreció hasta 77.4°C ($P < 0.05$) con respecto a las muestras control (**Tabla 3.6**). Quinn y col. (1980) encontraron en carne porcina que con la adición de 13g/L de NaCl los valores de T_{max} de los tres picos correspondieron a 57.5, 71, y 74.5 °C.

Cuando la concentración de NaCl fue incrementada hasta 20, 30, 40, y 50 g/L sólo se observaron dos picos en los termogramas (**Figura 3.12**). La

temperatura máxima del primer pico decreció desde 56.5 a 53.0°C y la del segundo desde 70.3 a 67.7°C en el rango de las concentraciones ensayadas. Los picos II y III se contrajeron en un solo pico que de acuerdo con los datos publicados por otros autores corresponde principalmente a la transición térmica de la actina.

Tabla 3.6 A y B Temperaturas de transición máxima obtenidas de los termogramas de músculo porcino *Longissimus dorsi* después de los distintos tratamientos con concentraciones diferentes de NaCl.

A

Concentración de NaCl	T _I (°C)	T _{II} (°C)	T _{III} (°C)
0 (control)	57.6 ^a	66.2 ^a	80.3 ^a
5 g/L	59.5 ^b	65.8 ^a	77.2 ^b
10 g/L	58.8 ^b	67.8 ^a	77.6 ^b

B

Concentración de NaCl	T _I (°C)	T _{II} (°C)
20 g/L	56.5 ^a	70.3 ^a
30 g/L	57.1 ^a	68.9 ^{a,c}
40 g/L	54.6 ^{a,b}	66.7 ^b
50 g/L	53.0 ^b	67.7 ^{b,c}

a, b, c : las letras distintas indican diferencia significativas entre las medias ($p < 0.05$) en una misma columna.

Diferentes autores analizaron el efecto de la adición de NaCl y otras sales sobre la desnaturalización proteica en diversos sistemas cárneos.

Kijowski y col. (1988) estudiaron las transiciones térmicas de pollo y de las miofibrillas aisladas de pollo (lavadas con agua), y particularmente el efecto

que produce la adición de NaCl en diferentes concentraciones: 10, 20, 30 y 40 g/L. Los termogramas analizados de las miofibrillas aisladas muestran dos transiciones principales, miosina a 57 °C y actina a 78 °C, y se observó que al incrementar el nivel de NaCl hasta 40g/L hay un descenso de la temperatura de transición del primer pico (miosina) y del segundo pico (actina), coincidentes con nuestros valores experimentales. Ellos observaron que T_{max} decrece desde 58.4 hasta 53.6°C para el caso de la miosina y desde 80.7 a 64.0°C para la actina. Simultáneamente un incremento de la concentración de NaCl produjo una reducción en la entalpía total. Similares resultados fueron encontrados para el músculo de pollo tratado con NaCl, para el cual se hallaron 4 transiciones: el primer pico corresponde a la miosina, el segundo y el tercero a las proteínas del sarcoplasma y colágeno y el último a la actina. Se observó una reducción en la estabilidad térmica de las proteínas cuando el músculo fue tratado con NaCl.

Thorarinsdottir y col. (2002) estudiaron el efecto del salado del bacalao por DSC y por electroforesis. Ello encontraron que al curar el músculo utilizando 147g/L NaCl las transiciones térmica decrecieron, los picos se hicieron más anchos y menos separables al compararlos con el tejido fresco, y que después de salar el músculo los picos de la actina y miosina se corrieron a menores temperaturas y no fue posible distinguir entre las transiciones de las proteínas sarcoplásmicas y la miosina. Esto fue probablemente debido a una esperada disminución en las proteínas sarcoplásmicas y a una ruptura parcial de la miosina durante el salado indicando la disociación de la cadena pesada de la miosina. Además informaron que el pico que corresponde a la transición de la actina se corrió de 73.5°C a 67.0°C. Esto se puede explicar debido a que al aumentar la fuerza iónica se solubilizan las proteínas miofibrilares y se induce a la miosina libre a asociarse con la actina para dar actomiosina. Notaron que la sal provoca una pérdida de agua y una solubilización de proteínas, ya que se afecta la estabilidad conformacional de las proteínas y se desnaturalizan. Estos autores observaron que la miosina es más sensible a los

tratamientos que la actina. La miosina puede tener una o más transiciones y los distintos subfragmentos pueden tener distintos comportamiento debido a los entornos diferentes. La fuerza iónica y el pH juegan un importante rol en la estabilidad conformacional de los fragmentos. Mediante estudios electroforéticos verificaron que a baja fuerza iónica la meromiosina pesada (HMM) muestra la más baja temperatura de transición pero a alta fuerza iónica la menor temperatura de transición fue atribuida a la meromiosina liviana (LMM). El proceso de salado provoca un descenso en la estabilidad térmica de la miosina y de la actina. La proteína se desnatura a temperatura menor y con menor energía.

La desestabilización por los iones sobre las proteínas miofibrilares fue observada en otros estudios sobre proteínas purificadas (Wright y col., 1977; Stabursvick y Martens, 1980). Wright y col. (1977) trabajó con músculo de conejo, y encontró tres picos endotérmicos a 60 °C, 67 °C y 80 °C correspondiente a la miosina, las proteínas sarcoplasmática y la actina, respectivamente.

Quinn y col. (1980) trabajaron con distintos músculos de diferentes animales (conejo, cerdo, vaca) y con emulsiones cárnicas (64% humedad, 25% grasa, 8.3% proteína y 2.9% NaCl). Analizaron el efecto del NaCl (13 g/L y 39 g/L) en cada tejido cárneo y observaron que cuando el NaCl es adicionado se producen cambios significativos en las curvas del DSC. Concluyeron que la presencia de NaCl en los músculos y en las emulsiones de carne altera la estabilidad disminuyendo la temperatura de desnaturalización y modificando los picos, ya que fueron observados nuevos picos.

Barbut y col. (1991) estudiaron el efecto que produce la adición de NaCl, KCl o MgCl₂ en diferentes concentraciones (12.5, 25 y 50 g/L) en carne vacuna. Un incremento en la concentración de las sales desestabiliza térmicamente a la miosina y a la actina. Similares resultados fueron hallados por Wright y col. (1984) en conejo. Ellos notan un descenso en la temperatura de desnaturalización de la miosina y un incremento en la temperatura de la actina

debido a la disociación de la actomiosina.

Barbieri y Ghillani (1997) estudiaron el curado en músculo de cerdo (*Longissimus dorsi*) por inyección de salmuera (25%) y cocción posterior. La desnaturalización de las proteínas miofibrilares comienza con la desnaturalización de la cadena de miosina pesada que resulta en un aglomerado soluble o la separación de partes de la meromiosina pesada dependiendo de la velocidad de cocción. Estos resultados indican que la miosina es la proteína más sensible, coincidentes con lo obtenidos por Thorarinszdotir y col. (2002).

3.7 ESTIMACIÓN DEL COEFICIENTE DE DIFUSIÓN DE NaCl EN EL TEJIDO CÁRNEO

Por lo expuesto en los balances de materia y constatado por las micrografías, se evidencia que el tejido cárneo no puede ser considerado simplemente formado por una matriz insoluble y una fase acuosa a través de la cual difunden los solutos, ya que se produce una modificación en el contenido de agua en el tejido. Es decir que la matriz cárnea no es invariante, sufre modificaciones y cambios en el contenido de humedad. Para poder entonces utilizar la **Ecuación 3.4** con el objeto de determinar los coeficientes de difusión deberían tenerse en cuenta los cambios en el contenido de agua.

Esto hace que $M(\infty)$ deba ser corregido considerando que a tiempos largos hay un mayor contenido de agua en el tejido. En cada experimento por lo tanto se afectaron los valores de $M(t) / M(\infty)$ por factores de corrección que tienen en cuenta la relación entre las humedades iniciales y finales para las distintas concentraciones ensayadas. Estos factores están comprendidos entre 0.87 y 0.91 para las diferentes concentraciones de NaCl utilizadas (30-200g/L) (Graiver y col. 2005).

Con los valores corregidos se fue alimentando al programa (Mathcad 7 Professional) distintos valores de D_m para cada concentración utilizada a 4°C y a 20°C, y se determinaron los valores de D_m que minimizaban los errores.

Los valores obtenidos de los coeficientes de difusión del NaCl en el tejido cárneo porcino a 4°C y a 20°C se muestran en la **Tabla 3.7** para las diferentes concentraciones ensayadas.

Tabla 3.7. Coeficientes de difusión efectivos (D_m _{sal-tejido}) de NaCl en tejido cárneo porcino sumergido en salmueras de diferente composición.

Solución	$D_m \times 10^{10}$ (m ² /s)NaCl	
	4°C	20°C
NaCl 30g/L	2.2 ^a	6.0 ^b
NaCl 70g/L	6.0 ^b	8.9 ^e
NaCl 100g/L	7.4 ^c	9.1 ^e
NaCl 140g/L	7.9 ^d	9.6 ^f
NaCl 200g/L	8.1 ^d	11.5 ^g
NaCl 70g/L + NaNO ₂ 3g/L	6.1 ^b	9.0 ^e
NaCl 140g/L + NaNO ₂ 3g/L	8.0 ^d	9.7 ^f
NaCl 140g/L + KNO ₃ 2.5g/L	7.9 ^d	9.7 ^f

Supraíndices distintos indican diferencias significativas entre las medias ($p < 0.05$).

Como se puede observar el coeficiente de difusión tiende a aumentar con el incremento de la concentración de NaCl en la salmuera (**Figura 3.13**).

El incremento de la temperatura produjo un aumento en el coeficiente de

difusión de NaCl.

Se observó que la incorporación de NaNO_2 3 g/L y KNO_3 2.5 g/L no afectaba significativamente al coeficiente de difusión de NaCl en las concentraciones ensayadas, tanto a 4°C como a 20 °C.

La **Figura 3.14 a y b** muestra como ejemplo los valores experimentales y los valores predichos de la cantidad de sal incorporada expresada en forma adimensional M^* ($M^* = M(t) / M(\infty)$, de la **Ecuación 3.4**) en función del tiempo de contacto, para una concentración de NaCl de 70 g/L y de 140 g/L, respectivamente a 4°C. Los D_m utilizados que minimizaban los errores fueron 6×10^{-10} m²/s para la solución de NaCl 70g/L y 7.9×10^{-10} m²/s para la solución de NaCl 140g/L.

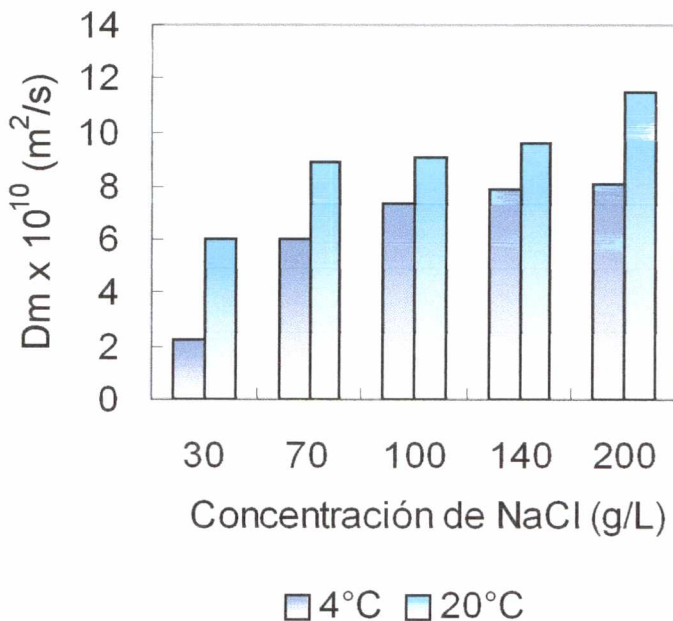


Figura 3.13: Coeficiente de difusión efectivo del cloruro de sodio en función de la concentración de NaCl a 4°C y a 20°C.

Otros autores informaron valores de coeficientes de sal en tejido cárneo.

Wood (1966) encontró en *Longissimus dorsi* porcino inmerso en solución saturada (320 g/L) un coeficiente de $2.2 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ a 12°C . Gros y col. (1984) encontraron a 2°C en *Longissimus dorsi* porcino un valor de $D_m = 2.19 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$. Sabadini y col. (1998) obtuvieron un valor de $2.5 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ para el coeficiente de difusión de NaCl por curado húmedo (en solución saturada) en carne vacuna a 10°C y Rodger y col. (1984) encontraron un valor de $2.3 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ a 20°C utilizando filetes de pescado inmersos en solución saturada de NaCl. El valor del coeficiente de difusión obtenido por Fox (1980) en tejido porcino *Longissimus dorsi* para un solución de NaCl 180g/L fue de $D_m = 2.2 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ a 5°C , sin embargo este último valor hay que interpretarlo cuidadosamente ya que dicho autor evaluó erróneamente las condiciones de contorno y no tuvo en cuenta la humedad de la carne.

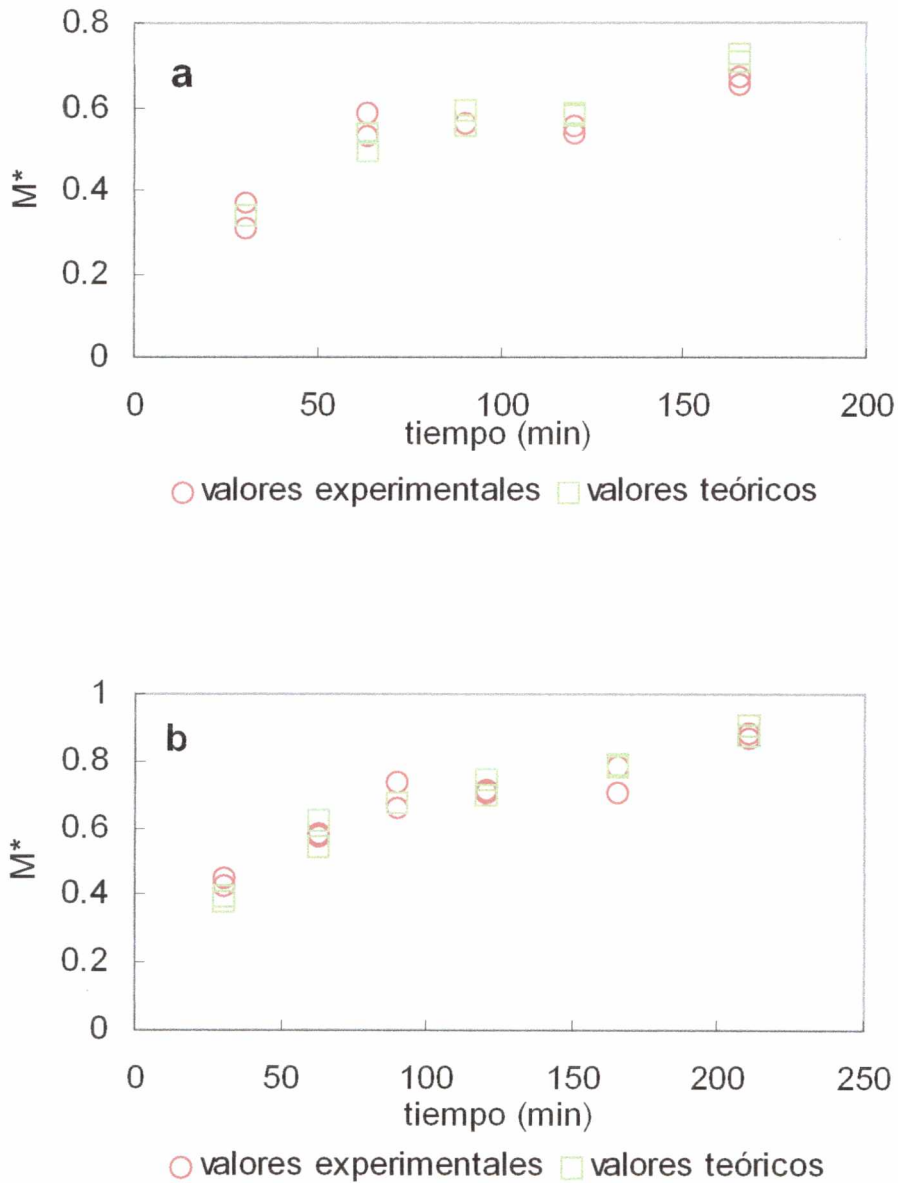


Figura 3.14: Variación del contenido de cloruro de sodio (M^*) en tejido cárnico en función del tiempo de inmersión para una concentración de **a)** NaCl 70 g/L a 4°C **b)** NaCl 140g/L a 4°C.

Dussap y col. (1980) trabajaron con muestras de carne colocadas en un lecho de NaCl sólido a 2°C, el modelo para la penetración de sal considera la porosidad de la carne que representa el porcentaje de materia seca. Ellos

obtienen un $D_m = 2.2 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ a 2°C .

Con referencia al efecto de la concentración de NaCl sobre el coeficiente de difusión, Wang y col. (2000) hallaron ecuaciones que predicen la variación del coeficiente de difusión en función de la concentración en el músculo de salmón atlántico; para pescado post-rigor la ecuación propuesta fue $D_m = (1.08 + 0.59 C') \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$, donde C' fue la concentración de NaCl en g/g sólido, obteniéndose valores de D_m que varían desde 1.09 hasta $1.52 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ para muestras descongeladas inmersas en solución de NaCl de 200g/L a 10°C .

El aumento del coeficiente de difusión con la concentración salina puede ser atribuida al efecto del NaCl sobre la microestructura de las fibras; el NaCl deteriora la estructura de las fibras y facilita su penetración a altas concentraciones.

Djelveh y col. (1988) trabajaron con concentraciones de NaCl en un rango entre 20 g/L a 200 g/L y obtuvieron que el coeficiente de difusión aumentaba desde $D_m = 7.69 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ hasta $8.73 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ respectivamente a 25°C . Ellos explican este incremento debido al hinchamiento que ocurre durante la transferencia del soluto al músculo desde una solución con alta concentración salina.

Otros autores informaron mayores valores de coeficientes de difusión. Del Valle y col. (1967) obtuvieron valores de coeficientes de difusión que varían entre 11.8 y $14.5 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ a 25°C para pez espada fresco inmerso en concentraciones de NaCl cuyo rango varió desde 5.8 a 180 g/L. Sabadini y col. (1998) obtuvieron mayores valores de coeficientes de difusión, $D_m = 19.37 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ para el salado seco de carne vacuna a 20°C . Este último valor es extremadamente altos y mayor que el coeficiente de difusión de NaCl en agua pura ($D = 8.5 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ a 4°C y $16.1 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ a 25°C).

Es importante remarcar, en este trabajo, que el uso de la cantidad de NaCl incorporada teniendo en cuenta la variación en la masa de agua en el tejido conduce a valores correctos de D_m . En contraste cuando el soluto

incorporado es expresado por masa del tejido sin introducir el factor de corrección que considera el contenido de agua real en la muestra se obtienen valores de coeficientes de difusión muy altos y erróneos, incluso mayores que el coeficiente de difusión del NaCl en agua, error que se ha observado en la literatura.

3.8 CONCLUSIONES

Las características estructurales del tejido porcino curado son afectadas por los cambios físicos y químicos en la fibra muscular. Se observaron importantes modificaciones en el tejido mediante el uso de Microscopía electrónica de barrido (SEM) cuando el tejido se trató con concentraciones crecientes de NaCl. Además, se redujo el número de picos observado en los termogramas de DSC y las temperaturas máximas se corrieron a valores menores debido a la desnaturalización proteica.

Los balances de materia permitieron determinar en las muestras los cambios en el contenido de agua, la sal incorporada y la solubilización proteica. A bajas concentraciones de NaCl se produjo el hinchamiento de las fibras, y se observaron altos valores de capacidad de retención de agua. A altas concentraciones de NaCl (330g/L) el fenómeno se revirtió, el volumen de las fibras musculares disminuyó, el tejido pierde su propia agua y se produce la precipitación de proteínas.

Se analizó el efecto de la concentración de NaCl sobre el coeficiente de difusión; el incremento de D_m con la concentración de NaCl fue atribuido a los cambios en la estructura celular provocados por la penetración de la sal. También se analizó la importancia de considerar el contenido real de agua en el tejido sobre los valores de D_m .

La presencia de nitrito de sodio y de nitrato de potasio en las concentraciones que habitualmente se utilizan en las salmueras no afecta los coeficientes de difusión de NaCl.

Capítulo 4

Difusión de nitrito de sodio y nitrato de potasio en tejido cárneo

En este capítulo se estudia la difusión del nitrito de sodio y del nitrato de potasio en tejido cárneo a 4 y 20°C en soluciones cuya concentraciones son las utilizadas en la industria (NaNO_2 3g/L y KNO_2 2.5g/L). Se analiza además el efecto que produce en los coeficientes de difusión la adición de NaCl a dichas soluciones en concentraciones comprendidas entre 10 y 140 g/L.

Se utiliza la teoría de Stefan-Maxwell para estudiar la influencia del NaCl sobre los coeficientes de difusión de nitrito de sodio y de nitrato de potasio. Se analizan micrografías obtenidas mediante Microscopía Electrónica de Barrido para analizar los cambios estructurales en el tejido cárneo.

4.1 ESTIMACIÓN DEL COEFICIENTE DE DIFUSIÓN DE NITRITO DE SODIO Y DE NITRATO DE POTASIO.

4.1.1 Metodología

Para estimar el coeficiente de difusión efectivo (D_m) del nitrito de sodio y del nitrato de potasio se utilizó un sistema de difusión radial unidireccional en cilindros infinitamente largos similares a los utilizados en los experimentos con NaCl, tal como se detalló en la sección 3.2.1.

Las soluciones individuales utilizadas fueron NaNO_2 3.g/L y KNO_3 2.5 g/L. Se determinó la cantidad de nitrito y nitrato que ingresó en la muestras a los diferentes tiempos de contacto siguiendo el procedimiento explicado en la sección 2.2.1 y 2.2.2. El tiempo total de cada corrida fue de 3 horas aproximadamente. Se utilizó la **Ecuación 3.4** para obtener los coeficientes de difusión de las sales en el tejido como se describió en la sección 3.2.

Para cada corrida se determinó por duplicado la humedad inicial del músculo, para lo cual se tomaron muestras de carne que se secaron hasta peso constante en estufa a vacío a 95°C.

Las concentraciones de equilibrio de NaNO₂ y KNO₃ y el contenido de humedad final del tejido se obtuvieron por inmersión de las muestras en las distintas soluciones durante al menos 48 horas.

4.1.2 Valores experimentales de nitrito de sodio y nitrato de potasio en soluciones individuales.

En las experiencias realizadas no se observaron variaciones en el contenido de humedad de la carne durante la inmersión de las muestras en el rango de concentraciones de trabajo en el período en que se realizó el experimento (3 horas), mientras que en el equilibrio (48 horas) se observó un aumento en el contenido de agua.

El contenido medio de humedad inicial del músculo se hallaba comprendido entre 72 y 74 % dependiendo del animal, mientras que el contenido de humedad luego de 48 horas de inmersión era de 76-80%.

La **Figura 4.1 a y b** se muestran los valores experimentales de nitrito de sodio y de nitrato de potasio medidos en los cilindros, expresados como mgNaNO₂/g carne y mgKNO₃/g carne, respectivamente en función del tiempo de inmersión.

Los valores para el equilibrio (48 horas) obtenidos fueron 2.22 mgNaNO₂/g carne y 1.85 mgKNO₃/g carne para el nitrito de sodio y el nitrato de potasio respectivamente.

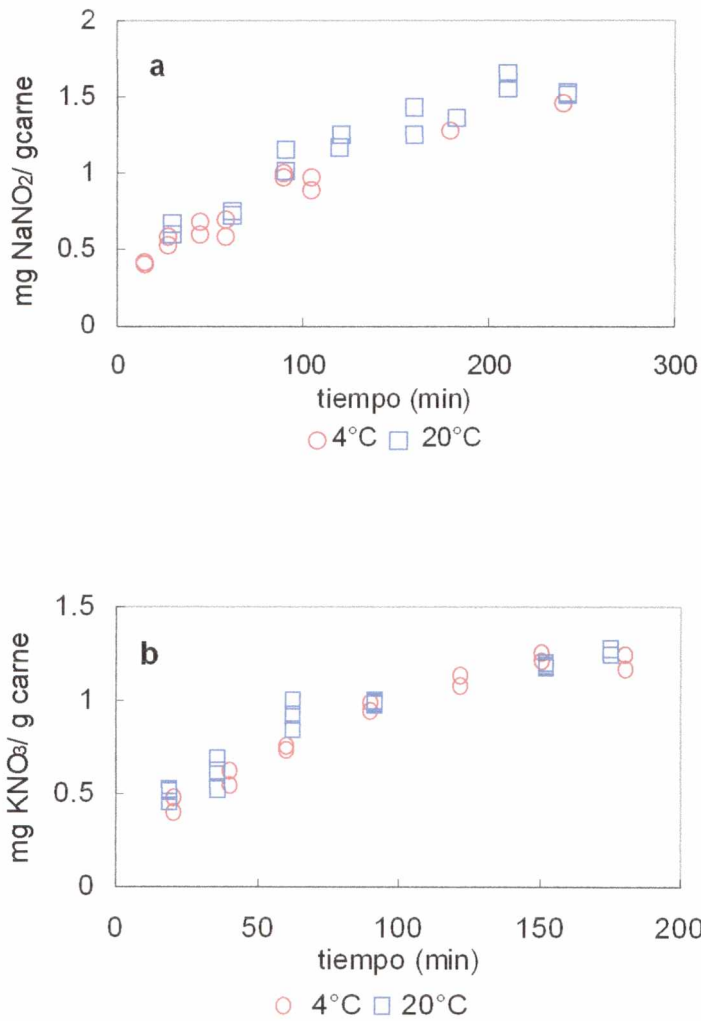


Figura 4.1: a) Variación del contenido de nitrito de sodio en tejido cárnico en función del tiempo de inmersión en soluciones individuales de NaNO_2 3g/L a 4 °C y a 20°C, b) Variación del contenido de nitrato de potasio en tejido cárnico en función del tiempo de inmersión en soluciones individuales de KNO_3 2.5g/L a 4 °C y a 20 °C.

Se determinaron los coeficientes de difusión de ambas sales a 4°C y 20°C, utilizando un programa computacional (Mathcad 7 Professional) como se describió para el cálculo del D_m de NaCl , iterando hasta hallar el valor de D_m que hiciese mínima tanto la suma de los residuos así como la suma de los residuos al cuadrado. Se corrigieron los valores de $M(\infty)$ teniendo en cuenta los cambios de humedad ocurridos a largos tiempos, mediante la relación entre las humedades iniciales y finales.

En la **Figura 4.2 a y b** se observa los valores de $M^* = M(t) / M(\infty)$, en forma adimensional (M^* , definido en la **Ecuación 3.4**), el contenido de nitrito de sodio ingresado en el tejido en función del tiempo de inmersión para una salmuera NaNO_2 3g/L a 4°C y a 20°C, respectivamente. Se presentan los valores determinados experimentalmente y los calculados mediante la **Ecuación 3.4** con los coeficientes de difusión que se indican en la **Tabla 4.1**.

La **Figura 4.3 a y b** corresponden a la difusión de nitrato de potasio en soluciones de salmuera constituida por KNO_3 2.5 g/L a 4 °C y a 20°C, respectivamente.

En la **Figura 4.4** se observan los valores experimentales de M^* para NaNO_2 3g/L y KNO_3 2.5 g/L a 4°C y a 20°C y los correspondientes M^* teóricos, donde se comprueba que todos los puntos se encuentran alrededor de la recta de 45°. El error promedio evaluado entre la masa ingresada determinada experimentalmente y la predicha por el modelo fue de 7.4%.

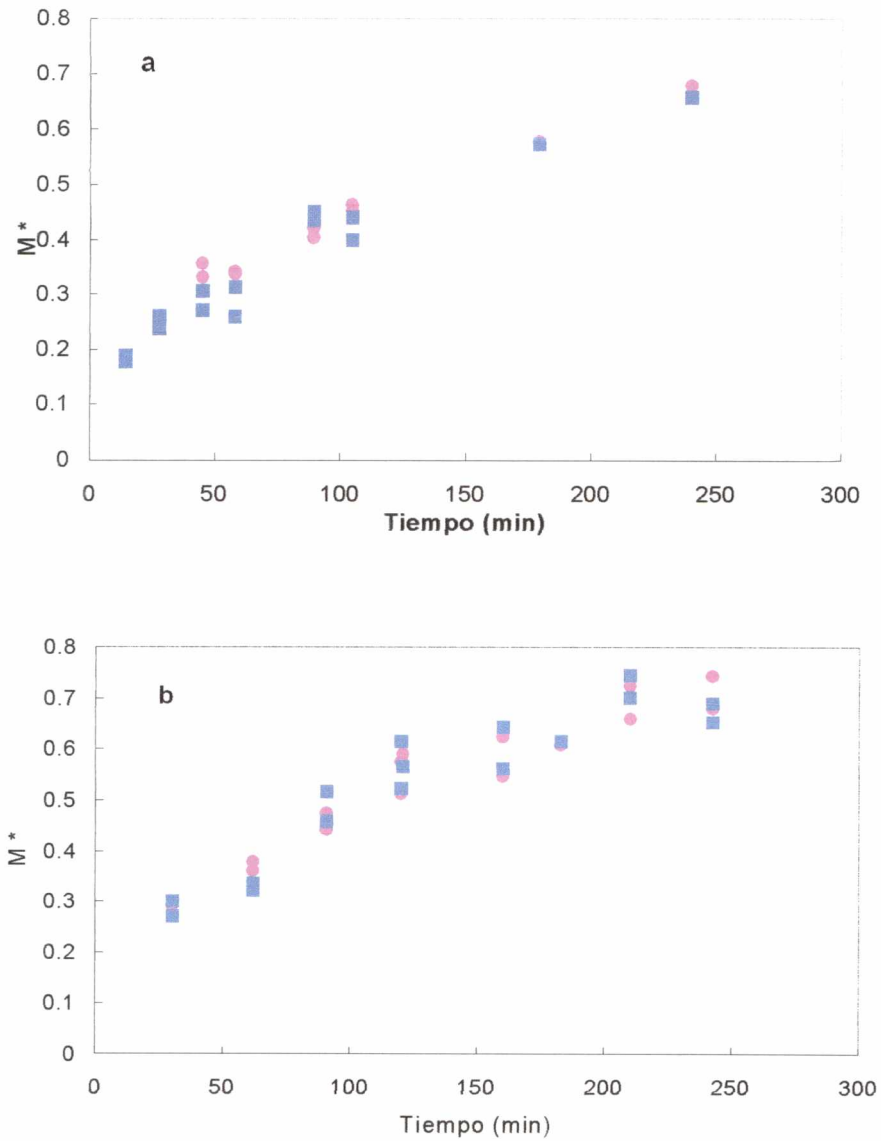


Figura 4.2: Variación del contenido de nitrito de sodio (M^*) en tejido cárnico en función del tiempo de inmersión en soluciones de salmuera que contienen: a) NaNO_2 3g/L a 4 °C, b) NaNO_2 3g/L a 20 °C (● valores experimentales y ■ valores teóricos).

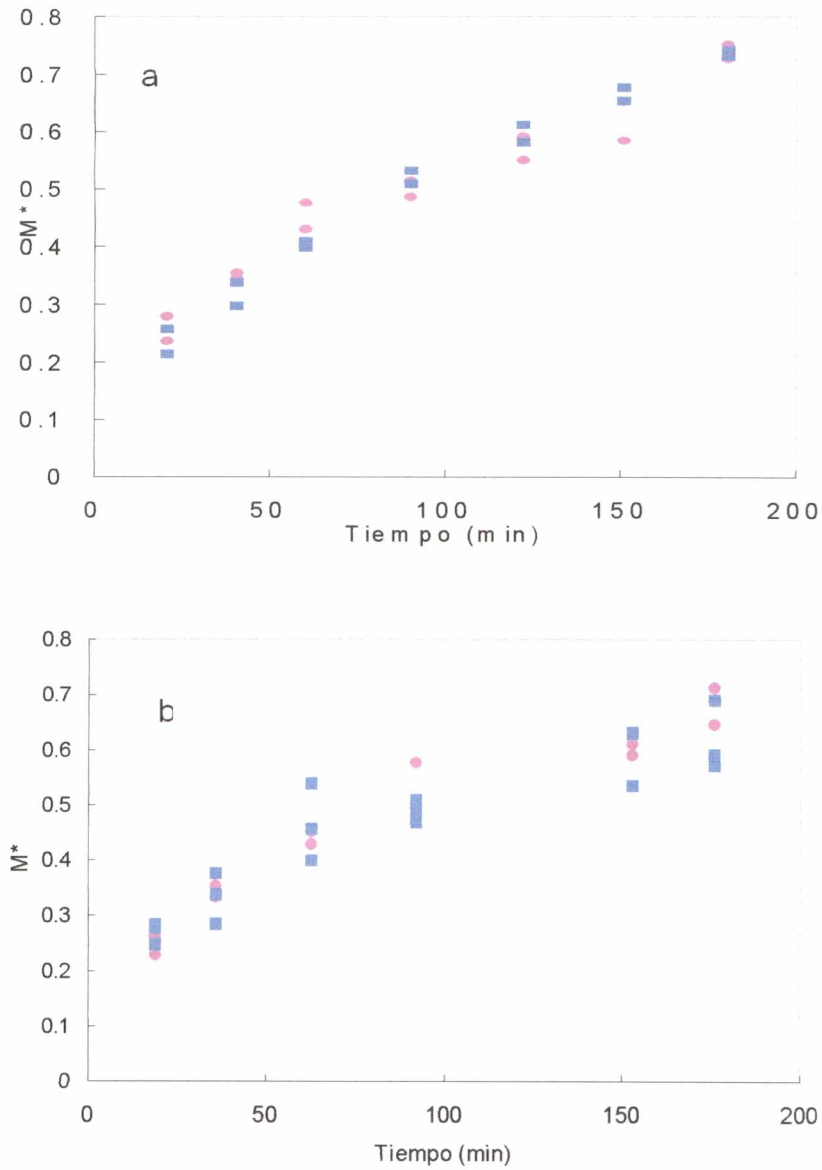


Figura 4.3: Variación del contenido de nitrato de potasio (M^*) en tejido cárneo en función del tiempo de inmersión en soluciones de salmuera que contienen: a) KNO_3 2.5 g/L a 4 °C y b) KNO_3 2.5 g/L a 20 °C (● valores experimentales y ■ valores teóricos).

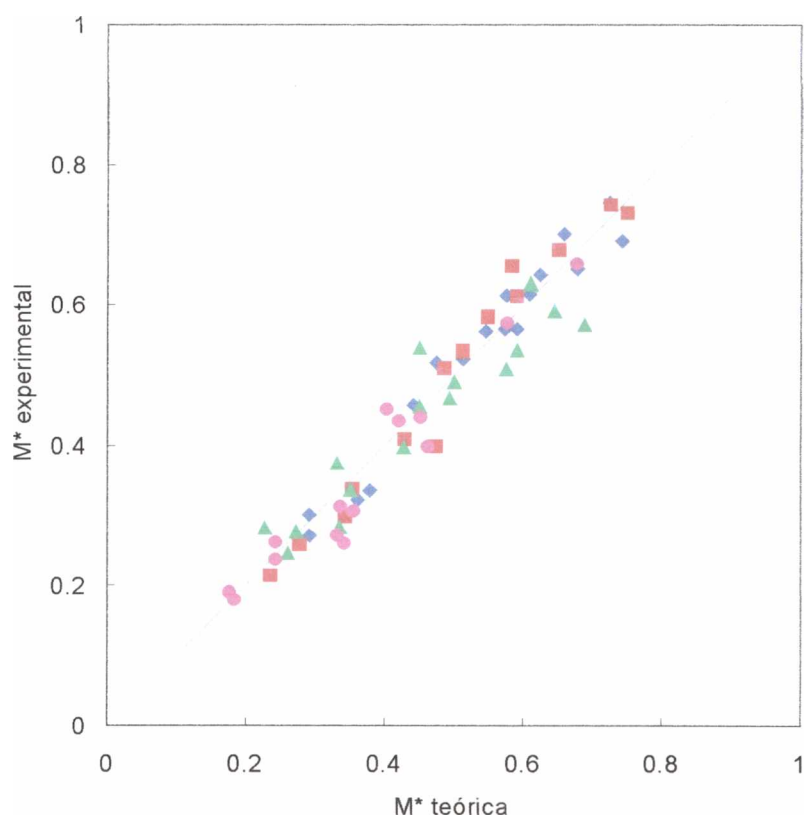


Figura 4.4:Valores de M^* experimentales en función de M^* teóricos, para NaNO_2 3g/L y KNO_3 2.5 g/L a 4°C y a 20 °C (♦ NaNO_2 3g/L a 4°C, ● NaNO_2 3g/L a 20°C, ■ KNO_3 2.5 g/L a 4°C, ▲ KNO_3 2.5 g/L a 20°C).

En la **Tabla 4.1** se presentan los resultados correspondientes a los coeficientes de difusión del nitrito de sodio y del nitrato de potasio (m^2/s) a 4°C y a 20°C.

Tabla 4.1: Coeficientes de difusión efectivos ($D_{m_{\text{sal-tejido}}}$) del nitrito de sodio y nitrato de potasio en tejido cárnico sumergido en salmueras de diferente composición.

Soluciones de inmersión	$D_{m_{\text{sal-tejido}}} \times 10^{10} \text{ m}^2/\text{s}$	
	4 °C	20 °C
NaNO_2 3 g/L	2.7	2.8
KNO_3 2.5g/L	2.7	2.9

No se observaron diferencias significativas en los coeficientes de difusión de las sales de curado en el tejido ($D_{m_{\text{sal-tejido}}}$) con el incremento de la temperatura. Estos valores son superiores a los informados por Fox (1980) quien encontró que el coeficiente efectivo del nitrito de sodio (2.25 g/L) a 5°C era de $1.2\text{-}1.3 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ y para el nitrato de potasio (2.66g/L) a 5°C fue de $2.2 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ para el músculo *Longissimus dorsi* porcino. Sin embargo dicho autor no tuvo en cuenta la humedad de la carne y evaluó erróneamente las condiciones de contorno. Si hubiese tenido en cuenta la humedad los valores hubieran sido mayores: $2.3 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ para nitrito de sodio y $4.1 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ para el nitrato de potasio.

Djelveh y col. (1988) encontraron que el coeficiente de difusión del KNO_3 a 5°C era de $2.87 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ para carne vacuna (músculo semitendinoso).

4.2 ESTIMACIÓN DEL COEFICIENTE DE DIFUSIÓN DE NITRITO DE SODIO Y DE NITRATO DE POTASIO EN SOLUCIONES QUE INCLUÍAN CLORURO DE SODIO.

Se procedió experimentalmente de la forma descrita en la sección 4.1.

Para los ensayos se utilizaron diferentes soluciones constituidas por NaNO_2 , KNO_3 y NaCl (**Tabla 4.2**) En las corridas realizadas, que duraban 3 horas, no se observaron variaciones en el contenido de humedad de la carne en el rango de concentraciones de trabajo.

El contenido medio inicial de humedad del tejido se hallaba comprendido entre 72 y 74 % dependiendo del animal. Luego de sumergir las muestras durante 48 horas la humedad final alcanzó valores comprendidos entre 75-83%.

Se determinaron experimentalmente las concentraciones de nitrito de sodio y de nitrato de potasio en el tejido en equilibrio (C_f) con las diferentes soluciones externas ensayadas (C'_f). Se verificó que la relación entre C_f y C'_f está dada por ε , considerando a ε como la cantidad de agua en el tejido.

Los valores para el equilibrio (48 horas) obtenidos fueron 2.22 mgNaNO_2/g carne y 1.85 mgKNO_3/g carne para el nitrito de sodio y el nitrato de potasio respectivamente en las diferentes soluciones.

En las **Figuras 4.5 , 4.6 y 4.7** se muestran los valores experimentales de la cantidad de nitrito de sodio ingresada a las muestras cárneas en presencia de nitrato de potasio y/o de cloruro de sodio en función del tiempo de inmersión para las diferentes soluciones de inmersión ensayadas (**Tabla 4.2**).

La cantidad de nitrato de potasio incorporada al tejido cárneo expresada como $\text{mg KNO}_3/\text{g}$ carne en función del tiempo de inmersión para las distintas soluciones utilizadas se muestran en las **Figuras 4.8 y 4.9**.

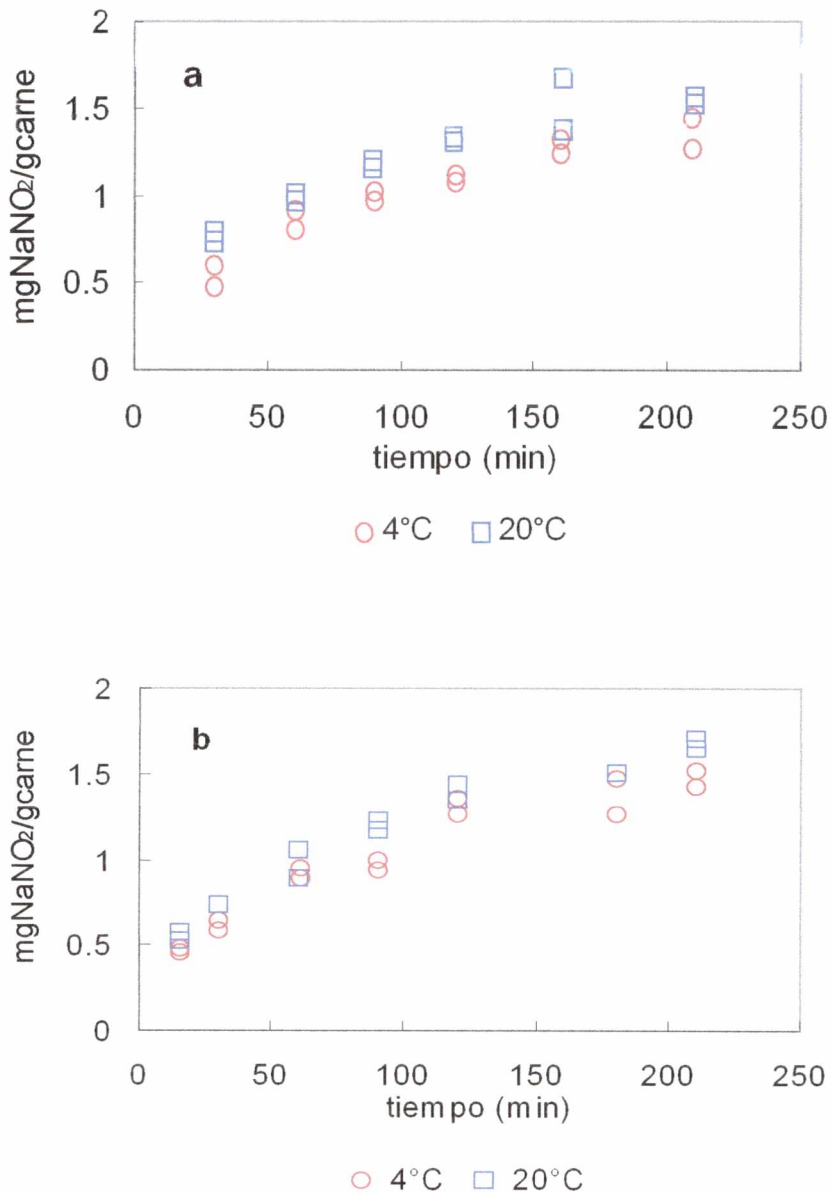


Figura 4.5: Variación del contenido de nitrito de sodio en tejido cárnico en función del tiempo de inmersión en soluciones de salmuera **a)** NaNO_2 3g/L + KNO_2 2.5g/L a 4 °C y a 20 °C **b)** NaNO_2 3g/L+ NaCl 10g/L a 4°C y a 20 °C.

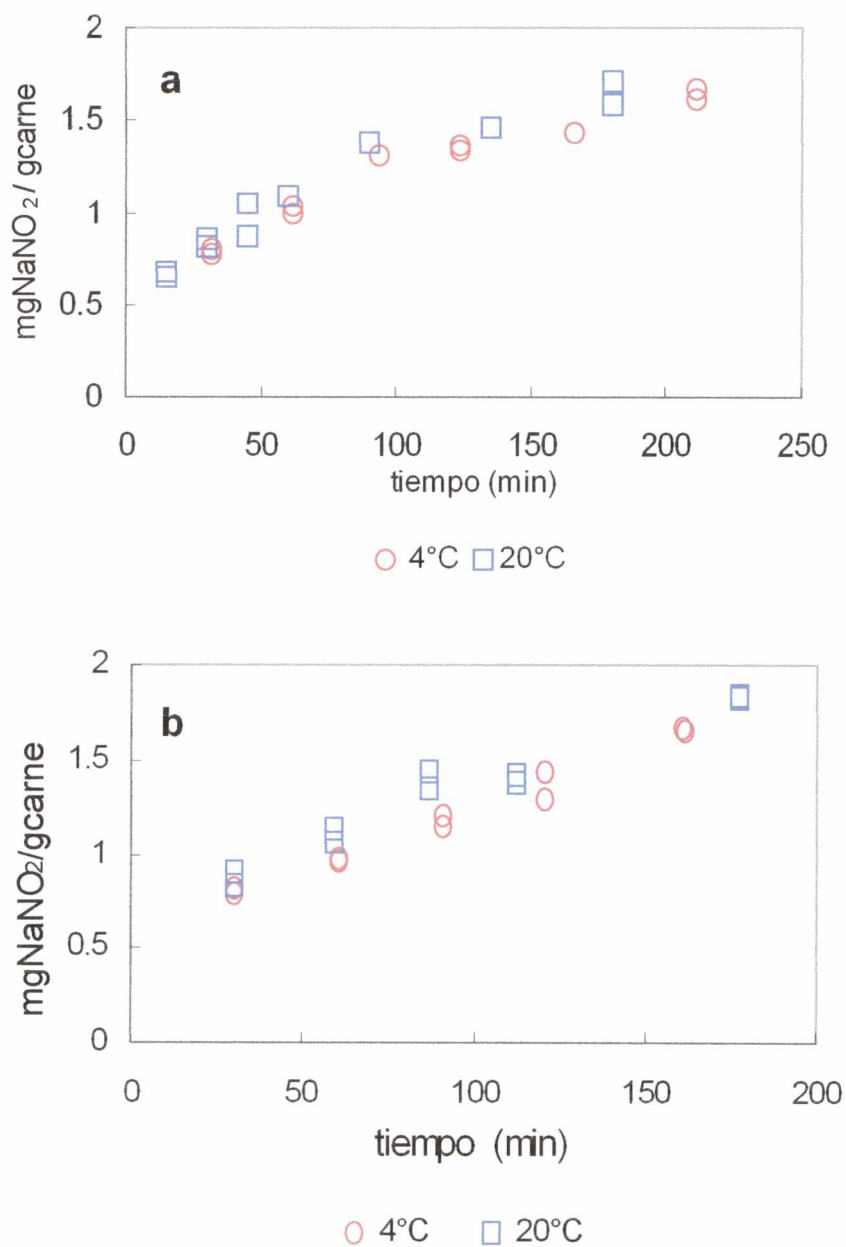


Figura 4.6: Variación del contenido de nitrito de sodio en tejido cárnico en función del tiempo de inmersión **a)** NaNO_2 3g/L + NaCl 70 g/L a 4 °C y a 20 °C **b)** NaNO_2 3g/L+ NaCl 140g/L a 4°C y a 20 °C.

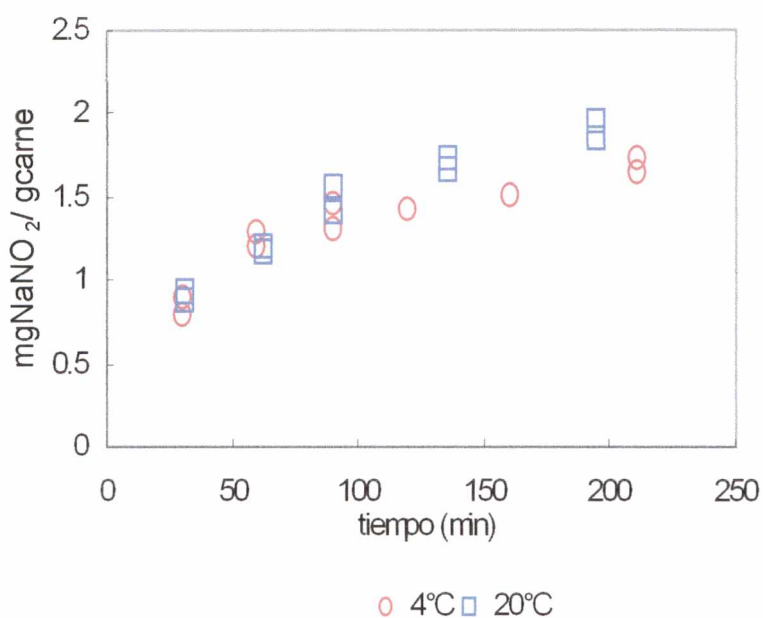


Figura 4.7: Variación del contenido de nitrito de sodio en tejido cárneo en función del tiempo de inmersión en soluciones compuestas por NaNO_2 3g/L + KNO_3 2.5g/L + NaCl 140g/L a 4°C y a 20 °C.

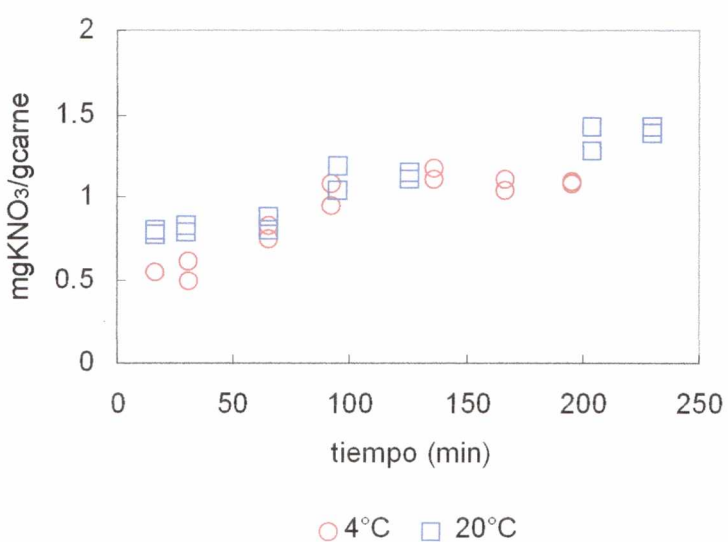


Figura 4.8: Variación del contenido de nitrato de potasio en tejido cárneo en función del tiempo de inmersión en soluciones de salmuera que contienen KNO_3 2.5g/L + NaCl 10g/L a 4°C y a 20 °C.

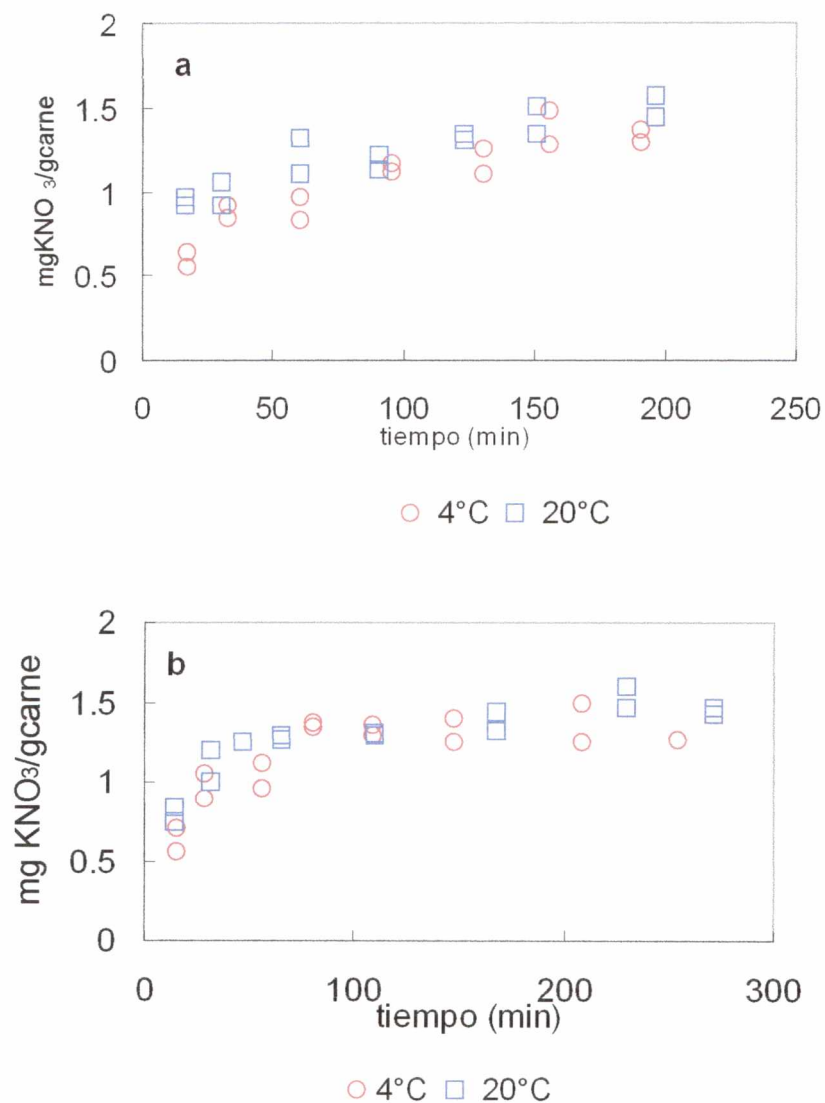


Figura 4.9: Variación del contenido de nitrato de potasio en tejido cárnico en función del tiempo de inmersión en soluciones

a) KNO_3 2.5g/L + NaCl 70g/L a 4°C y a 20 °C,
 b) KNO_3 2.5g/L + NaCl 140g/L a 4°C y a 20 °C.

Se determinaron los coeficientes de difusión de nitrito de sodio y de nitrato de potasio en las diferentes condiciones de ensayo, utilizando un programa computacional como se describió anteriormente, iterando hasta hallar el valor de D_m que hiciese mínima la suma de los residuos y la suma de los residuos al cuadrado.

En la **Tabla 4.2** se presentan los resultados correspondientes a los coeficientes de difusión del nitrito de sodio y del nitrato de potasio (m^2/s) a 4°C y a 20°C .

A modo de ejemplo, la **Figura 4.10 a y b** muestra, en forma adimensional (M^*), el contenido de nitrito de sodio ingresado en el tejido en función del tiempo de inmersión para una salmuera de a) NaNO_2 3g/L + NaCl 70 g/L (D) y b) NaNO_2 3g/L + NaCl 140 g/L (E) a 20°C .

Tal como se discutió en el capítulo anterior se introdujeron factores de corrección debido a las modificaciones en el contenido de agua de las muestras. Los valores de M^* fueron corregidos considerando los cambios de humedad en los valores de equilibrio (M_∞). Los factores de corrección se hallaban comprendidos entre 0.87-0.92. Se presentan los valores determinados experimentalmente y los calculados mediante la **Ecuación 3.4** con los coeficientes de difusión que se indican en la **Tabla 4.2**.

La **Figura 4.11 a y b** corresponde a la difusión de nitrato de potasio en soluciones de salmuera constituida por: a) KNO_3 2.5 g/L + NaCl 10 g/L (H) y b) KNO_3 2.5 g/L + NaCl 70 g/L (I) a 4°C .

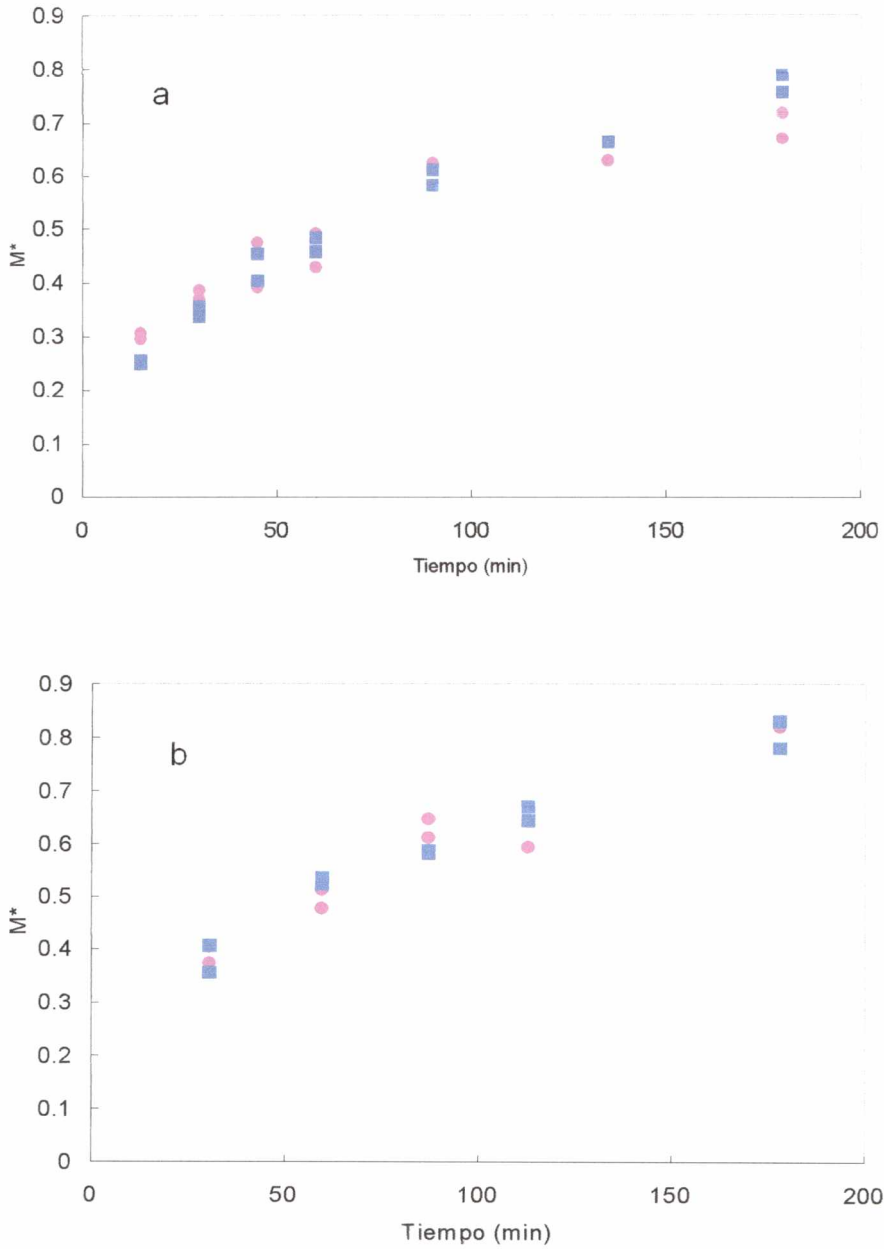


Figura 4.10: Variación del contenido de nitrito de sodio (M^*) en tejido cárnico en función del tiempo de inmersión en soluciones de salmuera que contienen: **a)** NaNO_2 3g/L + NaCl 70 g/L y **b)** NaNO_2 3g/L + NaCl 140 g/L a 20°C (● valores experimentales y ■ valores teóricos).

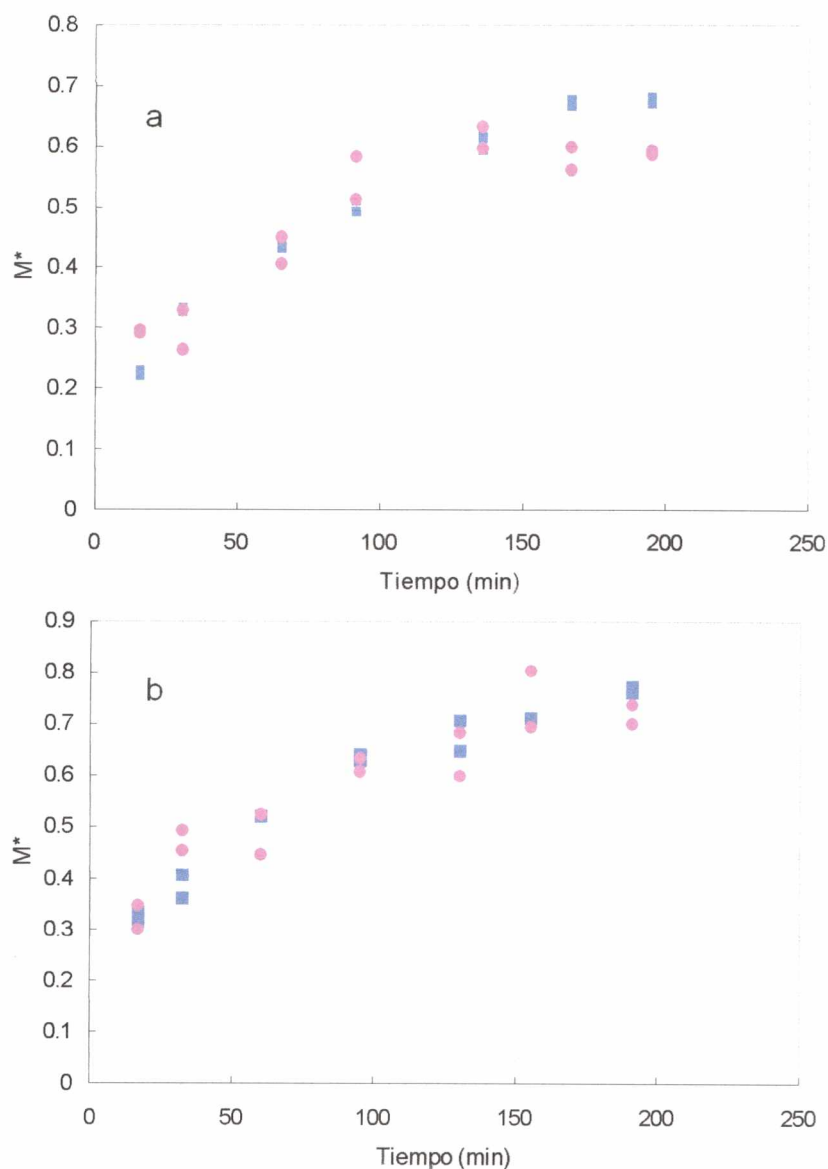


Figura 4.11: Variación del contenido de nitrito de sodio (M^*) en tejido cárnico en función del tiempo de inmersión en soluciones de salmuera que contienen: **a)** KNO_3 2.5 g/L + NaCl 10 g/L y **b)** KNO_3 2.5 g/L y NaCl 70 g/L a 4°C (● valores experimentales y ■ valores teóricos).

Tabla 4.2: Coeficientes de difusión efectivos ($D_{m_{\text{sal-tejido}}}$) del nitrito de sodio y nitrato de potasio en tejido cárnico sumergido en salmueras de diferente composición.

Clave de la solución de composición	Soluciones de inmersión	NaNO_2	
		$D_{m_{\text{sal-tejido}}} \times 10^{10} \text{ m}^2/\text{s}$	
		4 °C	20 °C
A	NaNO_2 3 g/L	2.7 ^a	2.8 ^a
B	NaNO_2 3g/L + KNO_3 2.5g/L	2.6 ^a	3.3 ^a
C	NaNO_2 3g/L + NaCl 10g/L	2.8 ^a	4.1 ^b
D	NaNO_2 3g/L + NaCl 70g/L	3.9 ^b	5.4 ^c
E	NaNO_2 3g/L + NaCl 140g/L	4.8 ^c	5.9 ^d
F	NaNO_2 3g/L + NaCl 140g/L + KNO_3 2.5g/L	5.1 ^c	6.0 ^d
	Soluciones de inmersión	KNO_3	
		$D_{m_{\text{sal-tejido}}} \times 10^{10} \text{ m}^2/\text{s}$	
		4 °C	20°C
G	KNO_3 2.5g/L	2.7 ^a	2.9 ^a
H	KNO_3 2.5g/L + NaCl 10g/L	2.8 ^a	3.2 ^a
I	KNO_3 2.5g/L + NaCl 70g/L	5.0 ^c	5.9 ^d
J	KNO_3 2.5g/L + NaCl 140g/L	6.2 ^d	6.8 ^e

a, b, c, d, e: las letras distintas indican diferencia significativas entre las medias en una misma columna ($p < 0.05$).

Para cada temperatura, no se observaron diferencias significativas entre los coeficientes de difusión entre las soluciones A, B, C, G y H, por lo tanto la ausencia o la baja concentración de NaCl no afectó la difusividad de las sales de curado en el tejido.

Sin embargo se observó un marcado incremento del coeficiente de difusión de las sales de curado (nitrito de sodio y nitrato de potasio) en el tejido cuando la difusión se produjo en presencia de mayores concentraciones de NaCl (70 y 140 g/L). La presencia de NaCl en la solución de inmersión incrementó en forma significativa la difusividad del nitrito y nitrato en comparación con soluciones individuales de nitrito y/o nitrato que no contenían cloruro de sodio (**Figura 4.12**).

A 20°C los coeficientes de difusión de las sales de curado en el tejido ($D_{m \text{ sal-tejido}}$) fueron mayores que a 4°C , sin embargo no hubo diferencias significativas para las soluciones A y G.

Para explicar el aumento del coeficiente de difusión del NaNO_2 y del KNO_3 en presencia de NaCl se aplicó la teoría de Stefan- Maxwell para calcular las difusividades efectivas del nitrito de sodio y del nitrato de potasio en soluciones de electrolitos y se realizaron micrografías utilizando un microscopio electrónico de barrido para analizar los cambios estructurales en el tejido cárneo.

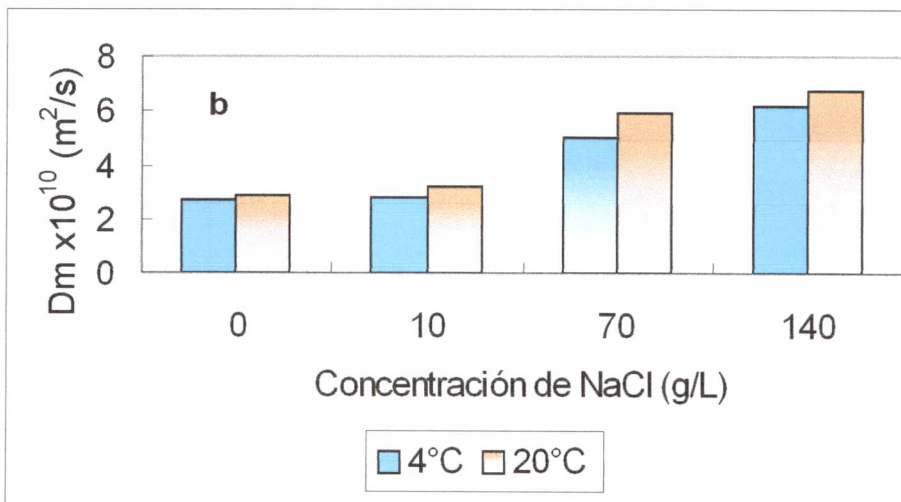
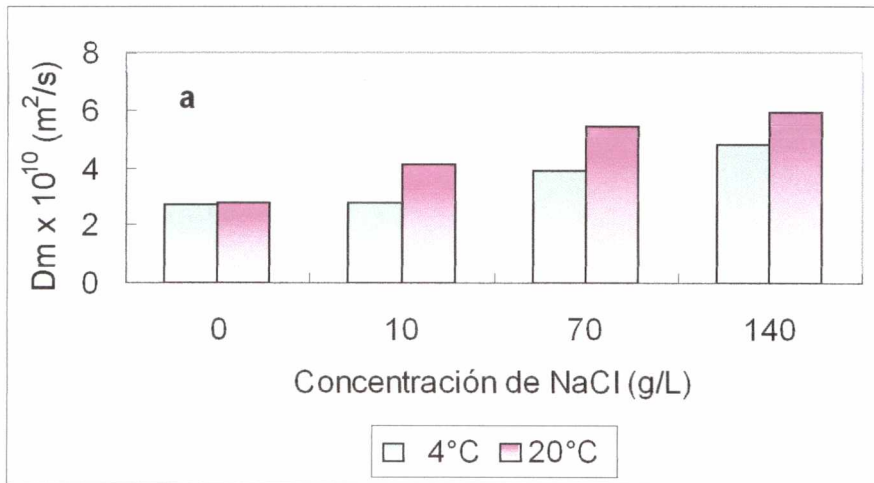


Figura 4.12: Efecto de la concentración del NaCl en el coeficiente de difusión efectivo

a) D_m nitrito de sodio, **b)** D_m nitrato de potasio

4.3 CÁLCULO DE LA DIFUSIVIDAD EFECTIVA DEL NITRITO DE SODIO Y DEL NITRATO DE POTASIO EN SOLUCIONES DE ELECTROLITOS APLICANDO LA TEORÍA DE STEFAN- MAXWELL.

Para analizar el efecto del NaCl sobre el coeficiente de difusión de nitrito de sodio y nitrato de potasio se aplicó la teoría de Stefan–Maxwell con el objetivo de calcular las difusividades efectivas de las especies iónicas, y evaluar si las interacciones entre los iones son la causa del aumento de los coeficientes de difusión del NaNO_2 y del KNO_3 .

4.3.1 Modelo matemático

Cuando ocurre difusión multicomponente se observan desviaciones de la ley de Fick tanto para sistemas que contienen o no electrolitos (Newman, 1991); el flujo difusivo de cada componente es afectado por los otros componentes de la solución.

La transferencia de masa en solución multicomponente de especies cargadas sin flujo de corriente, requiere una descripción del movimiento de las especies iónicas, balances de materia, y la expresión de electroneutralidad.

En soluciones de electrolitos, los solutos no difunden en forma independiente; se establece un potencial de difusión y los iones interactúan con él. (Taylor y col., 1983).

En mezclas de electrolitos las ecuaciones generalizadas de Stefan-Maxwell se escriben para cada especie iónica y también para el solvente.

$$d_i = \sum_{j=1}^n \frac{x_i x_j (u_i - u_j)}{D_{ij}} = \sum_{j=1}^n \frac{(x_i N_j - x_j N_i)}{ct D_{ij}} \quad (4.1)$$

donde d_i es la fuerza impulsora generalizada; n es el número de componentes; x_i, x_j son las fracciones molares iónicas; u_i, u_j las velocidades de

los componentes i, j ; c_t la concentración total; N_i, N_j los flujos molares; D_{ij} difusividad Stefan -Maxwell.

La fuerza eléctrica externa F_i que actúa sobre cada especie iónica i está dada por:

$$F_i = -z_i F \nabla \varphi \quad (4.2)$$

donde z_i es la carga iónica de la especie, F es la constante de Faraday $9,65 \cdot 10^4$ Coulomb/mol y φ es el potencial eléctrico medido en voltios.

La fuerza impulsora generalizada resulta considerando la condición de electroneutralidad (Newman, 1991):

$$c_i RT d_i = c_i \nabla_{T,P} \mu_i + c_i z_i F \nabla \varphi \quad (4.3)$$

siendo c_i concentración molar del componente i , R constante de los gases, T temperatura absoluta, μ_i potencial químico.

Despreciando la fricción entre iones y considerando la interacción con el agua la fuerza impulsora se reduce a:

$$d_i = \nabla x_i + x_i z_i \frac{F}{RT} \nabla \varphi \quad (4.4)$$

que conduce a la ecuación de Nernst - Plank:

$$N_i = -D_i^0 \nabla c_i + c_i z_i D_i^0 \frac{F}{RT} \nabla \varphi \quad (4.5)$$

en ausencia del término convectivo.

Para el cálculo de la difusividad efectiva de cada ión se utilizó la siguiente ecuación:

$$D_{i,\text{solución}} = D_i^o - \frac{t_i}{z_i} \sum_{j=1}^{n-1} z_j D_{j,n}^o \frac{\nabla C_j}{\nabla C_i} \quad (4.6)$$

siendo t_i el número de transporte definido como:

$$t_i = \frac{K_i}{K} \quad (4.7)$$

con K_i conductividad eléctrica equivalente de la especie i y la K la correspondiente a la mezcla ($K = \sum K_i$) y donde además se reemplazó

$$\frac{\nabla C_j}{\nabla C_i} \approx \frac{\Delta C_j}{\Delta C_i}$$

La conductividad equivalente de las especies iónicas fue calculada según:

$$K_i = \frac{F^2}{RT} c_i z_i^2 D_i^o \quad i = 1, \dots, n \quad (4.8)$$

Para el cálculo del coeficiente de difusión de la sal en agua (solución de electrolito binaria, a dilución infinita) se utilizó la siguiente ecuación:

$$D_{\text{sal}} = \frac{(z_+ - z_-) D_+ D_-}{z_+ D_+ + z_- D_-} \quad (4.9)$$

donde D_+ y D_- son las difusividades iónicas en agua a dilución infinita (D_i^0) para cada ion, normalmente disponibles en literatura.

Para determinar el coeficiente de difusión de la sal en una solución que contiene otros iones (en condiciones distintas de la dilución infinita), D_+ y D_- corresponden a la difusividad iónica de cada ión en la solución ($D_{i, \text{solución}}$) y se deben calcular con la ecuación (4.6).

4.3.2 Resultados y Discusión

Para explicar el efecto del NaCl sobre los coeficientes de difusión de nitrito y nitrato se utilizó la teoría de Stefan-Maxwell, para lo cual se calcularon los coeficientes de difusión de los iones y de las sales en agua y en las soluciones iónicas (Taylor y Krishna 1983). Para los cálculos se asignó la siguiente notación para cada componente del sistema:

$\text{NO}_2^- = 1$	$z_1 = -1$
$\text{Na}^+ = 2$	$z_2 = +1$
$\text{NO}_3^- = 3$	$z_3 = -1$
$\text{K}^+ = 4$	$z_4 = +1$
$\text{Cl}^- = 5$	$z_5 = -1$
$\text{H}_2\text{O} = 6$	$z_6 = 0$

A modo de ejemplo, se describe a continuación la estimación del coeficiente de difusión de nitrito de sodio en agua a 25°C.

Aplicando la **Ecuación 4.9** se calculó el coeficiente de difusión utilizando datos reportados de valores de D_i^0 en agua (a dilución infinita) a 25°C (Lide 1997) (**Tabla 4.3**); el valor obtenido fue $D_{\text{NaNO}_2\text{-H}_2\text{O}} = 15.71 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$. Para el nitrato de potasio en agua se obtuvo un valor de $D_{\text{KNO}_3\text{-H}_2\text{O}} = 19.29 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$.

Para calcular el coeficiente de difusión de nitrito de sodio en una solución que contiene NaNO_2 3 g/L (0.043 mol/L) y NaCl 140 g/L (2.397 mol/L)

(solución E, **Tabla 4.2**) se utilizó la misma ecuación, sin embargo los valores de $D_{i, \text{solución}}$ no están en la literatura y fueron calculados como:

$$D_{i, \text{solución}} = D_i^o - \frac{t_i}{z_i} \sum_{j=1}^{n-1} z_j D_{j,n}^o \frac{\nabla C_j}{\nabla C_i} \quad (4.10)$$

En este ejemplo elegido, para cada ion (NO_2^- , Na^+ , Cl^-) se calculó la máxima diferencia entre la concentración de la solución externa y en el medio de difusión (ΔC). Se consideró en forma simplificada que las concentraciones de las especies iónicas en el tejido al inicio eran despreciables, entonces:

$$\Delta c_1 = 0.043 \text{ mol/L}$$

$$\Delta c_2 = 0.043 + 2.393 = 2.441 \text{ mol/L}$$

$$\Delta c_5 = 2.393 \text{ mol/L}$$

La conductividad equivalente de las especies iónicas fue calculada según:

$$K_i = \frac{F^2}{RT} c_i z_i^2 D_i^o \quad (4.11)$$

$$\text{Así: } K_1 = 0,3123 \text{ mho / m}$$

$$K_2 = 12,232 \text{ mho / m}$$

$$K_5 = 18,300 \text{ mho / m}$$

La conductividad equivalente de la mezcla es:

$$K = \sum_i K_i = 30,843 \text{ mho / m}$$

Los números de transporte resultaron:

$$t_1 = 0,0102; \quad t_2 = 0,3965; \quad t_5 = 0,5933$$

Aplicando la **Ecuación 4.10** se obtuvieron los valores de los coeficientes de difusión de los iones en la solución (**Tabla 4.3**):

$$D_{\text{NO}_2^- - \text{solución E}} = D_{1 - \text{solución E}} = D_{1-6}^0 - \left(\frac{t_1}{z_1 \Delta C_1} \right) * (Z_1 D_{1-6}^0 \Delta C_1 + Z_2 D_{2-6}^0 \Delta C_2 + Z_5 D_{5-6}^0 \Delta C_5)$$

$$= 15.17 \times 10^{-10} \text{ m}^2 / \text{s}$$

De la misma manera se calculó $D_{\text{Na}^+ - \text{solución E}} = D_{2 - \text{solución E}}$ obteniéndose un valor de $16.12 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$.

Tabla 4.3: Coeficientes de difusión de los iones en agua a dilución infinita (D_i^0) y de los iones en solución ($D_{i, \text{solución}}$) a 25 °C.

Coeficientes de difusión de los iones en agua a dilución infinita $D_i^0 \times 10^{10} (\text{m}^2/\text{s})$ (Lide, 1997)	Difusividad iónica efectiva $D_{i, \text{solución}} \times 10^{10} (\text{m}^2/\text{s})$ (calculada por la Ecuación 4.2)
$\text{NO}_2^- - \text{H}_2\text{O}$: 19.12	$\text{NO}_2^- - \text{solución E}$: 15.17
$\text{Na}^+ - \text{H}_2\text{O}$: 13.34	$\text{Na}^+ - \text{solución E}$: 16.12
$\text{NO}_3^- - \text{H}_2\text{O}$: 19.02	$\text{NO}_3^- - \text{solución J}$: 15.13
$\text{K}^+ - \text{H}_2\text{O}$: 19.57	$\text{K}^+ - \text{solución J}$: 23.58
$\text{Cl}^- - \text{H}_2\text{O}$: 20.32	

Solución E: NaNO_2 3 g/L + NaCl 140 g/L

Solución J: KNO_3 2.5 g/L + NaCl 140 g/L

Se calculó utilizando la **Ecuación 4.9** el valor del coeficiente de difusión de nitrito de sodio en solución E (**Tabla 4.4**), utilizando los valores de las difusividades iónicas en solución calculadas previamente (**Tabla 4.3**, columna

derecha) siendo $z_+ = 1$, $z_- = 1$, $D_+ = 16.12 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$, $D_- = 15.17 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$, entonces:

$D_{\text{NaNO}_2\text{-solución E}} = 15.63 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$, que es levemente menor que el valor $15.71 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ obtenido previamente para el coeficiente de difusión de la sal en agua a la misma temperatura considerando los coeficientes de difusión a dilución infinita.

Siguiendo el mismo procedimiento se calculó el coeficiente de difusión de nitrato de potasio en una solución conteniendo KNO_3 2.5 g/L y NaCl 140 g/L (solución J) que fue $D_{\text{KNO}_3\text{-solución J}} = 18.43 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ (menor que $D_{\text{KNO}_3\text{-H}_2\text{O}} = 19.29 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$).

Tabla 4.4: Coeficiente de difusión de las sales en agua ($D_{\text{sal-H}_2\text{O}}$) y coeficiente de difusión de las sales en solución ($D_{\text{salt-solución}}$) calculado por la teoría de Stefan-Maxwell a 25 °C.

$D_{\text{sal-H}_2\text{O}} \times 10^{10} \text{ (m}^2/\text{s)}$	$D_{\text{sal-solución}} \times 10^{10} \text{ (m}^2/\text{s)}$
$D_{\text{NaNO}_2\text{-H}_2\text{O}}: 15.71$	$D_{\text{NaNO}_2\text{-solución E}}: 15.63$
$D_{\text{KNO}_3\text{-H}_2\text{O}}: 19.29$	$D_{\text{KNO}_3\text{-solución J}}: 18.43$

Los resultados obtenidos muestran que los coeficientes de difusión de las sales en la solución conteniendo NaCl predichos por la teoría de Stefan-Maxwell fueron menores que los coeficientes de difusión a dilución infinita en agua a la misma temperatura. Como puede verse, el haber considerado los términos correspondientes a la migración de iones no explica el aumento de la difusión efectiva del nitrito de sodio en presencia de cloruro de sodio, obtenido experimentalmente.

4.4 EFECTO DEL NaCl SOBRE EL COEFICIENTE DE DIFUSIÓN DEL NaNO_2 Y LA MICROESTRUCTURA DEL TEJIDO

4.4.1 Difusión de NaNO_2 en muestras previamente sumergidas en NaCl.

Para evaluar el efecto del NaCl sobre los coeficientes de difusión de nitrito de sodio en el tejido se realizaron ensayos similares a los expuestos en la sección 4.2, pero antes del ensayo propio de la difusión, las muestras cárneas fueron previamente equilibradas con soluciones de NaCl de diferentes concentraciones.

4.4.1.1 Metodología

Se realizaron experimentos de cilindros de carne porcina, los cuales fueron previamente sumergidos por 48 hs en soluciones acuosas que contenían 0, 10 y 70 g/L NaCl hasta llegar al equilibrio y en una segunda etapa fueron sumergidos en soluciones que contenían NaNO_2 3 g/L, NaNO_2 3 g/L + NaCl 10g/L y NaNO_2 3 g/L + NaCl 70 g/L. En estas condiciones se determinaron los coeficientes de difusión. El procedimiento utilizado para determinar el coeficiente de difusión de nitrito de sodio fue igual al detallado anteriormente.

4.4.1.2 Resultados y discusión

El alto valor del coeficiente de difusión del nitrito y nitrato cuando el NaCl está presente en el tejido muscular (**Tabla 4.2**) puede ser atribuido a la influencia que tiene el NaCl sobre la microestructura de las fibras.

La **Tabla 4.5** muestra los valores de D_m obtenidos para los tejidos que habían estado sumergidos previamente en soluciones acuosas (con y sin NaCl) y luego inmersas en soluciones que contenían NaCl. Se observaron altos

valores de los coeficientes de difusión en presencia de NaCl tanto a 4°C como a 20°C (**Tabla 4.5**). Estos resultados confirman no sólo que la difusión simultánea de cloruro de sodio y de nitrito de sodio o nitrato de potasio, llevan a mayores valores de velocidad de difusión de las sales de curado, también se observó el mismo fenómeno cuando la carne fue previamente equilibrada con solución de NaCl y luego fue puesta en contacto con soluciones que contenían NaNO_2 y NaCl. En esta experiencia, cuando el tejido fue sometido dos veces al NaCl, los coeficientes de difusión del nitrito de sodio (**Tabla 4.5**) fueron mayores que los correspondientes valores de difusión cuando no se los había sumergido en NaCl previamente (**Tabla 4.2**). Para el caso de nitrito de sodio en presencia de NaCl 70g/L a 4°C no fue significativa la diferencia, pero se observó una tendencia. En el caso de nitrito de sodio con NaCl 10g/L a 4°C y a 20°C, y con NaCl 70g/L a 20°C la diferencia resultó significativa entre los valores de D_m obtenidos con o sin el paso previo de inmersión (Pinotti y col. 2001).

Tabla 4.5: Coeficiente de difusión efectivo de nitrito de sodio en tejido porcino ($D_{m\text{NaNO}_2\text{-tejido}}$) que fue previamente inmerso durante 48 horas en solución acuosa conteniendo cloruro de sodio (1° paso) y luego sumergido en soluciones de diferentes composiciones (2° paso) a 4 °C y 20 °C.

Solución de inmersión previa (1° paso)	Solución de curado (2° paso)	NaNO_2	
		$D_{m\text{NaNO}_2\text{-tejido}} \times 10^{10} (\text{m}^2/\text{s})$	
		4°C	20°C
Agua	NaNO_2 3 g/L	2.7 ^a	2.9 ^a
NaCl 10 g/L	NaNO_2 3 g/L+ NaCl 10 g/L	4.2 ^b	5.9 ^b
NaCl 70 g/L	NaNO_2 3 g/L+ NaCl 70 g/L	4.2 ^b	7.5 ^c

a, b, c, d: las medias entre las columnas que no tienen la misma letra difieren significativamente ($p < 0.05$).

La penetración de los preservadores químicos en el tejido puede afectar su microestructura llevando a coeficientes de difusión que dependen de la concentración del soluto que difunde. En relación con este último aspecto, en la literatura se ha informado que altos niveles de NaCl alteran los tejidos animales y vegetales, produciendo altos valores de coeficientes de difusión (Drusas y col. 1988; Cho y col. 1988).

Para interpretar la difusión en sistemas complejos, como el tejido cárneo, se puede postular una relación entre la difusividad en la matriz ($D_{m_{\text{sal-tejido}}}$) y el coeficiente de difusión molecular en el solvente puro ($D_{\text{sal-H}_2\text{O}}$) dada por un factor "F" que depende de la fracción volumétrica del solvente en el tejido ϵ ; de la forma de la fase dispersa y del grado de obstrucción que impone ϕ ; y de la interacción matriz-soluto-solvente, ψ (Díaz y col., 1993).

$$\frac{D_{\text{sal-H}_2\text{O}}^{\circ}}{D_{m_{\text{sal-tejido}}}} = f(\epsilon, \phi, \psi) \quad (4.12)$$

En la **Tabla 4.6**, en la primera columna, se muestran los valores de $D_{\text{sal-H}_2\text{O}}$ a 20°C . Los mismos fueron calculados a partir de los coeficientes de difusión en agua a 25°C (**Tabla 4.4**, primera columna) y aplicando la ecuación de Stokes-Einstein:

$$D(T) \cdot \frac{\mu(T)}{T} = \text{constante}$$

donde μ es la viscosidad del agua y T la temperatura absoluta.

Los valores de viscosidad del agua utilizados en los cálculos fueron 1.002 cp y 0.8904 cp a 20°C y a 25°C respectivamente (Peni, 1950).

La **Tabla 4.6** se muestran los valores de f calculados por la Ecuación 4.12 y los datos correspondientes a valores experimentales mostrados en la **Tabla 4.2**.

Tabla 4.6: Coeficientes de difusión de las sales en agua a dilución infinita ($D_{\text{sal-H}_2\text{O}}$) y coeficiente de difusión efectivo del nitrito de sodio y del nitrato de potasio ($D_{\text{m}_{\text{sal-tejido}}}$) en tejido porcino, ambos a 20°C.

$D_{\text{sal-H}_2\text{O}} \times 10^{10} \text{ (m}^2/\text{s)}$	$D_{\text{m}_{\text{sal-tejido}}} \times 10^{10} \text{ (m}^2/\text{s)}$	Razón de difusividades f (Ecuación 4.12)
$D_{\text{NaNO}_2\text{-H}_2\text{O}}$: 13.73	$D_{\text{NaNO}_2\text{-tejido inmerso en solución A}}$: 2.8	4.90
	$D_{\text{NaNO}_2\text{-tejido inmerso en solución E}}$: 5.9	2.32
$D_{\text{KNO}_3\text{-H}_2\text{O}}$: 16.85	$D_{\text{KNO}_3\text{-tejido inmerso en solución G}}$: 2.9	5.81
	$D_{\text{KNO}_3\text{-tejido inmerso en solución J}}$: 6.8	2.47

Dussap y Gros (1980) informaron, para carne fresca a 2°C, una relación de difusividades de nitrito de sodio de 3.4.

En presencia de NaCl 140 g/L (solución E) y considerando los datos de la **Tabla 4.6**, la relación de las difusividades a 20°C fue menor. En el caso de nitrato de potasio los valores de f obtenidos fueron 5.81 sin NaCl (solución G) y 2.47 en presencia de NaCl 140 g/L (solución J).

Como puede observarse el factor “ f ” disminuye en la matriz en la cual difunde simultáneamente NaCl. Este resultado podría atribuirse a que el NaCl, en el rango en que se formulaba la solución de inmersión, modificaba la microestructura del tejido facilitando la entrada del nitrito y/o nitrato. Esta

modificación microestructural podría explicar los altos valores de difusividad de nitrito y nitrato en presencia de cloruro en el tejido, la cual no pudo ser justificada en términos de la existencia de fuerzas eléctricas debidas a la presencia de altas concentraciones de NaCl utilizando la teoría de Maxwell-Stefan.

El efecto del NaCl en la microestructura fue abordado extensivamente y es fuertemente dependiente de la concentración de sal (Grau 1965; Offer y Trinick 1983; Cheftel y col. 1993).

La carne fresca tratada con concentraciones crecientes de NaCl muestra importantes cambios. Como se explicó anteriormente, a bajas concentraciones se produce hinchamiento y se observan altos valores de capacidad de retención de agua. La cantidad de agua ligada a las proteínas aumenta hasta concentraciones de NaCl de 60-90 g/L ("salting-in"). Concentraciones entre 45-60 g/L produce el máximo hinchamiento de las fibras del tejido cárneo (Offer y Trinick, 1983). Como se mencionó en la sección 3.4.2, el aumento de la capacidad de retención de agua puede atribuirse a la expansión lateral de las miofibrillas que es acompañada por la solubilización de las proteínas. Estos niveles de NaCl alteran irreversiblemente la estructura celular afectando la capacidad de retención de agua por las proteínas por la modificación de las interacciones electrostáticas.

A altas concentraciones salinas la retención de agua disminuye por el efecto del "salting out" que implica una fuerte unión entre la sal y el agua con la consecuente deshidratación de la proteína. El fluido liberado por el tejido cárneo cuando la concentración de NaCl es muy alta contiene sales minerales solubles en agua, componentes nitrogenados no proteicos, albúmina, globulina y mioglobina (Grau 1965). La doble capa eléctrica alrededor de la proteína es suprimida. Altas concentraciones de NaCl causan importantes modificaciones de las proteínas y de las fibras alcanzándose una máxima pérdida de agua.

4.4.2 Análisis por microscopía electrónica de barrido

Para analizar los cambios microestructurales debido a la presencia de NaCl se realizaron micrografías tomadas con microscopio electrónico de barrido (SEM) en soluciones de distintas composición.

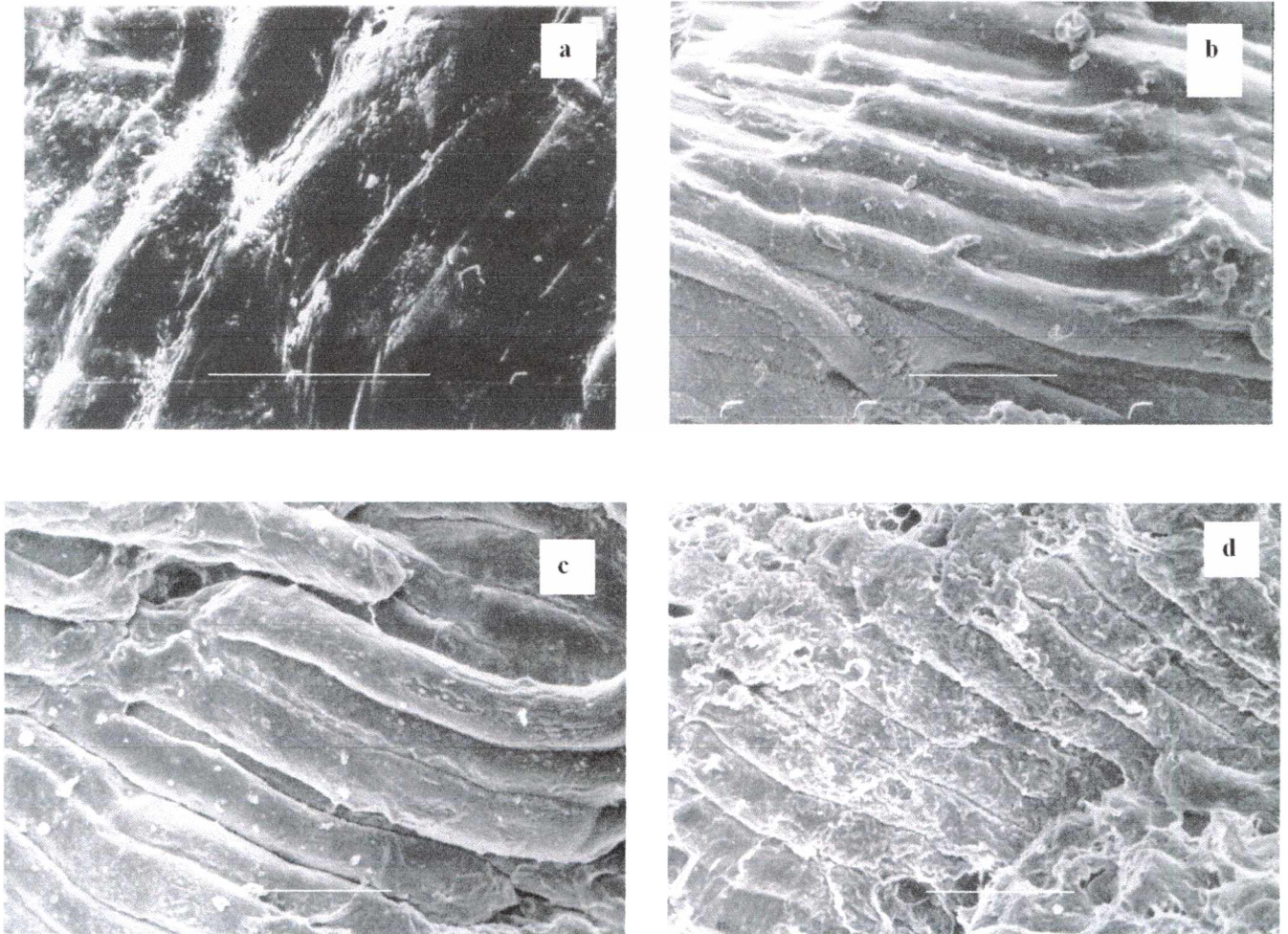


Figura 4.13: Microscopía Electrónica de Barrido de tejido porcino: **a)** sin tratamiento, **b)** tratado con KNO_3 2.5 g/L, **c)** KNO_3 2.5 g/L + NaCl 70g/L, y **d)** KNO_3 2.5 g/L + NaCl 140g/L. Escala = 100 μm entre las marcas.

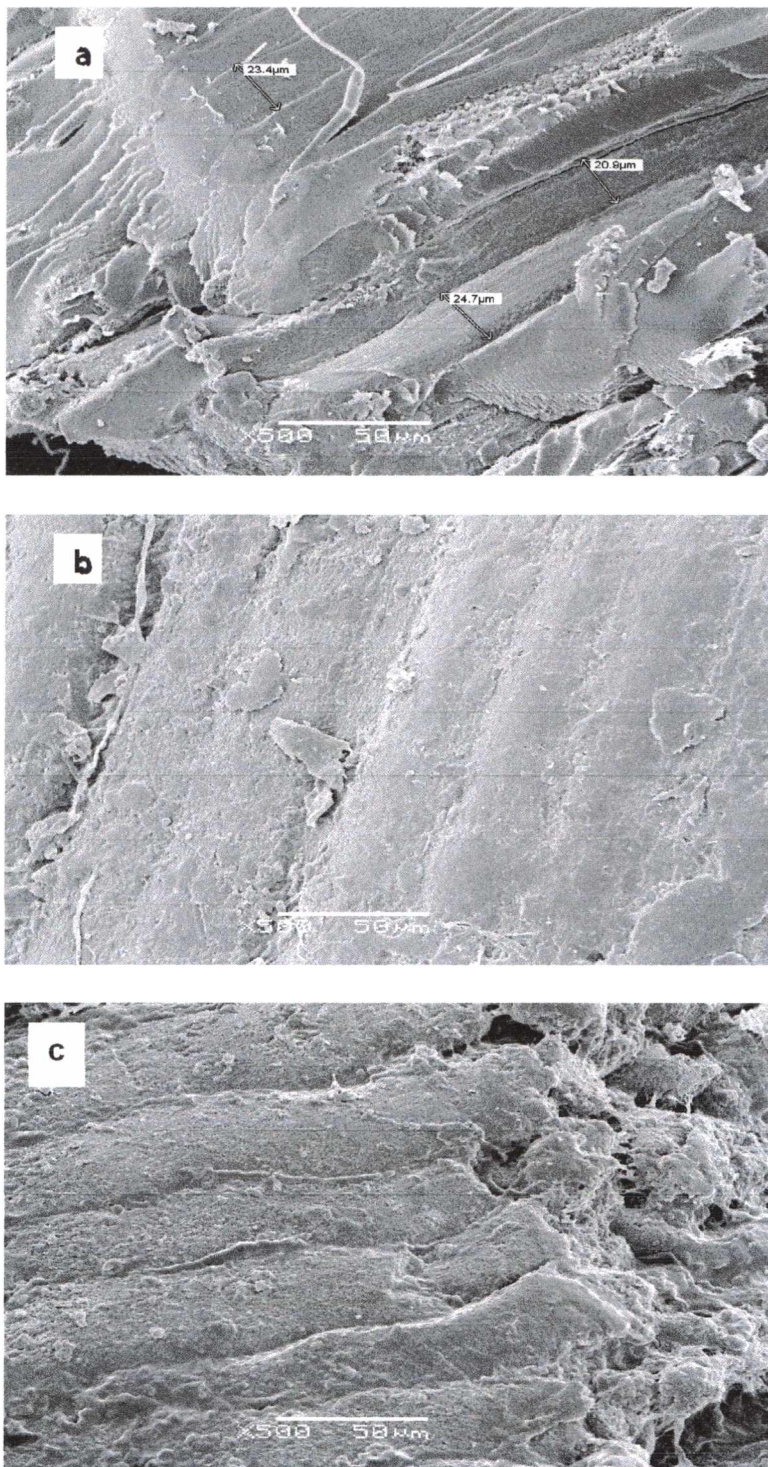


Figura 5.14: Microscopía Electrónica de Barrido de tejido porcino: **a)** sin tratamiento, **b)** tratado con NaNO_2 3g/L y **c)** NaCl 140g/L+ NaNO_2 3g/L + KNO_3 2.5g/L. Escala =50 um entre las marcas.

La **Figura 4.13 a** corresponde a la muestra sin tratamiento (control); la **Figura 4.13 b, c, d** muestra al tejido tratado con solución G (KNO_3 2.5 g/L), solución I (KNO_3 2.5 g/L + NaCl 70 g/L) y solución J (KNO_3 2.5 g/L + NaCl 140 g/L) respectivamente. Las muestras tratadas con KNO_3 2.5 g/L no muestran diferencias significativas con respecto al control. En la **Figura 4.13 c** se observa que las fibras sometidas a KNO_3 2.5 g/L + NaCl 70 g/L muestran hinchamiento. Cuando se adicionó NaCl 140 g/L al KNO_3 2.5 g/L (**Figura 4.13 d**) se produjo también hinchamiento de las fibras pero en menor relación; en esta condición de alta concentración de NaCl se midió el mayor coeficiente de difusión de nitrato de potasio en el tejido debido a los cambios producidos en la matriz.

En la **Figura 5.14 a** se muestra la carne sin tratamiento (control), en la cual se pueden observar las fibras musculares intactas, en la **Figura 5.14 b** se muestra el tejido cárneo tratado con NaNO_2 3g/L (solución A), en el cual se observa que no hubo diferencias significativas con respecto a la muestra control (**a**), mientras que la **Figura 5.14 c** corresponde a la micrografía de la muestra tratada con NaNO_2 3 g/L + KNO_3 2.5 g/L + NaCl 140 g/L (solución F) exhibe cambios en las fibras musculares debido al efecto del NaCl sobre las mismas, que provoca un hinchamiento de las fibras.

Este cambio en la microestructura coincide con lo expuesto en la sección 3.5 en las cuales se observaron micrografías tratadas con concentraciones crecientes de NaCl . Por lo cual se puede concluir que la presencia de NaNO_2 o KNO_3 solos no producen modificaciones en la estructura proteica, mientras que la presencia de NaCl si afecta las fibras musculares.

4.5 CONCLUSIONES

Los altos valores de coeficientes de difusión de las sales de curado en presencia de NaCl no pueden ser explicadas sobre las base las fuerzas

eléctricas debido a los iones presentes. La consideración de la migración iónica por la aplicación de la teoría de Stefan-Maxwell no explica el alto valor del coeficiente de difusión efectivo. Sin embargo ocurren cambios microestructurales en el tejido cárneo, como puede observarse por microscopía SEM, y estos cambios pueden explicar el aumento del coeficiente de difusión del nitrito y del nitrato en presencia de cloruro de sodio. Estos resultados pueden ser utilizados por la industria para optimizar el proceso de curado por inmersión en salmuera.

Capítulo 5

**Simulación numérica de la
incorporación simultánea de
 NaNO_2 , KNO_3 y NaCl
en tejido cárneo**

En este capítulo se desarrolló un modelo numérico para poder representar la incorporación de las diversas sales de curado en piezas cárneas de dimensiones similares a las utilizadas en la industria. A partir de las ecuaciones diferenciales que describen la transferencia bidimensional de materia en un cilindro finito, se discretizó el sistema de ecuaciones y se utilizó el método de diferencias finitas para obtener los perfiles de concentración y la cantidad de solutos incorporados a la pieza cárnea en función del tiempo de inmersión en la salmuera.

El modelo numérico se validó mediante experimentos realizados en cilindros cárneos de mayor tamaño y en el rango de los utilizados industrialmente (6 cm de diámetro x 12 cm de largo) sumergidos en soluciones compuestas por NaCl 140g/L, NaNO₂ 3g/L y KNO₃ 2.5g/L, inmersas durante distintos tiempos hasta 75 horas a 4°C.

Asimismo el modelo numérico permitió poder optimizar las condiciones operativas (concentración de sales en la solución de inmersión y tiempos de proceso), teniendo en cuenta la variación del coeficiente de difusión del cloruro de sodio, del nitrito de sodio y del nitrato de potasio en función de la concentración de NaCl.

5.1 DESARROLLO DEL MODELO NUMÉRICO

Para analizar la incorporación de los solutos en la pieza cárnea se parte del balance microscópico parcial de materia para cada uno de los solutos: A: NaCl, B: NaNO₂, C: KNO₃, para la difusión y para el flujo convectivo.

La ecuación de continuidad para un componente A de una mezcla viene dada por:

$$\frac{\partial C_A}{\partial t} = -\nabla \cdot \underline{n}_A + r_A \quad (5.1)$$

donde:

C_A concentración másica del soluto A en la pieza en una dada posición y a un tiempo determinado (mg de soluto/ volumen)

n_A es el flujo total de materia e incluye el flujo difusivo y convectivo (g de soluto por unidad de área y tiempo)

r_A es la cantidad de A que se genera o consume por las reacciones químicas (masa por unidad de volumen y tiempo)

t= tiempo

D_m : coeficiente de difusión efectivo (m^2/s).

Se ejemplifica a continuación el desarrollo de las ecuaciones para el soluto A (NaCl). Debe tenerse en cuenta que similares ecuaciones se escriben para B y C.

Analizando los cambios de humedad en los balances de materia (sección 3.5) se observa que a largos tiempos la captación del agua (solvente) es significativa lo que implica tener que considerar aporte convectivo. Este ingreso de soluto por el flujo del solvente es bajo a cortos tiempos de inmersión pero a largos tiempos hay que tenerlo en cuenta.

Por lo tanto además de un proceso difusivo de incorporación de solutos (j_A) se evidencia además un proceso convectivo de captación de agua más soluto ($C_A v$) por lo tanto:

$$\underline{n}_A = \underline{j}_A + C_A \underline{v} \quad (5.2)$$

donde: n_A es el flujo total de soluto respecto a coordenadas fijas, j_A es el flujo másico difusivo del soluto, \underline{v} es la velocidad media global de la solución y C_A es la concentración másica de soluto.

Por lo tanto en el modelo se consideró no sólo la difusión de las sales de curado sino también la incorporación del agua en el tejido que genera el término convectivo para los distintos solutos. Remplazando la Ley de Fick en el término difusivo resulta:

$$\underline{n}_A = -CD_m \underline{\nabla} \omega_A + C_A \underline{v} \quad (5.3)$$

donde, D_m es el coeficiente de difusión efectivo de NaCl en la matriz, ω_A corresponde a la fracción másica del soluto A, C es la concentración total.

En la **Ecuación 5.1** eliminando el término de la reacción química resulta:

$$\frac{\partial C_A}{\partial t} + (\underline{\nabla} \cdot C_A \underline{v}) = \underline{\nabla} \cdot CD_m \underline{\nabla} \omega_A \quad (5.4)$$

luego:

$$\frac{\partial C_A}{\partial t} + C_A (\underline{\nabla} \cdot \underline{v}) + \underline{v} \cdot (\underline{\nabla} C_A) = \underline{\nabla} \cdot CD_m \underline{\nabla} \omega_A \quad (5.5)$$

donde se ha admitido que D_m es variable con la concentración del soluto, lo cual implica un problema no lineal.

Para este caso en el cual el flujo es incompresible y considerando C constante, entonces:

$$\frac{\partial C_A}{\partial t} + \underline{v} \cdot (\underline{\nabla} C_A) = \underline{\nabla} D_m \underline{\nabla} C_A \quad (5.6)$$

Para simular la incorporación de sales de curado en piezas cilíndricas de tejido la **Ecuación 5.6** se escribió en coordenadas cilíndricas con flujo difusivo radial y axial. D_m se consideró variable con la concentración de soluto y se agregaron términos convectivos que consideran v_r , v_z , resultando:

$$\frac{\partial C_A}{\partial t} + v_r \frac{\partial C_A}{\partial r} + v_z \frac{\partial C_A}{\partial z} = \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left(r D_m \frac{\partial C_A}{\partial r} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left(D_m \frac{\partial C_A}{\partial z} \right) \quad (5.7)$$

donde:

z = coordenada axial

r = coordenada radial

La entrada convectiva de fluido desde la solución de inmersión se produce en sentido contrario a los ejes r y z , por lo tanto:

$$v_r = -v$$

$$v_z = -v$$

luego:

$$\frac{\partial C_A}{\partial t} = \frac{\partial D_m}{\partial r} \frac{\partial C_A}{\partial r} + \frac{D_m}{r} \frac{\partial C_A}{\partial r} + D_m \frac{\partial^2 C_A}{\partial r^2} + \frac{\partial D_m}{\partial z} \frac{\partial C_A}{\partial z} + D_m \frac{\partial^2 C_A}{\partial z^2} + v \left(\frac{\partial C_A}{\partial r} + \frac{\partial C_A}{\partial z} \right) \quad (5.8)$$

Considerando que a nivel industrial el curado no se realiza en condiciones de fuerte agitación, se consideró un coeficiente de transferencia de materia k_c , siendo las condiciones de contorno:

$$r = R; \quad \forall z; \quad -D_m \frac{\partial C_A}{\partial r} = k_c (C_A - C_{Af})$$

$$z = H; \quad \forall r; \quad -D_m \frac{\partial C_A}{\partial z} = k_c (C_A - C_{Af})$$

siendo:

H = semialtura del cilindro.

R = radio del cilindro.

C_{Af} = concentración del soluto de la solución externa.

k_c = coeficiente de transferencia de materia en la interfase.

La condición inicial está expresada por:

$$C_A=0 \quad \text{a} \quad t=0$$

siendo despreciable la concentración inicial del soluto de la pieza antes de comenzar la transferencia de materia (para el caso del NaCl la concentración inicial es de 0.17 g cada 100 g de carne porcina fresca, USDA Nutrient Data Laboratory, Agricultural Research Service).

Las condiciones de simetría resultan:

$$\frac{\partial C_A}{\partial r} = 0 \quad \text{en } r = 0$$

$$\frac{\partial C_A}{\partial z} = 0 \quad \text{en } z = 0$$

La **Ecuación 5.8** se discretizó según un esquema explícito de diferencias finitas. A los fines de simplificar la nomenclatura de ahora en más se denomina: $C_A = C$ y $D_m = D$, resultando:

$$\begin{aligned} \frac{C_{i,j}^* - C_{i,j}}{\Delta t} = & \frac{(D_{i+1,j} - D_{i-1,j})(C_{i+1,j} - C_{i-1,j})}{4\Delta r^2} + \frac{D_{i,j}(C_{i+1,j} - C_{i-1,j})}{r_{i,j} 2\Delta r} + D_{ij} \frac{(C_{i+1,j} + C_{i-1,j} - 2C_{i,j})}{\Delta r^2} + \\ & + \frac{(C_{i,j+1} - C_{i,j-1})(D_{i,j+1} - D_{i,j-1})}{4\Delta z^2} + D_{ij} \frac{(C_{i,j+1} + C_{i,j-1} - 2C_{i,j})}{\Delta z^2} + \\ & + v_{i,j} \left[\frac{(C_{i+1,j} - C_{i-1,j})}{2\Delta r} + \frac{(C_{i,j+1} - C_{i,j-1})}{2\Delta z} \right] \end{aligned} \quad (5.9)$$

donde el subíndice j representa la posición a lo largo del eje Z ; i , la posición radial; C la concentración en el tiempo anterior, C^* la concentración en el tiempo nuevo; Δt , Δr , Δz son los incrementos en t , r y z respectivamente.

La **Figura 5.1** muestra la grilla que representa la forma en la cual se discretizó el cilindro:

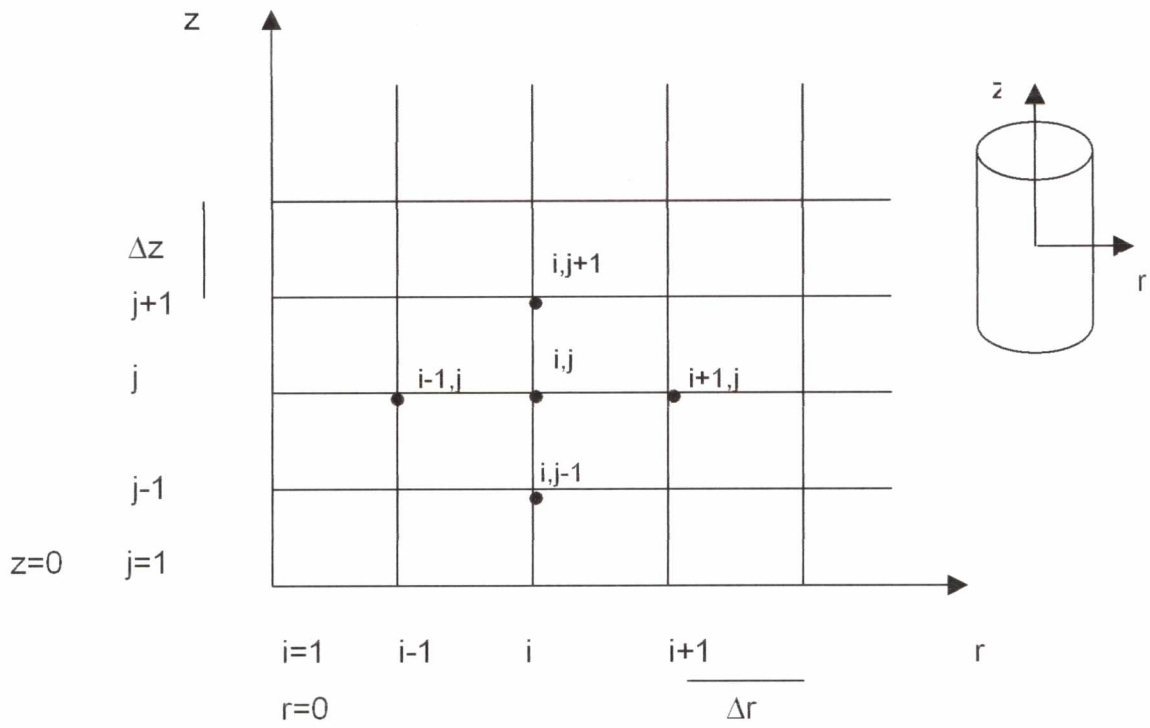


Figura 5.1: Notación utilizada para la discretización del cilindro finito. Donde: i denota la distancia radial al centro y j la altura a lo largo del cilindro.

Reordenando la **Ecuación 5.9** resulta:

$$\begin{aligned}
 C_{i,j}^* = C_{i,j} + \Delta t & \left[\frac{(D_{i+1,j} - D_{i-1,j})(C_{i+1,j} - C_{i-1,j})}{4\Delta r^2} + \frac{D_{i,j}(C_{i+1,j} - C_{i-1,j})}{r_{i,j} 2\Delta r} \right] + \\
 & + \Delta t \left[D_{i,j} \frac{(C_{i+1,j} + C_{i-1,j} - 2C_{i,j})}{\Delta r^2} + \frac{(C_{i,j+1} - C_{i,j-1})(D_{i,j+1} - D_{i,j-1})}{4\Delta z^2} + D_{i,j} \frac{(C_{i,j+1} + C_{i,j-1} - 2C_{i,j})}{\Delta z^2} \right] + \\
 & + \Delta t v_{i,j} \left[\frac{(C_{i+1,j} - C_{i-1,j})}{2\Delta r} + \frac{(C_{i,j+1} - C_{i,j-1})}{2\Delta z} \right] \quad (5.10)
 \end{aligned}$$

Por condición de simetría en el centro se consideró:

$$C_{1,j}=C_{2,j}$$

$$C_{i,1}=C_{i,2}$$

Para resolver el problema numérico en diferencias finitas se desarrolló un programa en Fortran 90 (versión 4.0 Microsoft).

5.2 ALIMENTACIÓN DE PARÁMETROS AL MODELO NUMÉRICO

5.2.1 Aporte convectivo de solutos

Para poder evaluar el aporte convectivo de solutos que genera la incorporación del solvente en el tejido se utilizaron los resultados experimentales obtenidos en el capítulo 3, donde se analizó en pequeños cilindros el ingreso de agua en función del tiempo de inmersión.

El flujo de agua que ingresa en forma convectiva varía en el tiempo. El balance macroscópico de agua en los pequeños cilindros de tejido conduce a:

$$V \frac{dC^w}{dt} = k(C_{\max}^w - C^w)A \quad (5.11)$$

donde: V es el volumen del cilindro pequeño utilizado en los balances de materia, A es el área de dicho cilindro, C^w es la concentración másica de agua (g agua/ g tejido cárneo) y C_{\max}^w es el valor de la máxima concentración másica de agua alcanzada para cada concentración de NaCl utilizada.

Reordenando la ecuación anterior resulta:

$$\frac{dC^w}{dt} = k'(C_{\max}^w - C^w) \quad \text{donde} \quad k' = \frac{kA}{V} \quad (5.12)$$

Integrando la **Ecuación 5.12** y considerando que:

$$\text{a } t=0 \quad C^w = C_0^w$$

resulta:

$$\ln C_w^* = \ln \left(\frac{C_{\max}^w - C}{C_{\max}^w - C_0} \right) = -k't \quad (5.13)$$

donde C_w^* es la concentración adimensional de agua.

Regresionando C_w^* en función del tiempo, se determinó un valor promedio de k' para las distintas concentraciones de NaCl utilizadas. El valor de k' obtenido fue $6 \cdot 10^{-5} \text{ 1/s}$ ($r^2 = 0.7431$).

Reordenando la **Ecuación 5.13**,

$$C_w^* = e^{(-k't)} \quad (5.14)$$

A partir de la **Ecuación 5.14** se calculo la velocidad del flujo de agua (\underline{v}) en el tejido cárneo según:

$$\underline{v} = \frac{V}{A} \frac{dC_w^*}{dt} = k e^{(-k't)} \quad (5.15)$$

donde k' tiene unidades de (1/s) y k (m/s)

Por lo tanto en el cálculo del aporte convectivo, la velocidad (m/s) está dada por la siguiente expresión:

$$v = 3.5 \cdot 10^{-7} \exp(-610^{-5}t)$$

5.2.2 Coeficiente de transferencia de materia en la solución de inmersión

Para determinar el valor de k_c se utilizó un gráfico que correlaciona los parámetros J_m y Re (Sherwod, 1975), siendo:

$$J_m = \frac{Sh}{Re Sc^{1/3}}$$

Nro. de Reynolds $Re = \frac{\rho v_{\infty} L}{\mu}$

Nro. de Schmidt $Sc = \frac{\nu}{D} = \frac{\mu}{\rho D}$

Nro. de Sherwood $Sh = \frac{k_c L}{D}$

donde D es el coeficiente de difusión de las sales en agua ($D_{NaCl} = 8.5 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$, $D_{NaNO_2} = 8.29 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$, $D_{KNO_3} = 10.18 \cdot 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$), μ la viscosidad del agua, ρ la densidad del agua, L la longitud equivalente, ν la viscosidad dinámica del agua, v_{∞} la velocidad del fluido.

Utilizando Re bajos ($Re=3$) ya que la solución no está agitada mecánicamente, se obtuvo $J_m=0.3$, y despejando resultó un valor del coeficiente de transferencia $k_c=1.3 \cdot 10^{-7} \text{ m/s}$, promedio de las tres sales de curado.

5.2.3 Efecto de la concentración de NaCl en los coeficientes de difusión de las sales de curado en el tejido cárneo.

Para poder resolver los perfiles de concentración de las sales de curado debe alimentarse al modelo numérico coeficientes de difusión que son

variables con la concentración de NaCl presente en el producto, ello implica que el problema es no lineal.

Para analizar la dependencia de los coeficientes de difusión con la concentración de NaCl se utilizaron los D_m estimados a partir de los datos experimentales obtenidos para los coeficientes de difusión de NaCl a diferentes concentraciones salinas informados en el capítulo 3 y los coeficientes de difusión del nitrito de sodio y del nitrato de potasio calculados en el capítulo 4.

En la **Figura 5.2** se observa como varían los coeficientes de difusión de NaCl, NaNO_2 y KNO_3 en función de la concentración de cloruro de sodio, y se muestran la ecuaciones que ajustan dicha variación.

Así para el NaCl la ecuación que ajusta la dependencia de D_m con la concentración de NaCl es:

$$D_m = -0.00004 C_{\text{NaCl}}^2 + 0.0583 C_{\text{NaCl}} + 1.7241$$

mientras que para el nitrito de sodio la ecuación es:

$$D_m = 0.0162 C_{\text{NaCl}} + 2.6608$$

y para el nitrato de potasio la ecuación viene dada por:

$$D_m = 0.0282 C_{\text{NaCl}} + 2.625.$$

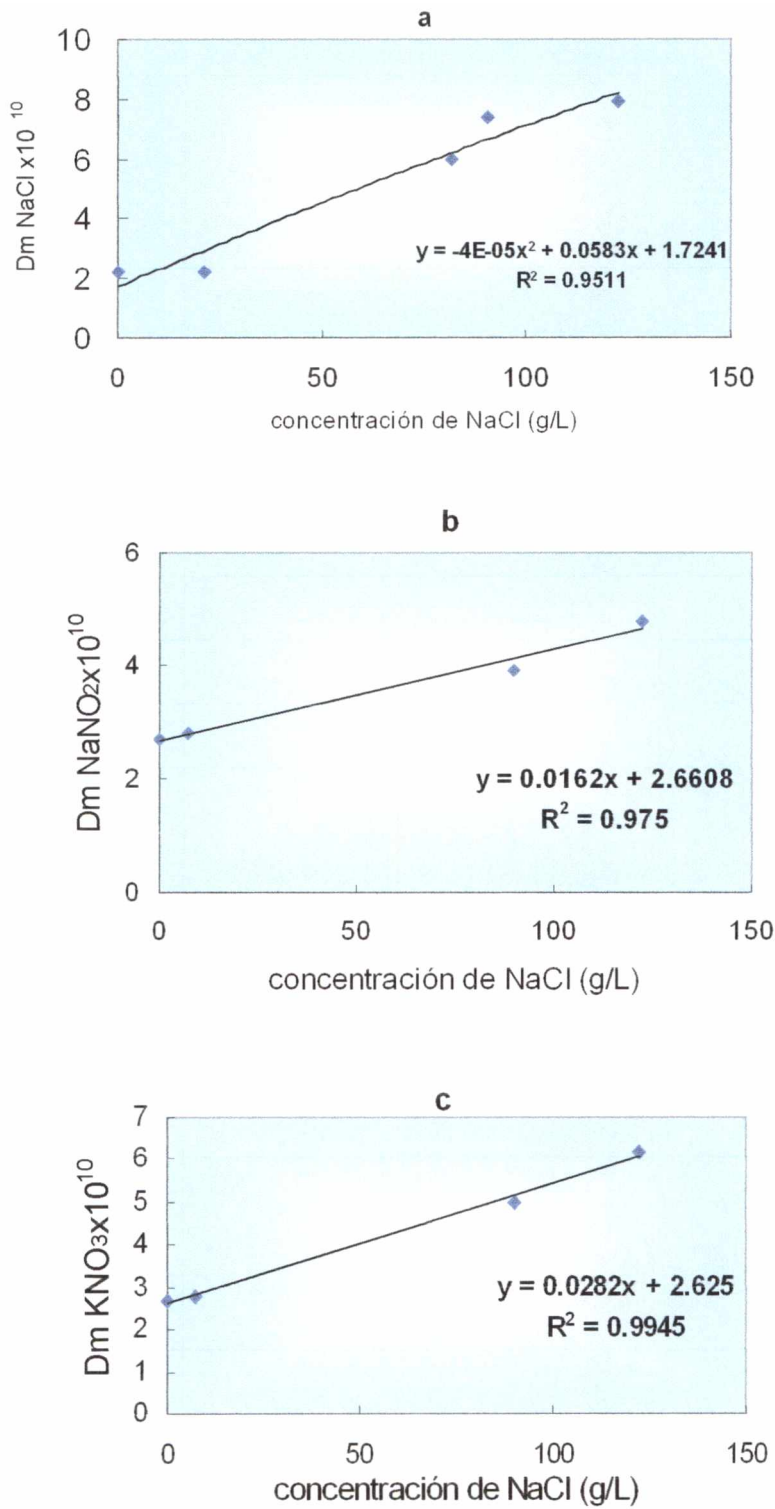


Figura 5.2: Variación del coeficiente de difusión efectiva en función de la concentración de NaCl para a) NaCl, b) NaNO₂ y c) KNO₃

5.3 VALIDACIÓN EXPERIMENTAL DEL MODELO

Para validar el modelo se utilizaron siete cilindros de carne porcina (*Longissimus dorsi*) de 6 cm de diámetro y 12 cm de largo, los cuales se sumergieron en la salmuera de curado (NaCl 140 g/L + NaNO_2 3 g/L+ KNO_3 2.5 g/L). Cada uno de estos cilindros fue retirado de la solución a distintos tiempos 3.66, 5, 8, 13, 24,48 y 75 horas y se lo cortó perpendicular al eje axial del mismo en cinco rodajas de 2.4 cm de espesor. Luego se retiró con un sacabocado de 2.6 cm de diámetro interno el centro de cada rodaja (**Figura 5.3**). Se utilizó cada anillo y cada centro para determinar la concentración de iones nitrito, nitrato y cloruro, utilizando las técnicas descritas en el capítulo 2.

En la **Figura 5.3** los números 2,4 y 6 corresponden a los anillos externos a distintas alturas mientras que 1,2 y 3 son los cilindros internos.

En la **Figura 5.4** se muestra los datos experimentales de la masa de cloruro de sodio media ingresada al tejido cárneo (expresada como mgNaCl/gcarne) en función del tiempo de inmersión para los anillos externos (2,4,6) y para los cilindros interiores (1,3,5).

En la **Figuras 5.5** y **5.6** se muestran los datos experimentales de la masa de nitrito de sodio media ingresada al tejido cárneo (expresada como mg NaNO_2 /gcarne) y de nitrato de potasio incorporada en el tejido (mg KNO_3 /gcarne) en función del tiempo de inmersión para las seis distintas zonas del cilindro de carne.

En las experiencias realizadas no se observaron cambios de volumen en los cilindros utilizados.

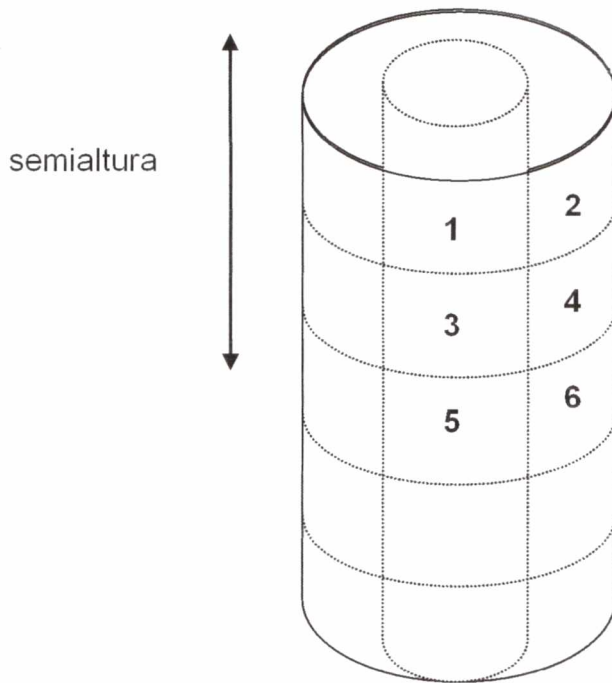


Figura 5.3: Esquema donde se representa las distintas porciones de tejido en las que se determinaron las concentraciones de los solutos a los efectos de validar experimentalmente el modelo numérico

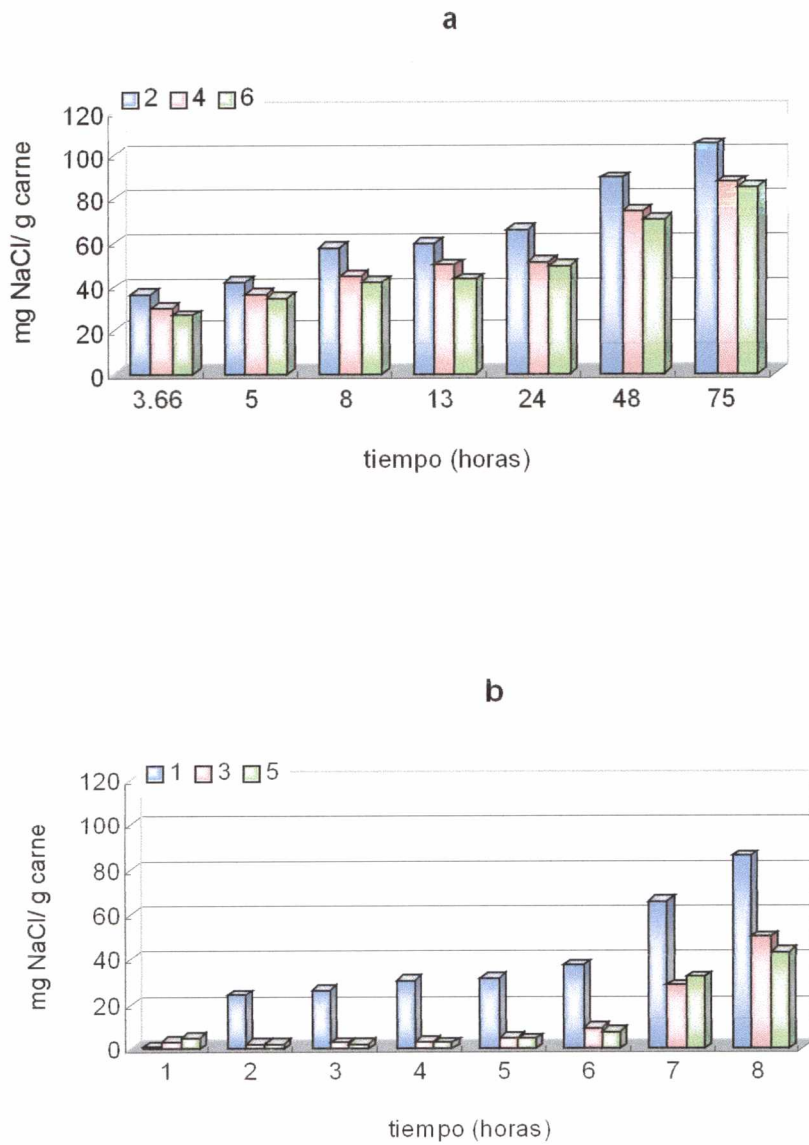


Figura 5.4: Variación de la cantidad de cloruro de sodio/ masa de carne en función del tiempo de inmersión **a)** anillos externos (2, 4,6), **b)** cilindros internos (1,3,5).

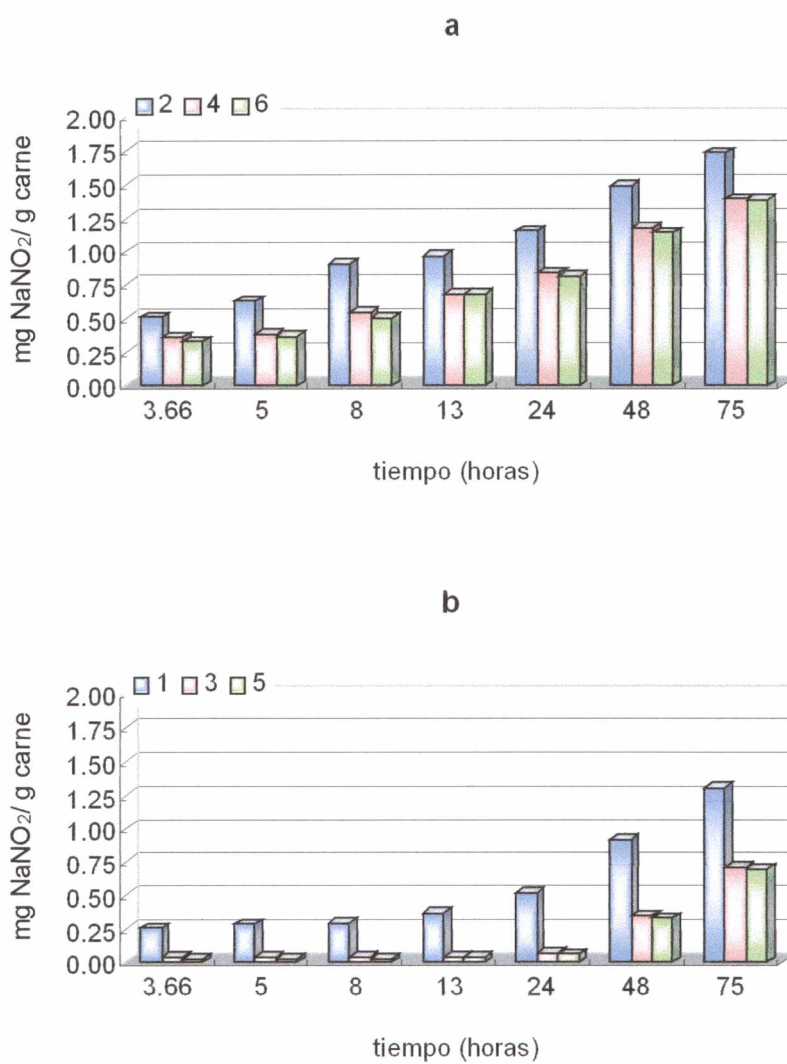


Figura 5.5: Variación de la cantidad de nitrito de sodio/ masa de carne en función del tiempo de inmersión **a)** anillos externos (2, 4,6), **b)** cilindros internos (1, 3,5).

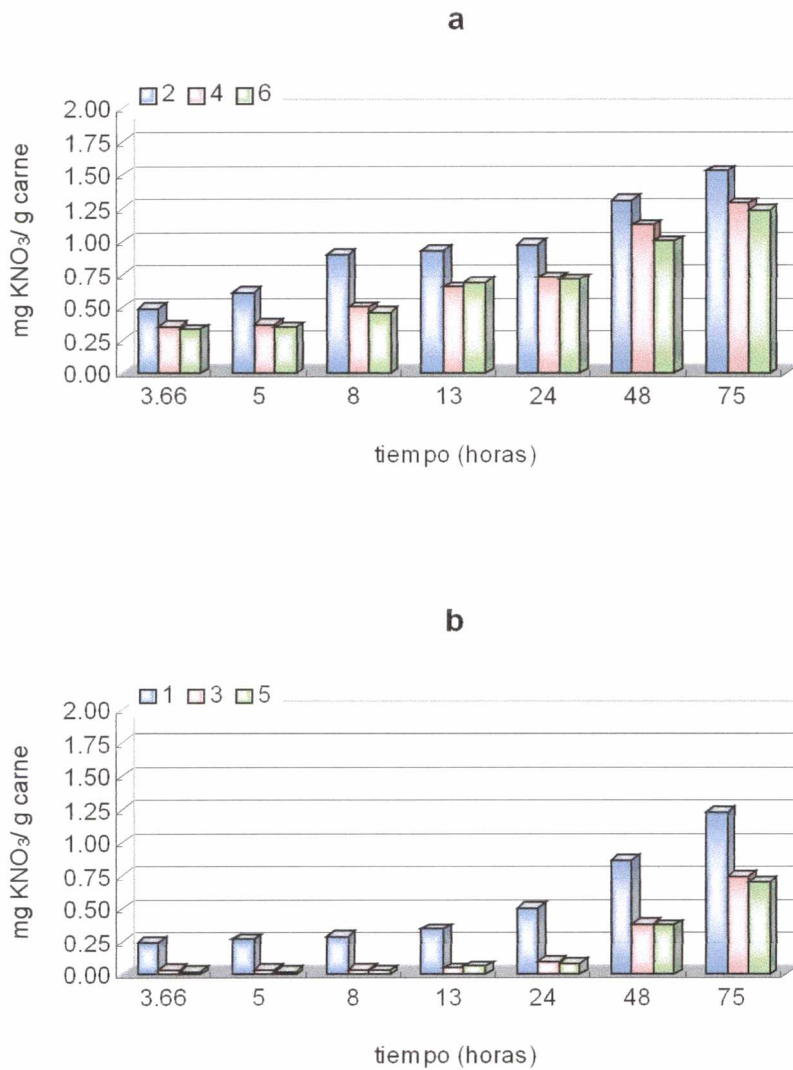


Figura 5.6: Variación de la cantidad de nitrato de potasio/ masa de carne en función del tiempo de inmersión **a)** anillos externos (2, 4,6), **b)** cilindros internos (1 3 5)

5.4 CÁLCULO DE LAS CONCENTRACIONES MEDIAS EN EL MODELO

A los efectos de calcular las concentraciones medias en cada región del cilindro (1,2,3,4,5,6) para poder comparar las predicciones con los datos experimentales, se realizaron las siguientes integraciones numéricas por regiones:

$$dvol = r dr d\theta dz$$

$$\bar{C} = \frac{2\pi \iiint C r dr dz}{2\pi \iiint r dr dz} \quad (5.16)$$

el denominador de la **Ecuación 5.16** es:

$$2\pi \int_{z_1}^{z_2} \int_{r_1}^{r_2} r dr dz = \pi(z_2 - z_1)(r_2^2 - r_1^2)$$

Para resolver el numerador se utilizó el método de los rectángulos (Dahlquist y col. 1974). Si

$$J = \int_c^d \int_a^b u(x, y) dx dy$$

entonces:

$$J \cong hk \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N u_{i-1/2, j-1/2}$$

donde

$$h = dx$$

$$k = dy$$

$$J \cong hk \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N \frac{1}{4} (u_{i-1,j-1} + u_{i-1,j} + u_{i,j-1} + u_{i,j}) = hk \sum_{i=1}^M \sum_{j=1}^N \omega_{i,j} u_{i,j}$$

donde $\omega_{i,j}=1$ para los puntos interiores y $\frac{1}{4}$ para la esquinas.

En nuestro caso:

$$h = dr$$

$$k = \partial z$$

$$u_{i,j} = C_{i,j} r_{i,j}$$

5.5 COMPARACIÓN DE LOS RESULTADOS DEL MODELO CON LOS DATOS EXPERIMENTALES

En la **Figuras 5.7, 5.8 y 5.9** se muestran las concentraciones medias de NaCl, NaNO₂ y KNO₃ respectivamente en cada una de las regiones de la pieza cárnea en función del tiempo de contacto. En dichas figuras se observan los resultados experimentales y los predichos por el modelo numérico, expresados como mg NaCl/g carne, mg NaNO₂/g carne y mg KNO₃/g carne. Se observa un buen ajuste entre los datos experimentales y los predichos.

Es importante remarcar que el haber utilizado el término convectivo en el modelo numérico permite el ajuste correcto de los valores experimentales.

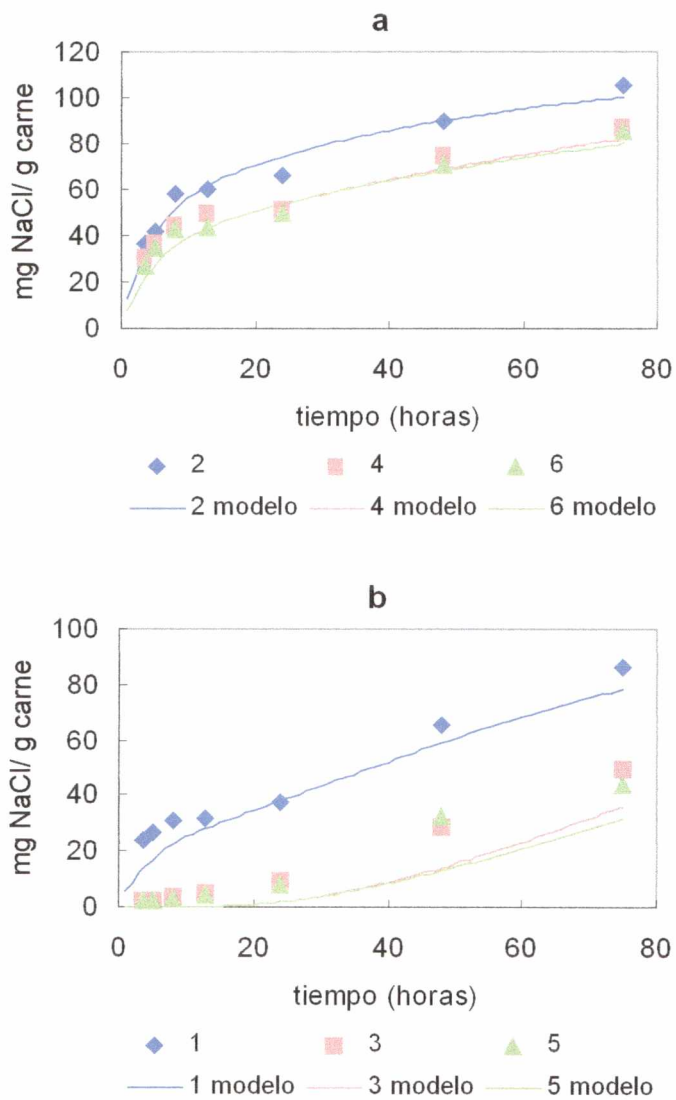


Figura 5.7: Variación de la cantidad de cloruro de sodio/ masa de carne (experimental y predichos por el modelo) en función del tiempo de inmersión: **a)** anillos externos (2, 4,6), **b)** cilindros internos (1,3,5).

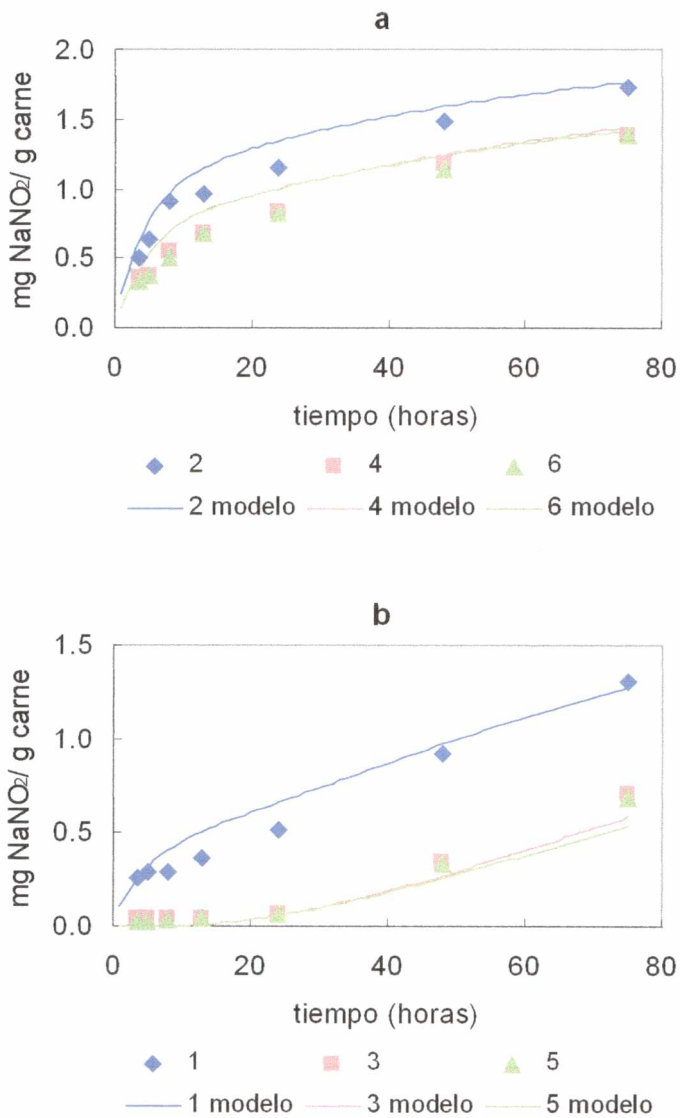


Figura 5.8: Variación de la cantidad de nitrito de sodio/ masa de carne (experimental y predichos por el modelo) en función del tiempo de inmersión:
a) anillos externos (2, 4,6), **b)** cilindros internos (1,3,5).

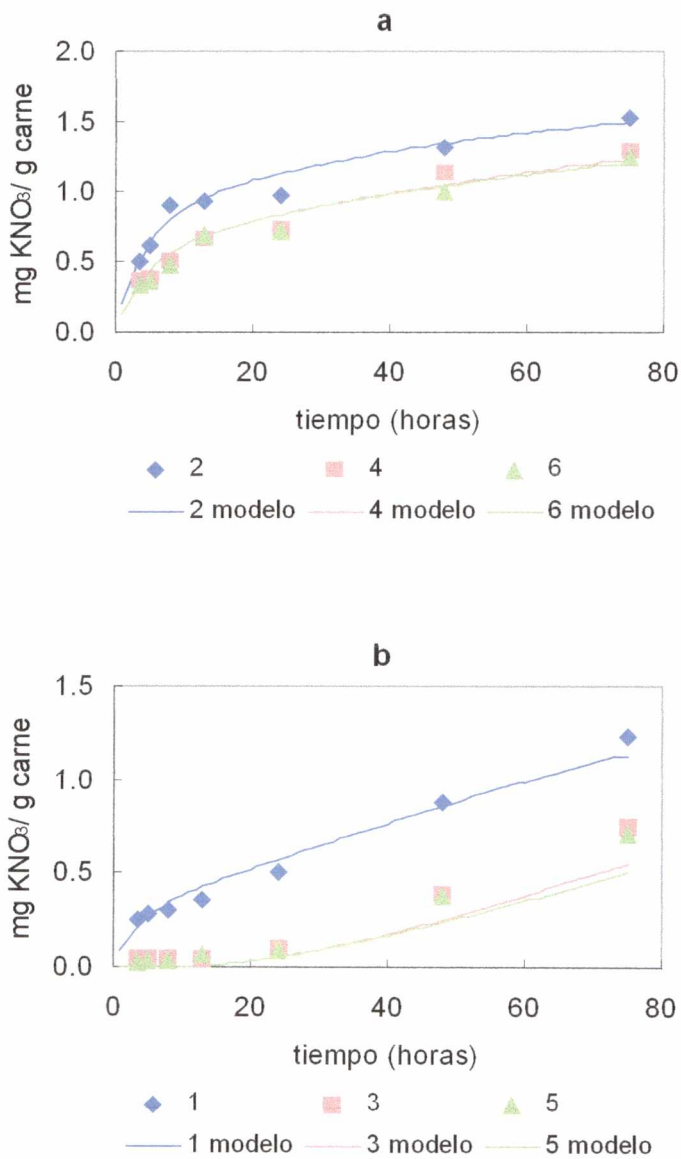


Figura 5.9: Variación de la cantidad de nitrato de potasio/ masa de carne (experimental y predichos por el modelo) en función del tiempo de inmersión **a)** anillos externos (2, 4,6), **b)** cilindros internos (1,3,5).

5.6 PERFILES DE CONCENTRACIÓN

En la industria, las piezas cárneas se sumergen en la salmuera y resulta importante conocer como varía los perfiles de concentración de las sales de curado en función del tiempo de inmersión.

Los perfiles de concentración de cloruro de sodio correspondiente al cilindro de 6cm de diámetro y 12cm de altura para 8, 24 y 72 horas de inmersión se muestran en la **Figura 5.10**; la figura **a** corresponde a la variación del perfil a lo largo de la semialtura del cilindro en un radio fijo de 1.45cm, mientras que en la figura **b** se muestra para una altura de 2.90cm el perfil de concentración en función del radio.

La **Figura 5.11** y la **Figura 5.12** se muestra los perfiles de concentración del nitrito de sodio y del nitrato de potasio para una muestra sumergida durante 8, 24 y 72 horas. Las gráficas indicadas con **a** corresponden a un radio de 1.45cm en función de la semialtura y las figuras **b** corresponden a una altura de 2.90 cm en función del radio.

Debe tenerse en cuenta que posteriormente esos perfiles se uniformizan durante las etapas de secado y almacenamiento.

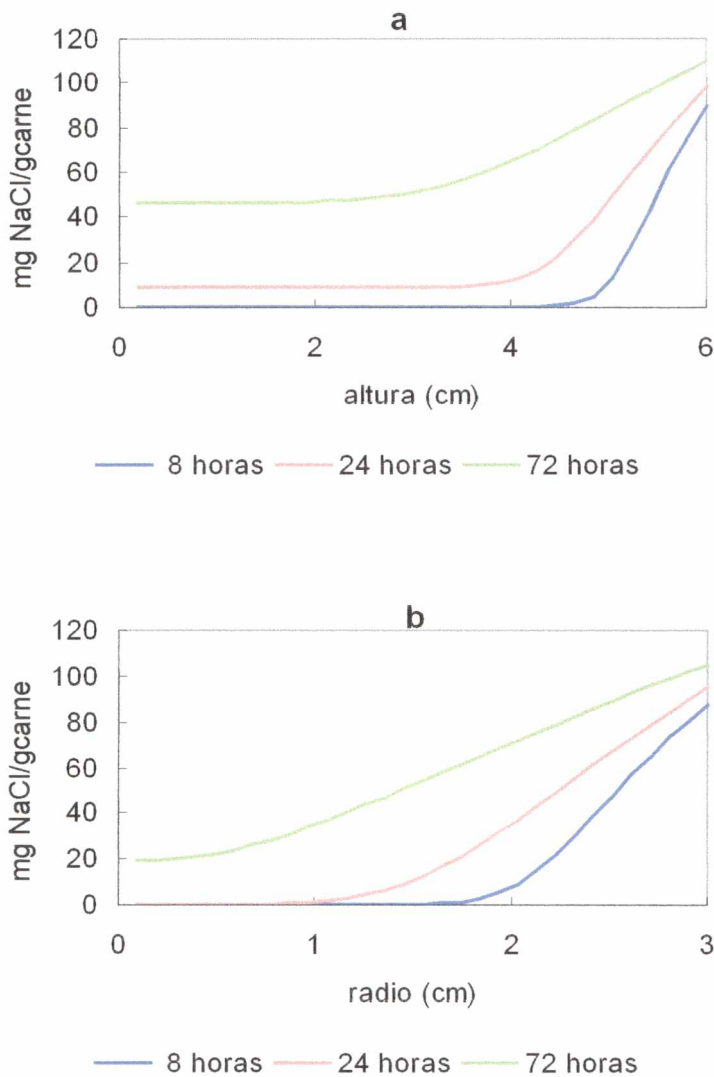


Figura 5.10: Perfil de concentración del NaCl para distintos tiempos de inmersión (8,24 y 72 horas): **a)** en función de la semialtura del cilindro ($r=1.45\text{cm}$), **b)** en función del radio del cilindro ($h=2.90\text{cm}$).

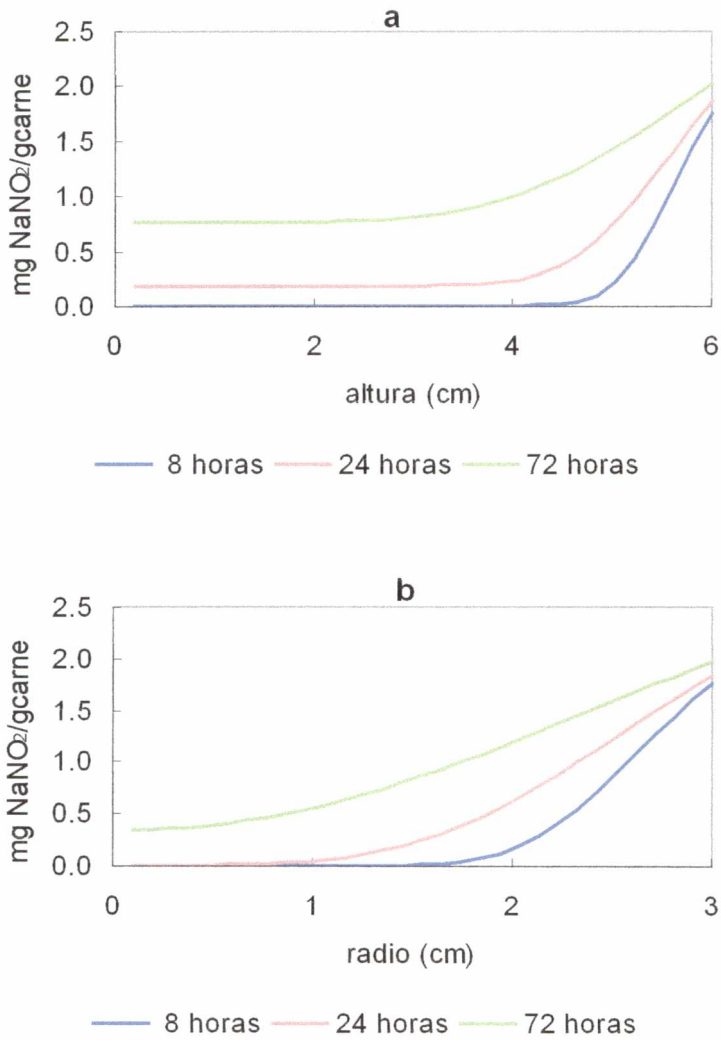


Figura 5.11: Perfil de concentración del NaNO_2 para distintos tiempos de inmersión (8,24 y 72 horas): **a)** en función de la semialtura del cilindro ($r=1.45\text{cm}$), **b)** en función del radio del cilindro ($h=2.90\text{cm}$).

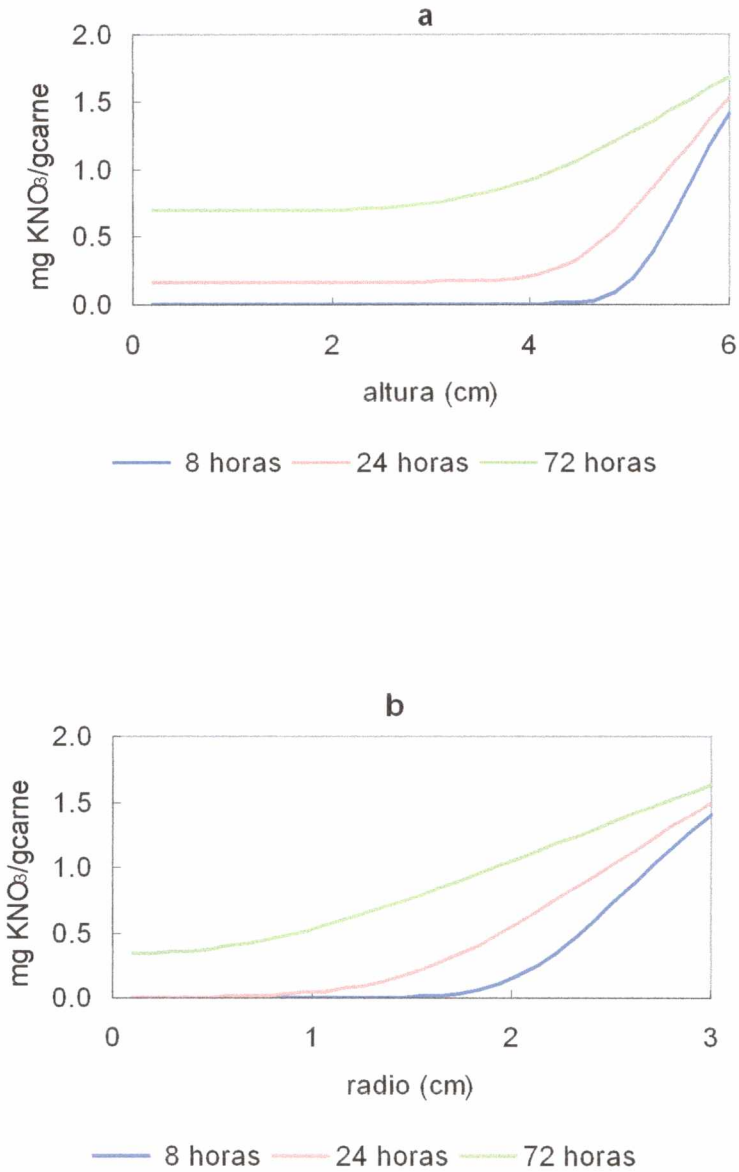


Figura 5.12: Perfil de concentración del KNO_3 para distintos tiempos de inmersión (8,24 y 72 horas): **a)** en función de la semialtura del cilindro ($r=1.45\text{cm}$), **b)** en función del radio del cilindro ($h=2.90\text{cm}$).

5.7 CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO CURADO COMERCIAL

A los efectos de contar con datos experimentales del producto curado comercial se midieron las concentraciones medias de NaCl, NaNO₂ y KNO₃ en el producto terminado, siguiendo el procedimiento descrito en la sección 2.2.

La cantidad de NaCl final en el producto comercial (bondiola) fue 30 mg/g, el contenido de NaNO₂ fue de 138 ppm (0.138 mg/g) y de nitrato de potasio fue nulo.

La humedad en base total fue del 50%, y la actividad acuosa (*a_w*) fue 0.834 a 25°C.

5.8 OPTIMIZACIÓN DE PROCESO DE CURADO

A partir del modelo numérico es posible optimizar el proceso de curado húmedo, pudiendo determinar el tiempo necesario para alcanzar los valores medios de concentración de las sales de curado necesarios para que el producto final cumpla con las condiciones organolépticas y microbiológicas adecuadas. Para evitar alteraciones microbianas se propone un tiempo de inmersión menor a 24hs.

De acuerdo a las reglamentaciones vigentes el uso de nitrito de sodio, nitrato de potasio o su combinación no debe superar las 200 ppm (0.2mg/g) expresado como nitrito de sodio en el producto final (USDA-FSIS 1999). Asimismo un valor de NaCl aceptable por el consumidor está comprendido entre 3-4% (30mg/g carne-40mg/g carne, Pearson 1996). Por lo tanto el producto húmedo (luego de sumergirlo cierto tiempo en la salmuera) y con un contenido de humedad de aproximadamente 75% no debe superar el valor de 20 mg/g para el cloruro de sodio y 0.1mg/g para la suma de nitrito de sodio y nitrato de potasio (expresado como nitrito de sodio). Estos valores límites surgen de considerar que el producto húmedo luego se debe secar hasta alcanzar una humedad final del 50%.

Se utilizó el modelo numérico con el fin de optimizar el proceso, considerando un cilindro de tejido porcino cuyas dimensiones fueron de 10cm diámetro y de 26cm de longitud y se consideraron salmueras de inmersión de distinta concentración de cloruro de sodio, nitrito de sodio y nitrato de potasio.

Los valores medios de NaCl, NaNO₂ y KNO₃ expresados como mg/g carne para distintos tiempos de inmersión en salmueras de diferentes composición se muestran en las **Tablas 5.1 y 5.2**.

La **Tabla 5.1** corresponde a una concentración en la salmuera de 70g/L de NaCl, 0.2g/L NaNO₂ y 0.2g/L de KNO₃.

En la **Tabla 5.2** se muestran los valores medios de las sales de curado para una salmuera constituida por 50g/L de NaCl, 0.1g/L NaNO₂ y 0.1g/L de KNO₃.

Tabla 5.1: Valores medios de las concentraciones de las sales de curado (NaCl, NaNO₂ y KNO₃) para diferentes tiempos de inmersión para una salmuera de 70g/L de NaCl, 0.2g/L NaNO₂ y 0.2g/L de KNO₃ predichos por el modelo.

Tiempo de inmersión (horas)	mg NaCl / g	mg NaNO ₂ / g	mg KNO ₃ / g	mgNaNO ₂ /g + mgKNO ₃ /g
1	17.45	0.050	0.049	0.083
2	26.46	0.077	0.075	0.128
3	34.44	0.100	0.099	0.199

Tabla 5.2: Valores medios de las concentraciones de sales de curado (NaCl, NaNO₂ y KNO₃) para diferentes tiempos de inmersión para una salmuera de 50g/L de NaCl, 0.1g/L NaNO₂ y 0.1g/L de KNO₃ predichos por el modelo.

Tiempo de inmersión (horas)	mg NaCl / g	mg NaNO ₂ / g	mg KNO ₃ / g	mgNaNO ₂ /g + mgKNO ₃ /g
1	12.79	0.025	0.025	0.042
2	19.35	0.038	0.038	0.064
3	25.07	0.050	0.050	0.084

La última columna de las **Tablas 5.1** y **5.2** corresponde a la suma de mgNaNO₂/g y mgKNO₃/g expresado como mgNaNO₂/g carne.

Como se observa en las tablas para la primera condición de salmuera utilizada (**Tabla 5.1**) en una hora de inmersión el producto alcanza los valores deseados, mientras que a partir de las 2 horas las concentraciones medias superan el límite admitido.

De la **Tabla 5.2** se puede concluir que es conveniente sumergir el tejido cárneo durante 1 o 2 horas, mientras que a las 3 horas de inmersión se produce un producto más salado de lo deseado, si bien la concentración de nitrito de sodio y nitrato de potasio quedan dentro del rango de los valores aceptados por la USDA .

De este modo se pueden ir variando las condiciones operativas del proceso de modo de obtener un producto final con las especificaciones adecuadas.

El uso del modelo numérico puede ser utilizado en la industria en la obtención de decisiones de fabricación más eficientes. Esta técnica permite:

- Optimizar el tiempo de curado para una concentración de salmuera dada.

- Minimizar los costos de las formulaciones de los productos cárnicos.
- Formular productos de calidad uniforme.
- Evaluar la sensibilidad de las formulaciones a cambios en el dimensiones de las piezas cárneas
- Determinar las mezclas más ventajosas y deseables para los productos.

El problema básico de la formulación de productos cárnicos es el de determinar la combinación de los constituyentes del producto que deben usarse para cumplir con las especificaciones predeterminadas de la formulación del producto en un tiempo óptimo.

5.9 CONCLUSIONES

En los procesos industriales, la difusión de las sales ocurre en trozos de carnes cortadas de un tamaño considerable, donde se establece un gradiente de concentración de NaCl el cual afecta progresivamente la estructura del tejido incrementando el coeficiente de difusión de la sal.

El modelo desarrollado resuelve un problema no lineal de difusión con coeficientes de difusividad que varían con la concentración de soluto y además considera aportes convectivo, manifestado por el ingreso de agua en la matriz que a su vez arrastra a los solutos. Este problema no tiene solución analítica.

El modelo numérico desarrollado contribuye a resolver un problema tecnológico referido a la optimización del curado húmedo, a través de la determinación de las condiciones operativas tales como las concentraciones de sales en la solución de inmersión y los tiempos de proceso.

El modelo incorpora los coeficientes de difusión de las sales de curado en función de la concentración de NaCl para poder predecir el tiempo necesario que debe estar sumergida la muestra para no superar el valor máximo de nitrito permitido y los valores recomendables de cloruro de sodio.

Es necesario mantener la seguridad microbiológica del alimento por lo cual hay que controlar las cantidades de sales incorporadas para evitar el

crecimiento de microorganismos no deseados para lo cual se debe llegar a un a_w adecuado, sin agregar cantidades que superen los valores permitidos por la formación de nitrosaminas en el caso de adición de nitrito y nitrato, y en el caso de NaCl sin superar el nivel de sal aceptado por los consumidores.

1) Estudios sobre la difusión de sales de curado

- ♦ Los coeficientes de difusión efectivos de las tres sales de curado analizadas (NaCl , NaNO_2 y KNO_3) aumentan al incrementar la temperatura a la cual se produce la difusión.

- ♦ Se analizó el efecto de la concentración de NaCl sobre los coeficientes de difusión de las sales de curado en tejido cárneo; el incremento de D_m de NaCl , NaNO_2 y KNO_3 con la concentración de NaCl fue atribuido a los cambios en la estructura celular provocados por la penetración de la sal. También se analizó la importancia de considerar el contenido de agua en el tejido sobre los valores de D_m

- ♦ Los altos valores de coeficientes de difusión de nitrito de sodio y de nitrato de potasio en presencia de NaCl no pueden ser explicadas sobre las base las fuerzas eléctricas debido a los iones presentes. La consideración de la migración iónica por la aplicación de la teoría de Stefan-Maxwell no explica el alto valor del coeficiente de difusión efectivo.

2) Aspectos microestructurales del proceso de curado

- ♦ Los balances de materia establecidos para el proceso de curado permitieron determinar en las muestras los cambios en el contenido de agua, la sal incorporada y la solubilización proteica.

- ♦ El tejido cárneo tratado con concentraciones crecientes de NaCl muestra importantes modificaciones. Para concentraciones de NaCl en la solución entre 5 y 200 g/L el tejido capta agua. La máxima cantidad de agua incorporada por el tejido fue observada para concentraciones de NaCl entre

70 y 100 g/L. Por encima de 200 g/L la capacidad de retención de agua desciende mostrando pérdida de agua a 330 g/L.

- ♦ Al analizar la desnaturalización proteica en tejido cárneo sumergido en soluciones de NaCl cuyas concentraciones estaban comprendidas entre 5-50g/L se observó que al incrementar la concentración de NaCl se redujo el número de picos observado en los termogramas de DSC y las temperaturas máximas se desplazaron a valores menores debido a la desnaturalización proteica.

- ♦ Las características estructurales del tejido porcino curado son afectadas por los cambios físicos y químicos en la fibra muscular como pudo observarse por microscopía SEM.

- ♦ Estos cambios microestructurales pueden explicar el aumento del coeficiente de difusión del nitrito y del nitrato en presencia de cloruro de sodio, así como las importantes modificaciones cuando el tejido se trató con concentraciones crecientes de NaCl.

- ♦ Se obtuvieron expresiones para los coeficientes de difusión de NaCl, NaNO_2 y KNO_3 en función de la concentración de NaCl.

3) Modelo numérico con aplicación industrial.

- ♦ Se desarrolló un modelo numérico en diferencias finitas que permitió predecir el contenido de NaCl, NaNO_2 y KNO_3 en forma simultánea en un tejido cárneo de tamaño similar al que se utiliza en la industria. En dicho modelo no sólo se tuvieron en cuenta los aspectos difusivos, sino que consideró el aporte convectivo manifestado por el ingreso de agua en la

matriz que a su vez arrastra a los solutos. El modelo se validó mediante datos experimentales.

- ◆ En los procesos industriales, la difusión de las sales ocurre en trozos de carnes cortadas de un tamaño considerable, donde se establece un gradiente de concentración de NaCl el cual afecta progresivamente la estructura del tejido incrementando los coeficientes de difusión de las sales.

- ◆ El modelo desarrollado resuelve un problema no lineal de difusión con coeficientes de difusividad que varían con la concentración de soluto y además considera aportes convectivo. Este problema no tiene solución analítica.

- ◆ El modelo numérico desarrollado contribuye a resolver un problema tecnológico referido a la optimización del curado húmedo, a través de la determinación de las condiciones operativas tales como las concentraciones de sales en la solución de inmersión y los tiempos de proceso.

Apéndice

```

!CILINDRO BIDIMENSIONAL
      !DIFERENCIAS FINITAS METODO EXPLICITO
IMPLICIT REAL*8(A-H,O-Z)
      IMPLICIT INTEGER (I-N)
      CHARACTER * 12 ARCHI1,ARCHI2, ARCHI3,ARCHI4
      ! ARCHI1 SIRVE PARA GUARDAR EL PERFIL
      ! CCL=CONCENTRACIONES CLORO, CCLA = concentraciones cloro
anteriores
      ! CNI=CONCENTRACIONES NITRITO, CNIA = concentraciones nitrito
anteriores
      ! CNA=CONCENTRACIONES NITRATO, CNAA = concentraciones
nitrato anteriores
      ! DCL = coeficiente de difusion del cloro
      ! DNI = coeficiente de difusion del nitrito
      ! DNA = coeficiente de difusion del nitrato
      ! R = coordenada radial
      ! Z = coordenada axial
      ! RT= radio total(m)
      ! ZT= semialtura (m)
      ! TIMAX= tiempo maximo (seg)
      ! V= velocidad convectiva (m/seg)
      ! DT= intervalo de tiempo (seg)calculado en base a la estabilidad
      ! del cálculo
      ! ICICLO= CICLO DE IMPRESION
      ! CFCL= Concentracion de cloro en equilibrio con el tejido
      ! CFNI= Concentracion de nitrito en equilibrio con el tejido
! CFNA= Concentracion de nitrato en equilibrio con el tejido
! AK= Coeficiente de transferencia de materia
      ! i es para r
      ! j es para z
      COMMON R(31),Z(31),DT, DR, DZ,AK, aux1, aux2, aux3, aux4
      DIMENSION CCL(31,31),CCLA(31,31),CNI(31,31),CNIA(31,31)

```

```

DIMENSION CNA(31,31), CNA(31,31)
DIMENSION DCL(31,31),DNI(31,31), DNA(31,31)
DIMENSION V(31,31)

```

```

OPEN (UNIT=3, FILE='DATCIL.TXT')
READ (3,'(A)') ARCHI1
READ (3,'(A)') ARCHI2
READ (3,'(A)') ARCHI3
READ (3,'(A)') ARCHI4

```

```

READ (3, *)RT, ZT, TIMAX,AK
READ (3, *)CFCL,CFNI,CFNA
Read (3,* ) DT,Iciclo
CLOSE (3, STATUS='KEEP')

```

```

OPEN (UNIT=4, FILE=ARCHI1)
OPEN (UNIT=5, FILE=ARCHI2)
OPEN (UNIT=6, FILE=ARCHI3)
OPEN (UNIT=7, FILE=ARCHI4)

```

```

WRITE (4,95)RT, ZT, TIMAX,AK
WRITE (4,96)CFCL,CFNI,CFNA
WRITE (4,98)DT
WRITE (5,95)RT, ZT, TIMAX,AK
WRITE (5,96)CFCL,CFNI,CFNA
WRITE (5,98)DT
WRITE (6,95)RT, ZT, TIMAX,AK
WRITE (6,96)CFCL,CFNI,CFNA
WRITE (6,98) DT
WRITE (7,95)RT, ZT, TIMAX,AK
WRITE (7,96)CFCL,CFNI,CFNA
WRITE (7,98) DT
WRITE (*,95)RT, ZT, TIMAX,AK

```

```

WRITE (*,98) DT
WRITE (*,96)CFCL,CFNI,CFNA
95 FORMAT(1H , 'Radio=',G10.4,' Semialtura=',G10.4,' Tiempo final='
1, E10.4,' Coeficiente de transferencia=',G10.4)
96 FORMAT(1H , 'CFCL=',E10.4,' CFNI=',E10.4,' CFNA=',E10.4)
WRITE (4,97)
97 FORMAT(1H , ' I', 4X, 'J', 6X, 'CCL', 10X, 'CNI', 12X, 'CNA')
98 FORMAT (1H , 'Delta tiemp en segundos= ', G10.4)
DR=RT/30.D0
DZ=ZT/30.D0

```

Write (*,*) dr, dz,dt

!!INICIALIZACION DE VARIABLES

```

R(1) = 0.0D0
Z(1) = 0.0D0
Do I=2,31
R (I)= DR * (I-1)
Enddo
Do J=2,31
Z(J) = DZ*(J-1)
Enddo

DO I=1,31
DO J=1,31
CCL(I,J)=0.D0
CCLA(I,J)=0.D0
CNI(I,J)=0.D0
CNIA(I,J)=0.D0
CNA(I,J)=0.D0
CNAA(I,J)=0.D0
DCL(I,J)=7.9D-10

```

```

        DNI(I,J)=5.1D-10
        DNA(I,J)=6.2D-10

        ENDDO
    ENDDO
    TI=0.D0
    ICON1=1
    ICON2=1
    ! auxiliares para la subrutina cálculo
        aux1= DT/DR**2
        aux2= DT/(2.D0*DR)
        aux3= DT/DZ**2
        aux4= DT/(2.D0*DZ)

    WRITE (4,300) DCL(1,1),DNI(1,1),DNA(1,1)
    WRITE (5,300) DCL(1,1),DNI(1,1),DNA(1,1)
    WRITE (6,300) DCL(1,1),DNI(1,1),DNA(1,1)
    WRITE (7,300) DCL(1,1),DNI(1,1),DNA(1,1)
    WRITE (*,300) DCL(1,1),DNI(1,1),DNA(1,1)
300  FORMAT (1H,'DCL(1,1)= ',G10.4,'DNI= ',G10.4,'DNA= ',G10.4)
250  TI=TI+DT
    ! Calculo del aporte convectivo
    DO I=2,30
        DO J=2,30
            V(I,J)= 3.5D-07*EXP(-6.D-05*TI)
        ENDDO
    ENDDO
    Write (*,518) CCLA(29,29), V(30,30),V(15,15)
518  FORMAT (1H,'CCLA= ',G10.4,' V(30,30)= ',
    1 G10.4,' V(15,15)= ',G10.4)

    ! Concentraciones de cloruro de sodio
    CALL CALCULO (CCL,CCLA,DCL,CFCL,V)

```

```
Do J=1,31
Do I=1,31
CCLA(i,j)= CCL(i,j)
enddo
enddo

CALL DIFUCL (CCL,DCL)

CALL DIFUNI (CCL,DNI)

CALL DIFUNA (CCL,DNA)

! Calculo de las concentraciones de nitrito
CALL CALCULO (CNI,CNIA,DNI,CFNI,V)
Do J=1,31
Do I=1,31
CNIA(i,j)= CNI(i,j)
enddo
enddo

! Calculo de las concentraciones para el nitrato
CALL CALCULO (CNA,CNAA,DNA,CFNA,V)
Do J=1,31
Do I=1,31
CNAA(i,j)= CNA(i,j)
enddo
enddo

IF(TI.GT.TIMAX) GOTO 350
IF(ICON1.EQ.Iciclo)THEN

!calculo de la concentracion media por integracion
!con el método de rectángulos bidimensional
```

```

CALL prom (CCL,A1CL,A2CL,B1CL,B2CL,C1CL,C2CL)
CALL prom (CNI,A1NI,A2NI,B1NI,B2NI,C1NI,C2NI)
CALL prom (CNA,A1NA,A2NA,B1NA,B2NA,C1NA,C2NA)

tti=ti/3600.D0
WRITE(4,100) TTI
Do I=1,31
Do J= 1,31
WRITE(4,101)I,J,CCL(I,J),CNI(I,J),CNA(I,J)
100 FORMAT (1H ,'Tiempo (horas)=' ,G10.2)
101 FORMAT (1H ,I2,3X,I2,3X,3(E10.4,3X))
    enddo
    enddo
WRITE (5,110) TTI, A1CL,A2CL,B1CL,B2CL,C1CL,C2CL
WRITE (6,110)    TTI, A1NI,A2NI,B1NI,B2NI,C1NI,C2NI
WRITE (7,110) TTI, A1NA,A2NA,B1NA,B2NA,C1NA,C2NA
110 FORMAT(1H ,7(G10.3,2X))

ICON1=1

else
ICON1=ICON1+1
END IF
GO TO 250

350 WRITE(4,100) TTI
    Do I=1,31
    Do J= 1,31
    WRITE(4,101)I,J,CCL(I,J),CNI(I,J),CNA(I,J)
    enddo
    enddo

CALL prom (CCL,A1CL,A2CL,B1CL,B2CL,C1CL,C2CL)

```

```

CALL prom (CNI,A1NI,A2NI,B1NI,B2NI,C1NI,C2NI)
CALL prom (CNA,A1NA,A2NA,B1NA,B2NA,C1NA,C2NA)
WRITE (5,110) TTI, A1CL,A2CL,B1CL,B2CL,C1CL,C2CL
WRITE (6,110) TTI, A1NI,A2NI,B1NI,B2NI,C1NI,C2NI
WRITE (7,110) TTI, A1NA,A2NA,B1NA,B2NA,C1NA,C2NA

```

```

CLOSE (4, STATUS='KEEP')
CLOSE (5, STATUS='KEEP')
CLOSE (6, STATUS='KEEP')
CLOSE (7, STATUS='KEEP')

```

END

```

SUBROUTINE CALCULO (C,CA,D,CF,V)
IMPLICIT REAL*8(A-H, O-Z)
IMPLICIT INTEGER (I-N)
COMMON R(31),Z(31),DT, DR, DZ,AK, aux1, aux2, aux3, aux4
DIMENSION C(31,31),CA(31,31)
DIMENSION D(31,31)
DIMENSION V(31,31)

! Condiciones de borde
DO J=1,30
DBOR= (D(31,J)+D(30,J))/(2.D0*DR)
C(31,J)=(DBOR*CA(30,J)+AK*CF)/(DBOR+AK)
ENDDO
DO I=1,30
DBOR= (D(I,31)+D(I,30))/(2.D0*DZ)
C(I,31)=(DBOR*CA(I,30)+AK*CF)/(DBOR+AK)
ENDDO

C(31,31)= (CA(30,31)*D(31,31)*DZ/DR+CA(31,30)*D(31,31)*DR/DZ
1 +AK*CF*(DR+DZ))/(D(31,31)*DZ/DR+D(31,31)*DR/DZ+AK*(DR+DZ))

```

! Calculo de las concentraciones internas

Do J=30,2,-1

Do I=30,2,-1

C(I,J)= CA(I,J)+(aux1/4.D0)*(CA(I+1,J)-CA(I-1,J))*(D(I+1,J)-D(I-1,J))+(D(I,J)*aux2/R(I))*(CA(I+1,J) - CA(I-1,J))
 2 +D(I,J)*aux1*(CA(I+1,J)+CA(I-1,J)-2.D0* CA(I,J))
 3+ (aux3/4.D0) * (CA(I,J+1)-CA(I,J-1))*(D(I,J+1)-D(I,J-1))
 4+ D(I,J) * aux3 * (CA(I,J+1)+ CA(I,J-1)-2.D0*CA(I,J)) +aux2*
 5 V(I,J)*(CA(I+1,J)-CA(I-1,J))+ aux4*V(I,J)*(CA(I,J+1)-CA(I,J-1))

ENDDO

ENDDO

DO J=1,31

C(1,J)= C(2,J)

ENDDO

DO I=1,31

C(I,1)= C(I,2)

ENDDO

RETURN

END

SUBROUTINE DIFUCL (CCL,DCL)

IMPLICIT REAL*8(A-H, O-Z)

IMPLICIT INTEGER (I-N)

DIMENSION CCL(31,31)

DIMENSION DCL(31,31)

DO J=1,31

```

DO I=1,31
DCL(I,J)=(1.7241D0+0.0583D0*CCL(I,J)-4.D-05*(CCL(I,J)**2)*1.D-10
ENDDO
ENDDO
RETURN
END

```

```

SUBROUTINE DIFUNI (CCL,DNI)
IMPLICIT REAL*8(A-H, O-Z)
IMPLICIT INTEGER (I-N)

DIMENSION CCL(31,31)
DIMENSION DNI(31,31)

DO J=1,31
DO I=1,31
DNI(I,J)= (0.0162D0*CCL(I,J)+2.6608D0)*1.D-10
ENDDO
ENDDO
RETURN
END

```

```

SUBROUTINE DIFUNA (CCL,DNA)
IMPLICIT REAL*8(A-H, O-Z)
IMPLICIT INTEGER (I-N)

DIMENSION CCL(31,31)
DIMENSION DNA(31,31)

DO J=1,31
DO I=1,31
DNA(I,J)= (0.0282D0*CCL(I,J)+2.625D0)*1.D-10
ENDDO

```

```

ENDDO
RETURN
END

Subroutine prom (C, A1,A2,B1,B2,C1,C2)
IMPLICIT REAL*8(A-H, O-Z)
IMPLICIT INTEGER (I-N)
COMMON R(31),Z(31),DT, DR, DZ,AK, aux1, aux2, aux3
DIMENSION C(31,31)
A1= 0.D0
A2= 0.D0
B1= 0.D0
B2= 0.D0
C1= 0.D0
C2= 0.D0
! OTRO AUXILIAR: PEPE
PEPE= 2.D0* 3.1415926D0*DR*DZ
! CALCULO A1
DO I=2,13
DO J= 20,30
A1= A1 + C(I,J)*R(I)
ENDDO
ENDDO
DO I=2,13
A1= A1 + (C(I,19)*R(I) + C(I,31)*R(I))/2.D0
ENDDO
DO J=20,30
A1= A1 + (C(1,J)*R(1) + C(14,J)*R(14))/2.D0
ENDDO
A1 = A1+(C(1,19)*R(1)+C(14,19)*R(14)+C(1,31)*R(1)+
1 C(14,31)* R(14))/4.D0
A1 = A1 * PEPE / 1.2743D-05

```

```

! CALCULO A2
DO I=15,30
DO J= 20,30
A2= A2 + C(I,J)*R(I)
ENDDO
ENDDO
DO I=15,30
A2= A2 + (C(I,19)*R(I) + C(I,31)*R(I))/2.D0
ENDDO
DO J=20,30
A2= A2 + (C(14,J)*R(14) + C(31,J)*R(31))/2.D0
ENDDO
A2 = A2+(C(14,19)*R(14)+C(31,19)*R(31)+C(14,31)*R(14)+
1 C(31,31)* R(31))/4.D0
A2 = A2 * PEPE / 5.511610D-05

! CALCULO B1
DO I=2,13
DO J= 8,18
B1= B1 + C(I,J)*R(I)
ENDDO
ENDDO
DO I=2,13
B1= B1 + (C(I,7)*R(I) + C(I,19)*R(I))/2.D0
ENDDO
DO J=8,18
B1= B1 + (C(1,J)*R(1) + C(14,J)*R(14))/2.D0
ENDDO
B1 = B1+(C(1,7)*R(1)+C(1,19)*R(1)+C(14,7)*R(14)+
1 C(14,19)* R(14))/4.D0
B1 = B1 * PEPE / 1.2743D-05

! CALCULO B2

```

```

DO I=15,30
DO J= 8,18
  B2= B2 + C(I,J)*R(I)
ENDDO
ENDDO
DO I=15,30
  B2= B2 + (C(I,19)*R(I) + C(I,7)*R(I))/2.D0
  ENDDO
  DO J=8,18
    B2= B2 + (C(14,J)*R(14) + C(31,J)*R(31))/2.D0
  ENDDO
  B2 = B2+(C(14,19)*R(14)+C(31,19)*R(31)+C(14,7)*R(14)+
1 C(31,7)* R(31))/4.D0
  B2 = B2 * PEPE / 5.511610D-05

! CALCULO C1
DO I=2,13
DO J= 2,6
  C1= C1 + C(I,J)*R(I)
ENDDO
ENDDO
DO I=2,13
  C1= C1 + (C(I,7)*R(I) + C(I,1)*R(I))/2.D0
  ENDDO
  DO J=2,6
    C1= C1 + (C(1,J)*R(1) + C(14,J)*R(14))/2.D0
  ENDDO
  C1 = C1+(C(1,7)*R(1)+C(1,1)*R(1)+C(14,7)*R(14)+
1 C(14,1)* R(14))/4.D0
  C1 = C1 * PEPE / 6.37115D-06

! CALCULO C2
DO I=15,30

```

```
DO J= 2,6
  C2= C2 + C(I,J)*R(I)
ENDDO
ENDDO
DO I=15,30
  C2= C2 + (C(I,1)*R(I) + C(I,7)*R(I))/2.D0
ENDDO
  DO J= 2,6
    C2= C2 + (C(14,J)*R(14) + C(31,J)*R(31))/2.D0
  ENDDO
  C2 = C2+(C(14,1)*R(14)+C(31,1)*R(31)+C(14,7)*R(14)+
1 C(31,7)* R(31))/4.D0
  C2 = C2 * PEPE / 2.755805D-05
RETURN
END
```


Referencias

Akse, L.; Gundersen, B.; Lauritzen, K.; Ofstad, R.; Solberg, T. 1993. Saltfisk: saltmodning, utproving av analysemetoder, misfarget saltfisk. Tromsø, Norway: Fiskeriforskning.

AOAC. 1984. Official methods of analysis of the association of official analytical chemists. Met 24002. Meat and meat products. Sidney Williams editor. 14 th edition. Arlington Virginia USA.

Arnau, J.; Guerrero, L.; Casademont, G.; Gou, P. 1995. Physical and chemical changes in different zones of normal and PSE dry-cured ham during processing. *Food Chemistry*. 52: 63-69.

Barbut, S.; Findlay, C. 1991. Influence of sodium, potassium and magnesium chloride on thermal properties of beef muscle. *Journal of Food Science* 56: 180-182.

Bard, J.; Townsend, W. E. 1976. Carnes curadas en Ciencia de la Carne y de los Productos Cárnicos. Editores Price J y Schweigert B. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. España. Capítulo 10.

Belitz, H. D.; Grosch, W. 1997. Química de los alimentos . 2° edición. Ed. Acribia Zaragoza. España.

Beuchat, L. R. 1987. Influence of water activity on sporulation, germination, outgrowth and toxin production. En *Water activity: Theory and Applications to Food*. Ed. L.B. Rockland, L.R. Beuchat, p.137. Marcel Dekker, new York.

Bodwell, C.; McClain, P. Ed. 1976. Composición química de los tejidos animales en Ciencia de la Carne y de los Productos Cárnicos. Price, J. and Schweigert, B. Editorial Acribia. Zaragoza, España.

Boletín de información porcina. Dirección de ganadería, diciembre de 2005. (www.gagpya.mecon.gov.ar, accedida en enero de 2006)

Borchert, L. ; Cassens, R. 1998. Chemical hazard analysis for sodium nitrite in meat curing. <http://www.ag.ohio-state.edu/~meatsci/borca2.htm>. Accessed May 2, 2001.

Brooks J. , Haines R. B., Moran T. Pace J. 1940. The function of nitrate, nitrite and bacteria in the curing of bacon and hams. Food. Invest. Special report. N 49, London.

Callow, E. H. 1936. Ann. Rep. Food Invest. Board 75 citado en Girard, J.P. 1991. Tecnología de la Carne y de los Productos Cárnicos. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A. .

Carrascosa, A.V., Cornejo, I.; Marín, M.E. 1994. Control de calidad (ARICPC) para jamón serrano español. Eurocarne 24: 31-35.

Cheftel, J.C.; Cuq, J.L.; Lorient, D. 1993. Aminoácidos, Péptidos y Proteínas. In: Química de los alimentos. Fennema O (Director). Zaragoza, España: Editorial Acribia. p 275-414.

Cho, H.Y; Kim, J.B ;Pyun, Y.R. 1988. Diffusion of sodium chloride in Chinese cabbage during salting. Korean Journal Food Science Technology 20:711-716.

Christian, J. H. B. 1981. Specific solute effect on microbial water relations. En *Water Activity: Influences on Food Quality*. Ed. L. B. Rockland, G. F. Stewart, p. 825. Academic Press, New York.

Código Alimentario Argentino 2001/2003. Capítulo 6. Alimentos cárneos y afines Artículo 286.

Crank, J. 1975. *The mathematics of diffusion*. Claredon Press, Oxford. Segunda edición.

Cussler, E. L. 1984. *Mass transfer in fluid systems*, Cambridge University Press.

Dahlquist, G. ; Björck, Ake. 1974. *Numerical Methods*. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs. New Jersey.

Del Valle, F. R., Nickerlson J.T. 1967. Studies on salting and drying fish. Dynamic aspect of the salting of fish. *Journal of Food Science*, 32, 218-224.

Diaz, G.; Wolf, A.; Kostaropoulos, A. ; Spiess, W. 1993. Diffusion of low molecular compounds in food model systems. *Journal of Food Processing and Preservation* 17:437-454.

Djelveh, G.; Gros, J.B. 1988. Measurement of effective diffusivities of ionic and non-ionic solutes through beef and pork muscles using a diffusion cell. *Meat Science* 23: 11-20.

Djelveh, G.; Petit, M.; Gros, J.B. 1988. Influence of sodium chloride concentration, potassium nitrate and temperature on the apparent diffusion

coefficient of chloride ions through agar gels. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie* 21:103-107.

Djelveh, G.; Gros J.; Bories B. 1989. An improvement of the cell diffusion method for rapid determination of diffusion constants in gels on foods. *Journal of Food Science*. 54, 166.

Drusas, A., Vagenas, G.; Saravacos, G.D. 1988. Diffusion of sodium chloride in green olives. *Journal Food Engineering* 7:211-222.

Dussap, C. G.; Gros, J. B. 1980. Diffusion-sorption model for the penetration of salt in pork and beef muscle. In: *Food Process Engineering*. Vol I. Linko, P; Malkii, Y; Olkku, J. y Larinkari, J. (Eds). London: Elsevier Applied Science. 407 p.

Favetto, G. J. y Chirife, J. 1985. Simplified method for the prediction of water activity in binary solutions. *Journal of Food Technology* 20, 631-636.

Favetto G., Chirife J; Bartholomai G. 1981. A study of water activity lowering in meat during immersion-cooking in sodium chloride-glycerol solutions. I. Equilibrium considerations and diffusional analysis of solute uptake. *Journal of Food Technology* 16, 609-619.

Findlay, C. J.; Stanley, D. W.; Gullett, E. A. 1986. Thermomechanical properties of beef muscle. *Meat Science* 22: 57-70.

Foegeding E, Lanier T; Hultin H. 2000. Características de los tejidos musculares comestibles. En *Química de los alimentos*. Fennema O (Director). Zaragoza, España: Editorial Acribia. p 1039-1115.

Fox, J.B. 1980. Diffusion of chloride, nitrite and nitrate in beef and pork. *Journal Food Science* 45: 1740-1744.

Geankoplis, C. J. 1993. *Transport processes and unit operations*. Ed. Prentice Hall PTR. Englewood Cliffs, New Jersey. USA.

Geneser, F. 1990. Tejido muscular en *Histología*. Ed. Panamericana S.A. 2 edición. Capítulo 13.

Girard, J.P. 1991. *Tecnología de la Carne y de los Productos Cárnicos*. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A.

Gou, P. ; Camaposada, J.; Arnau J. 2003. NaCl content and temperature effects on moisture diffusivity in the Gluteus medius muscle of pork ham. *Meat Science* 63, 29-34.

Gou, P., Arnau, J.;Guardia, M.D. 2000. Efecto del tipo de pulido (con corteza o corte en "V") en algunas características sensoriales del jamón curado. II Symposium Internacional del Jamón Curado. Eurocarne, 100-101.

Graiver N., Pinotti A., Califano A. y Zaritzky N. 2005. Diffusion of sodium chloride in meat pork: influence on its microstructure. *The Journal of Scanning Microscopies*. Vol 27, N 2, page 76-77. ISSN 0161-0457.

Graiver N., Pinotti A., Califano A. y Zaritzky N. 2006. Diffusion of Sodium Chloride in Pork Tissue *Journal of Food Engineering*. En prensa 2006.

Grau, R. 1965. *Carne y productos cárnicos*. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. España.

Gros, J. B., Dussap, C.G., González-Méndez, N. 1984. Engineering Sciences in the Food Industry, BM McKenna editors. Engineering and Food. Vol 1, London: Elsevier Applied Science. 287 p.

Harned H. S.; Owen B. B. 1958. The physical chemistry of electrolyte solutions, Reinhold publishing Corp., New York. Tercera edición

Informe de carne porcina. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Pesca y Alimentos de la Nación, N°25 octubre 200 (www.alimentosargentinos.gov.ar, accedida en noviembre de 2005).

Kabara, J.J. y Eklund, T. 1991. Organic acids and esters. En Food Preservatives. Ed. N.J. Russell, G. W. Gould, p. 44. Van Nostrand Reinhold, New York.

Kijowski, J. M.; Mast, M. G. E. 1988 . Effect of sodium chloride and phosphates on the thermal properties of chicken meat proteins. Journal Food Science 53 (2): 367-370, 387.

Knight, P.; Parsons, N. 1988. Action of NaCl and polyphosphates in meat processing: responses of myofibrils to concentrated salt solutions. Meat Science 24: 275-300.

Lawrie, R. A. 1974. Ciencia de la carne. Editorial Acribia. Zaragoza. España.

Lide, D.R. 1997-1998. Handbook of Chemistry and Physics. Edition 78th. Florida: CRC Press.

Lupin, H. M., Boeri, R. L. y Moschiar, S. M. 1981. Water activity and salt content relationship in moist salted fish products. *Journal of Food Technology* 16:31.

Martens, H.; Vold, E. 1976. DSC studies of muscle protein denaturation 22nd Eur. Meet. Meat Res. Work Malmo, J 9.

Moreno, B. 1994. El sistema de análisis de riesgos y control de puntos críticos aplicado a la elaboración del jamón crudo curado. *Cárnica* 2000. Junio 1994. 73-78.

Morrissey, P.; Mulvihill, D.; O'Neill, E. 1987. Functional Properties of Muscle Proteins. In B.J F Hudson editor. *Developments in Food Proteins-5*. London and New York: Elsevier. p 195-256.

Newman, J.S. 1991. *Electrochemical Systems*. Second Edition. New Jersey: Prentice Hall.

Offer, G.; Knight, P. 1988 a. In *Development in meat science*. 4th ed. London: Elsevier. 63 p.

Offer, G.; Trinick, J. 1983. On the mechanism of water holding in meat: the swelling and shrinking of myofibrils. *Meat Science* 8: 245-281.

Olson, D. G. 1987. Basic chemistry of meat en *Proceedings Annual Sausage and Processed meats short course*. Iowa State University. Editado por Rust R. E.

Parsons, N.; Knight, P. 1990. Origin of variable extraction of myosin from myofibrils treated with salt and pyrophosphate. *Journal Science Food Agricultural* 51:71.

Pearson, A., Gillett T. 1996. *Curing en Processed Meats*. Tercera edición. New York. Editorial Chapman & Hall.

Peny J. 1950. *Chemical Engineers Handbook*. New York, Toronto and London. Mc Graw- Hill Book Company, Inc. 3^{era} edición.

Pinotti A., Califano A., Zaritzky N. 2000. Diffusion of curing salts in meat: effect of sodium chloride on tissue microstructure. *Scanning* 22 (2):137-138.

Pinotti A., Graiver N., Califano A., Zaritzky N. 2001. Diffusion of nitrite and nitrate salts in pork tissue in the presence of sodium chloride. *Journal Food Science* 67: 2165-2171.

Price, J.; Schweigert, B. 1976. *Ciencia de la Carne y de los Productos Cárnicos*. Zaragoza, España: Editorial Acribia S.A.

Quinn, J. R.; Raymond, D. P.; Harwalkar, V. R. 1980. Differential scanning calorimetry of meat proteins as affected by processing treatment. *Journal Food Science* 45: 1146-1149.

Ranken, M. D. 1984. Composition of meat: some structural and analytical implications en *Developments in Food Proteins-3*. Editado por Hudson B. J. F. Elsevier Applied Science Publishers London and New York.

Rodger, G.; Hastings, R.; Cryne, C.; Bailey, J. 1984. Diffusion properties of salt and acetic acid into herring and their subsequent effect on the muscle

tissue. *Journal Food Science Technology* 49: 714-720.

Sabadini, E.; Carvalho, Jr B. C., Sobral P. J. do A, Hubinger M D. 1998. Mass transfer and diffusion coefficient determination in the wet and dry salting of meat. *Drying Technology* 16: 2095-2115.

Schwartzberg, H ; Chao, R.Y. 1982. Solute diffusivities in leaching process. *Food Technology*: 36:73-86.

Schwartzberg, H. G. 1980. Continuous counter-current extraction in the food industry. *Chem. Engineering. Progr.*, 76, 67.

Sebranek, J. G. 1987. Muscle characteristics and meat chemistry: basic factors important to processing en *Proceedings Annual Sausage and Processed meats short course*. Iowa State University. Editado por Rust R. E.

Sherwood Anton, Pigford R, Wilk C. 1975. *Mass Transfer*. Mc Grow Hill. Chemical Engineering.

Shibamoto, T.; Bjeldanes, L. 1996. Introducción a la toxicología de alimentos. Capítulo 9. Aditivos alimentarios. Editorial Acribia, S.A: Zaragoza España.

Skoog, D.; Holler, F.; Nieman, T. 2001. Introducción a la química electroanalítica en *Principios de análisis instrumental*. Capítulo 22 pag. 608-672. quinta edición. Editorial McGraw-Hill/Interamericana de España . España

Sofos J N. 1986. Use of phosphates in low-sodium meat products. *Food Technology*: 52-69.

Stabursvik, E.; Fretheim, K.; Froystein, T. 1983. Myosin denaturation in pale, and exudative (PSE) porcine muscle tissue as studied by differential scanning calorimetry. *Journal Science Food Agricultural*: 240-244.

Stabursvik, E.; Martens, H. 1980. Thermal denaturation of proteins in post rigor muscle tissue as studied by differential scanning calorimetry. *Journal Science Food Agricultural*: 31, 1034-1042

Stahl, R.; Loncin, M. 1979. Prediction of diffusion in solid foodstuffs. *Journal Food Proc Pres* 3: 213-223.

Taylor, R; Krishna, R. 1983. *Multicomponent Mass Transfer*. New York: John Wiley & Sons, Inc.

Thorarinsdottir, K. A.; Arason, S.; Geirsdottir, M., Bogason, S.; Kristbergsson, K. 2002. Changes in myofibrillar proteins during processing of salted cod (*Gadus morhua*) as determined by electrophoresis and differential scanning calorimetry. *Food Chemistry* 77: 377-385.

Troller, J.A.1987. Adaptation and growth of micro-organisms in environments with reduced water activity .En *Water activity: Theory and Applications to Food*. Ed. L. B. Rockland, L.R. Beuchat, p.101. Marcel Dekker, New York.

Trout, G. 1988. Techniques for measuring water-binding capacity in muscle foods- a review of methodology. *Meat Science* 23: 235-252.

USDA-FSIS. 1999. Food ingredients and sources of radiation listed or approved for use in the production of meat and poultry products; final rule. Subpart C -424.21. Use of Food Ingredients and sources of radiation. Code of

Federal Regulations, Title 9, Vol. 64, Ch. III, Part. 424, p 72185- 86. Office of Federal Register, National Archives and Records, GSA, Washington, DC.

Varnam, A. ; Sutherland, J. P.1995 Cured meat en Meat and meat products. Technology, Chemistry and Microbiology. Primera Edición Ed. Chapman and Hall.Vol 3. Capítulo 4.

Wang, D.; Tang, J.; Correia, L. 2000. Salt diffusivities and salt diffusion in farmed Atlantic salmon muscle as influenced by rigor mortis. *Journal Food Engineering* 43: 115-123.

Wang, W. C.; Sastry, S. K. 1993. Salt diffusion into vegetable tissue as a pretreatment for ohmic heating: determination of parameters and mathematical model verification. *Journal Food Engineering.*, 20, 311.

Welti, J.; Vergara F. 1997. Actividad de agua. Concepto y aplicación en alimentos con alto contenido de humedad en Temas en tecnología de alimentos, editado por Aguilera J. M. México.

Weiser, H. H.1962. Effect of salt on microorganisms en *Food Microbiology and Technology* . Tercera edición. The Avi Publishing company, Inc. London, England.

Wilke C. R.; Chang P. C. 1955. Correlation of diffusion coefficients in dilute solutions. *AIChE Journal*,1, 264.

Wistreich, H. E. , Morse, R. E. ; Kenyon, L. J. 1959. *Food Technology*, 13, 441.

Wistreich, H. E. , Morse, R. E. ; Kenyon, L. J. 1959. Food Technology., 14, 549.

Wood, F. W. 1966. The Diffusion of Salt in Pork Muscle and Fat Tissue. Journal Science Food Agricultural 17: 138-140.

Wright, D. J.; Leach, I. B.; Wilding, P. 1977. Differential scanning calorimetric studies of muscle and its constituent proteins. Journal Science Food Agricultural 28: 557-564.

Wright, D.; Winding, P. 1984. Differential scanning calorimetric study of muscle and its proteins: myosin and its subfragments. Journal Science Food Agricultural: 357-371.

Xiong, Y. L. 1997. Structure-function relationships of muscle proteins en Food proteins nad their applications. Editado por Sirinivasan Damodaran, Alain Paraf, Marcel Dekker. New York- Hon Kong.

Xiong, Y; Lou, X.; Harmon, R., Wang, C. y Moody, W. 2000. Salt-and pyrophosphate-induced structural changes in myofibrils from chicken red and white muscle. Journal Science Food Agricultural 80: 1176-1182.

Zaritzky, N., Califano, A. 1999. Effective diffusion coefficients of chemical preservatives in food tissue. Trends in Heat, Mass & Momentum Transfer 5: 127-139