



Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Exactas

**“ALTERNATIVAS TECNOLÓGICAS PARA EL
DESARROLLO DE PRODUCTOS CÁRNICOS
EMULSIONADOS SALUDABLES”**

Tesis Doctoral

Autor: Lucas Marchetti

Directora: Dra. Alicia N. Califano

Co-Directora: Dra. Silvina C. Andrés

Lugar de Trabajo: CIDCA. Centro de Investigación y Desarrollo en
Criotecnología de Alimentos. Facultad de Ciencias Exactas.

UNLP-CONICET. Calle 47 y 116 s/nº La Plata (1900) Argentina

Tel/Fax: (0221) 424-9287 / 425-4853.

Año 2014

El presente trabajo de Tesis para optar al título de Doctor en Ciencias Exactas fue realizado en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), CONICET-Facultad de ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata (UNLP), bajo la dirección de la Dra. Alicia N. Califano y la co-dirección de la Dra Silvina C. Andrés.



AGRADECIMIENTOS

Quisiera expresar mi agradecimiento a todas las personas que contribuyeron para que este trabajo pueda ser realizado:

- *A mis directoras, Alicia y Silvina, que me dieron la oportunidad de transitar esta etapa tan importante, me guiaron y acompañaron durante este tiempo y siempre estuvieron presente. Quisiera agradecerles el tiempo, la dedicación y la confianza que depositaron.*
- *A mis viejo Emilio y mi vieja Luján, donde sea que estés y a Blanquita que lo tocó ocupar ese lugar. Por su presencia incondicional, por enseñarme tantas cosas y valores en la vida.*
- *A mi compañera de vida, Laurita, por ser un soporte fundamental, una descarga a tierra muy necesaria, porque me permitió llegar hasta el lugar en el que me encuentro hoy. por su apoyo constante y porque son mi ejemplo en todo*
- *Al CONICET por otorgarme las becas que me permitieron la realización de este trabajo.*
- *A la Facultad de Ciencias Exactas de la UNLP por la formación de grado que me brindó.*
- *Autoridades del CIDCA y todas las personas que trabajan en el instituto por haberme permitido realizar Tesis y utilizar todas las facilidades disponibles. Durante los años transcurridos aquí desarrolle un importante vínculo afectivo con mucha gente, también admiración y respeto por muchos de los profesionales que trabajan aquí.*
- *A mis compañeros de grupo, Natalia, Virginia, Gabriel y Vicky con quienes compartí muchas horas de laboratorio y de escritorio. Con ellos formamos un muy*

buen grupo de trabajo y siempre me brindaron ayuda, consejos, mates y sobre todo mucha comprensión!

- *A mis compañeros de la Cátedra de Química Inorgánica, Carlitos, Lucas, Pedro, el Chino, Luciana, Coqui, Andrés, Mauricio, Patricia y Mario, con quienes comparto una de las vocaciones más lindas como es la docencia.*
- *A mi familia, Coca, Teresa, Pablo, Javier, Emma, Beto, Tomás, Laura, Mariu, Vicky, Marcos, Uma y Amanada, que son una parte fundamental en mi vida y un sostén muy grande.*
- *A mis amigos: por su apoyo incondicional que siempre están, estuvieron y seguirán estando, brindándome cariño y soporte., Damián, Tincho, Facundo, Leandro, Felipe, Gastón, Eliza, Diego, Felipe y Juliana.*

¡A todos mis más sinceros agradecimientos!

ÍNDICE DE CONTENIDOS

| | |
|---|----|
| CAPÍTULO 1: Introducción general | 1 |
| 1.1. Problemática de la dieta occidental actual | 2 |
| 1.1.1. Consumo de carne roja y la salud cardiovascular | 3 |
| 1.1.2. Lípidos y su implicancia en la salud | 4 |
| Ácidos grasos poli-insaturados (AGPI)..... | 6 |
| 1.1.3. Micronutrientes presentes en los alimentos cárnicos | 9 |
| 1.2. Embutidos cárnicos..... | 9 |
| 1.2.1. Materia prima | 11 |
| Estructura del músculo esquelético..... | 11 |
| 1.2.2. Emulsiones cárnicas | 14 |
| 1.2.3. Productos comerciales | 15 |
| 1.3. Reformulación de productos cárnicos | 18 |
| 1.3.1. Antecedentes de la reformulación de productos cárnicos..... | 22 |
| 1.4. La reología como método de estudio de los sistemas alimentarios | 23 |
| 1.4.1. Deformación por esfuerzo de corte o cizalla simple | 25 |
| 1.4.2. Clasificación de un material de acuerdo a su comportamiento reológico..... | 27 |
| 1.4.3. Viscoelasticidad | 28 |
| 1.4.4. Modelos analógicos mecánicos de materiales viscoelásticos..... | 31 |
| | |
| CAPÍTULO 2: Objetivos | 34 |
| 2.1. Objetivo general..... | 35 |
| 2.2. Objetivos específicos | 35 |
| | |
| CAPÍTULO 3: Efecto del agregado de diferentes proteínas no cárnicas o hidrocoloides sobre las propiedades fisicoquímicas, térmicas, reológicas y parámetros de calidad de emulsiones cárnicas magras con aceite de pescado | 37 |
| 3.1. Introducción | 38 |
| 3.1.1. Derivados de celulosa..... | 39 |
| 3.1.2. Goma Xántica | 41 |
| 3.1.3. Goma Garrofín | 42 |
| 3.1.4. Combinación sinérgica de gomas xántica y garrofín | 43 |
| 3.1.5. Carragenanos | 44 |
| 3.1.6. Proteínas de leche | 45 |
| 3.1.6.1. Caseínas..... | 45 |
| 3.1.6.2. Proteínas del suero lácteo..... | 46 |
| 3.1.6.3. Concentrado de proteínas de suero lácteo (WPC) | 46 |
| 3.1.6.4. Concentrado de proteínas totales de leche | 47 |

| | |
|--|----|
| 3.1.7. Clara de huevo en polvo | 47 |
| 3.2. Objetivos específicos del Capítulo | 48 |
| 3.3. Materiales y Métodos | 49 |
| 3.3.1. Materiales | 49 |
| 3.3.2. Elaboración | 51 |
| 3.3.3. Composición proximal y valor nutricional | 53 |
| 3.3.3.1. Determinación de humedad | 53 |
| 3.3.3.2. Determinación de proteínas | 53 |
| 3.3.3.3. Determinación del contenido de lípidos | 54 |
| 3.3.3.4. Cenizas totales..... | 54 |
| 3.3.3.5. Valor Energético..... | 54 |
| 3.3.4. Determinación de parámetros de calidad | 55 |
| 3.3.4.1. Rendimiento | 55 |
| 3.3.4.2. Pérdidas por centrifugación..... | 55 |
| 3.3.4.3. Análisis de Perfil de Textura (TPA)..... | 56 |
| 3.3.4.4. Color | 57 |
| 3.3.5. Ensayos reológicos | 58 |
| 3.3.5.1. Ensayos oscilatorios isotérmicos..... | 59 |
| a) Preparación de los especímenes | 59 |
| b) Determinación del rango de viscoelasticidad lineal | 60 |
| c) Ensayos oscilatorios de barrido de frecuencia | 60 |
| 3.3.5.2. Ensayos termo-reológicos..... | 60 |
| a) Determinación del rango de viscoelasticidad lineal | 60 |
| b) Ensayos con barrido de temperatura | 60 |
| 3.3.6. Calorimetría diferencial de barrido modulada | 61 |
| 3.3.7. Análisis estadístico..... | 62 |
| 3.4. Resultados y Discusión..... | 63 |
| 3.4.1. Composición proximal..... | 63 |
| 3.4.2. Parámetros de calidad | 64 |
| 3.4.2.1. Color | 65 |
| 3.4.2.2. Textura..... | 66 |
| 3.4.2.3. Rendimiento y pérdida por centrifugación | 68 |
| 3.4.3. Análisis de la interacción matriz cárnica-agua por calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC)..... | 73 |
| 3.4.4. Efecto del tratamiento térmico sobre los sistemas estudiados | 76 |
| a) Desnaturalización proteica..... | 76 |
| b) Transición vítrea del sistema | 80 |
| c) Comportamiento reológico durante el tratamiento térmico | 82 |
| 3.4.5. Caracterización reológica de las distintas emulsiones cárnicas cocidas estudiadas..... | 89 |
| 3.4.6. Modelado matemático de los datos reológicos..... | 91 |

| | |
|---|-----|
| 3.5. Conclusiones del Capítulo | 98 |
| CAPÍTULO 4: Optimización del contenido de proteínas no cárnicas e hidrocoloides en la formulación de geles cárnicos saludables | 100 |
| 4.1. Introducción | 101 |
| 4.1.1. Interacciones entre proteínas no cárnicas e hidrocoloides en sistemas modelo | 101 |
| 4.1.2. Interacciones entre proteínas no cárnicas e hidrocoloides en sistemas cárnicos..... | 103 |
| 4.2. Objetivos específicos del Capítulo | 105 |
| 4.3. Materiales y Métodos | 106 |
| 4.3.1. Materiales | 106 |
| 4.3.2. Evaluación de combinaciones hidrocoloide-proteína en sistemas modelo . | 106 |
| 4.3.2.1. Evaluación de la capacidad de formación de gel..... | 107 |
| 4.3.2.2. Textura de geles | 107 |
| 4.3.3. Optimización de la formulación de productos cárnicos emulsionados saludables utilizando metodología de superficie de respuesta | 107 |
| 4.3.3.1. Diseño experimental empleado | 108 |
| 4.3.3.2. Elaboración de los productos | 109 |
| 4.3.3.3. Determinación de los parámetros de calidad..... | 110 |
| 4.3.4. Estimación de las superficies de respuesta..... | 110 |
| 4.3.5. Metodología de optimización..... | 111 |
| 4.4. Resultados y Discusión..... | 113 |
| 4.4.1. Formación de geles mixtos y selección del par proteína-hidrocoloide a incorporar en la emulsión cárnica..... | 113 |
| 4.4.2. Optimización de la proporción carragenanos:proteínas de leche para la obtención de emulsiones cárnicas magras con aceite de pescado..... | 118 |
| 4.4.2.1. Propiedades de interacción con agua de la matriz-agua | 119 |
| 4.4.3. Textura de los productos..... | 122 |
| 4.4.4. Optimización de la formulación | 125 |
| 4.4.5. Validación del modelo | 126 |
| 4.5. Conclusiones del Capítulo | 127 |

CAPÍTULO 5: Efecto del almacenamiento sobre parámetros de calidad fisicoquímicos, microbiológicos y oxidativos de geles cárnicos emulsionados con aceite de pescado y fitoesteroles

| | |
|---|-----|
| 5.1. Introducción | 129 |
| 5.1.1. Estabilidad de productos cárnicos enriquecidos en lípidos insaturados..... | 129 |
| 5.1.1.1. Proceso de oxidación | 129 |
| 5.1.1.2. Mecanismo de auto-oxidación lipídica..... | 130 |
| 5.1.1.3. Antioxidantes utilizados en alimentos y su mecanismo de acción | 131 |
| 5.1.1.3.1. Antioxidantes sintéticos | 132 |
| 5.1.1.3.1. Antioxidantes naturales | 133 |

| | |
|--|------------|
| Tocoferoles | 133 |
| 5.1.2. Alternativas para mejorar la calidad nutricional del producto | 135 |
| Fitoesteroles | 135 |
| 5.1.3. Calidad durante el almacenamiento | 137 |
| 5.2. Objetivos específicos del Capítulo | 138 |
| 5.3. Materiales y Métodos | 138 |
| 5.3.1. Materiales | 138 |
| 5.3.2. Diseño experimental | 139 |
| 5.3.3. Elaboración de los productos | 140 |
| 5.3.4. Almacenamiento de los productos | 140 |
| 5.3.5. Parámetros de calidad durante el almacenamiento | 141 |
| 5.3.5.1. Exudado | 141 |
| 5.3.5.2. Análisis de perfil de textura | 141 |
| 5.3.5.2. Color | 141 |
| 5.3.5.3. Determinación de pH | 141 |
| 5.3.5.4. Ensayos microbiológicos | 142 |
| 5.3.5.4.1. Recuentos microbianos | 142 |
| 5.3.5.4.2. Calidad sanitaria | 142 |
| 5.3.5.5. Oxidación lipídica | 143 |
| 5.3.5.6. Determinación del perfil de ácidos grasos | 144 |
| 5.3.5.6.1. Extracción de la fase lipídica | 144 |
| 5.3.5.6.2. Perfil de ácidos grasos | 145 |
| 5.3.5.7. Análisis estadístico | 145 |
| 5.4. Resultados y Discusión | 146 |
| 5.4.1. Exudado | 146 |
| 5.4.2. Perfil de textura | 147 |
| 5.4.3. Color | 149 |
| 5.4.4. Ensayos microbiológicos | 150 |
| 5.4.4.1. Recuentos microbianos y pH | 150 |
| 5.4.4.2. Evaluación de la calidad sanitaria | 154 |
| 5.4.5. Estabilidad lipídica | 155 |
| 5.4.5.1. Ensayo de estabilidad oxidativa | 155 |
| 5.4.5.2. Análisis del perfil de ácidos grasos | 158 |
| 5.4.5.3. Evaluación del perfil lipídico y su impacto en la salud | 161 |
| 5.5. Conclusiones del Capítulo | 163 |
| | |
| CAPÍTULO 6: Desarrollo de geles emulsionados cárnicos magros con aceite de pescado y fitoesteroles, y contenido de sodio reducido | 164 |
| 6.1. Introducción | 165 |
| 6.1.1. Funcionalidad de las sales en los productos cárnicos | 165 |
| 6.1.2. Consumo de sodio y sus efectos adversos en la salud | 168 |

| | |
|---|------------|
| 6.1.3. Alternativas para reducir el contenido de sodio en productos cárnicos..... | 170 |
| 6.2. Objetivos específicos del Capítulo | 172 |
| 6.3. Materiales y Métodos | 172 |
| 6.3.1. Diseño Experimental | 172 |
| 6.3.1.1. Diseño de mezclas | 173 |
| 6.3.1.2. Región de operabilidad y restricciones aplicadas | 173 |
| 6.3.2. Elaboración de los productos | 176 |
| 6.3.3. Caracterización y determinación de los parámetros de calidad de los productos reducidos en sodio | 176 |
| 6.3.3.1. Ensayos termo-reológicos | 176 |
| a) Determinación del rango de viscoelasticidad lineal | 176 |
| b) Ensayos oscilatorios con barridos de temperatura | 176 |
| 6.3.3.2. Observación de la estructura por microscopía..... | 177 |
| 6.3.3.3. Cuantificación de sodio y potasio por fotometría de llama | 178 |
| 6.3.3.4. Ensayo de aceptabilidad por consumidores de las formulaciones optimizadas | 179 |
| 6.3.4. Obtención de superficies de respuesta en experimentos con mezclas..... | 180 |
| 6.3.5. Optimización | 181 |
| 6.3.6. Metodología y herramientas estadísticas empleadas | 181 |
| 6.4. Resultados y Discusión | 181 |
| 6.4.1. Efecto del reemplazo de sodio sobre las propiedades fisicoquímicas de las pastas crudas..... | 181 |
| 6.4.1.1. Efecto de la interacción matriz-agua | 181 |
| 6.4.1.2. Caracterización termo-reológica de los sistemas | 185 |
| 6.4.2. Efecto de la sustitución de NaCl sobre parámetros de calidad del producto..... | 191 |
| 6.4.2.1. Rendimiento | 191 |
| 6.4.2.2. Efecto del reemplazo de NaCl sobre la textura..... | 193 |
| 6.4.2.3. Efecto del reemplazo de NaCl sobre el color..... | 196 |
| 6.4.3. Optimización de la formulación reducida en sodio..... | 200 |
| 6.4.4. Validación del modelo | 201 |
| 6.4.5. Estudios complementarios sobre la formulación optimizada | 202 |
| 6.4.5.1. Microestructura | 202 |
| 6.4.5.2. Cuantificación de sodio y potasio en los productos | 207 |
| 6.4.5.3. Ensayo de aceptabilidad por consumidores | 209 |
| 6.5. Conclusiones del Capítulo | 210 |
| | |
| CAPÍTULO 7: Efecto del reemplazo de sodio sobre el almacenamiento de geles cárnicos emulsionados con aceite de pescado y fitoesteroles | 212 |
| 7.1. Introducción | 213 |
| 7.1.1. Función del NaCl en productos cárnicos almacenados | 213 |

| | |
|--|------------|
| 7.1.2. Efecto del reemplazo o reducción de NaCl en productos cárnicos almacenados..... | 213 |
| 7.1.3. Mecanismo de auto-oxidación..... | 214 |
| 7.2. Objetivos específicos del Capítulo | 215 |
| 7.3. Materiales y Métodos..... | 215 |
| 7.3.1. Materiales | 215 |
| 7.3.2. Diseño experimental | 215 |
| 7.3.3. Elaboración de los productos | 217 |
| 7.3.4. Almacenamiento | 217 |
| 7.3.5. Parámetros evaluados durante el almacenamiento..... | 217 |
| 7.3.5.1. Determinación del perfil de ácidos grasos | 217 |
| 7.3.5.2. Análisis estadístico..... | 218 |
| 7.4. Resultados y Discusión..... | 218 |
| 7.4.1. Exudado..... | 218 |
| 7.4.2. Perfil de textura..... | 220 |
| 7.4.3. Color | 223 |
| 7.4.4. Ensayos microbiológicos..... | 224 |
| 7.4.4.1. Recuentos microbianos..... | 224 |
| 7.4.4.2. Evaluación del pH de los productos almacenados | 225 |
| 7.4.4.3. Calidad sanitaria | 227 |
| 7.4.5. Estabilidad lipídica | 227 |
| 7.4.5.1. Estabilidad oxidativa..... | 227 |
| 7.4.5.2. Perfil de ácidos grasos de los productos | 229 |
| 7.4.6. Composición y análisis nutricional de los productos..... | 232 |
| 7.5. Conclusiones del Capítulo | 234 |
| CAPÍTULO 8: Conclusiones generales y publicaciones realizadas | 236 |
| Conclusiones Generales | 237 |
| Publicaciones realizadas..... | 239 |
| Referencias bibliográficas | 241 |

RESUMEN

El presente trabajo de **Tesis** está orientado a desarrollar estrategias de producción que permitan elaborar geles emulsionados cárnicos destinados a mejorar la salud del consumidor maximizando los atributos de calidad, de manera tal que puedan ser producidos y comercializados exitosamente por la industria alimentaria.

Se desarrollaron y caracterizaron productos cárnicos emulsionados saludables como alternativas a las salchichas tradicionales disponibles en el mercado, mediante el empleo de carne magra vacuna. Para esto, se reemplazó parcialmente la fase lipídica por aceite de pescado para lograr un perfil de ácidos grasos saludable y un contenido lipídico del orden del 5%. Esta incorporación se logró pre-emulsificando el aceite en agua con distintos tipos de proteínas no cárnicas o hidrocoloideos para mejorar su estabilidad.

En una segunda etapa, y en base a los resultados anteriores, se seleccionó una combinación de una proteína no cárnica y un hidrocoloide y se optimizaron los niveles de los mismos con el criterio de obtener un producto con parámetros de calidad similares a uno tradicional, con altos niveles de sal y grasa. Luego de la optimización, se almacenaron bajo vacío refrigerado y se evaluó su calidad fisicoquímica, microbiológica, y el efecto del agregado de distintos antioxidantes (tocoferoles y BHA) sobre la estabilidad lipídica.

Asimismo, se buscó reducir el contenido de sodio del producto mediante un diseño de mezclas para lograr el reemplazo parcial de NaCl por KCl y fosfatos. Se caracterizaron los productos obtenidos evaluando parámetros fisicoquímicos, reológicos, térmicos, termoreológicos, microestructurales y sensoriales. Finalmente se realizó un segundo ensayo de almacenamiento para asegurar la calidad de los productos optimizados reducidos en sodio, evaluando el efecto del agregado de antioxidantes naturales.

Este trabajo fue ordenado en capítulos:

Capítulo 1: Correspondiente a la Introducción general, donde se describen aspectos vinculados a problemas relacionados con el consumo de productos cárnicos procesados. Se desarrollan temas relacionados con los embutidos cárnicos, su materia prima y los productos comerciales. Se abordan las dificultades tecnológicas y algunos antecedentes relacionados con la modificación de las formulaciones de dichos productos. Finalmente en la introducción se abordan aspectos básicos de reología.

Capítulo 2: Corresponde a los objetivos generales y específicos de este trabajo de Tesis.

Capítulo 3: En este capítulo se evaluó el efecto del agregado de 1% proteínas no cárnicas o hidrocoloideos. Los controles consistieron en dos formulaciones sin aditivos, uno con 5% de grasa vacuna y otro con 5% de aceite de pescado.

Se caracterizaron las propiedades fisicoquímicas de los productos obtenidos. Se determinó la composición de las diferentes formulaciones, rendimiento en cocción (RC), pérdidas por centrifugación (PC), análisis de perfil de textura (TPA), color mediante el espacio cromático CIELab.

Se realizó un análisis de perfil de textura sobre cilindros tomados del centro de salchichas, evaluando dureza, elasticidad cohesividad, masticabilidad, adhesividad y resiliencia. A su vez se realizaron ensayos oscilatorios dinámicos, evaluándose para cada formulación el rango de viscoelasticidad lineal, para luego realizar barridos de frecuencia dentro del mismo. El comportamiento viscoelástico del sistema se modeló matemáticamente para predecir el espectro mecánico de relajación en el rango de viscoelasticidad lineal, la cual permitió estimar

el valor del módulo plateau G_0^N que fue relacionado con la dureza. Finalmente se realizaron ensayos termoreológicos y calorimetría diferencial de barrido (DSC). Se vincularon los resultados obtenidos mediante estas dos metodologías. Se determinaron: la entalpía de congelamiento del agua, en la zona de -20 a 8°C, el agua no congelada porcentual para cada muestra, la entalpía de desnaturalización y las temperaturas de pico (TI y TII). Por último se vincularon los parámetros texturales, reológicos y calorimétricos.

Capítulo 4: Con los resultados obtenidos y los reportados por bibliografía se seleccionaron los pares hidrocoloides-proteínas no cárnicas, obteniéndose geles con distintas relaciones entre los niveles de las macromoléculas, para algunos pares. Mediante ensayos de punción se observaron las mayores resistencias a la ruptura para la combinación carragenanos-proteínas de leche. Esta combinación fue entonces seleccionada para su incorporación en salchichas y su estudio mediante metodología de superficie de respuesta (MSR). Se utilizó un diseño central compuesto rotatable con triplicados en el centro con los niveles de carragenanos y proteínas de leche como variables. Los productos fueron caracterizados mediante la determinación el RC, PC y TPA obteniendo las respectivas superficies de respuesta. Posteriormente se realizó una optimización multivariable para encontrar la formulación óptima, utilizando el criterio de “función objetivo”. Se calcularon las funciones conveniencia para cada una de las variables estudiadas, y posteriormente se calculó la media geométrica de los valores de conveniencia individuales, utilizando los valores de dureza y elasticidad correspondientes a un producto comercial como objetivo, minimizando las PC y maximizando el RC. Mediante la MSR se pudo encontrar una combinación óptima de carragenanos y proteínas de leche que permitió obtener un producto cárnico emulsionado con propiedades fisicoquímicas adecuadas.

Capítulo 5: Consistió en la evaluación de la incorporación de antioxidantes naturales (tocoferoles) y/o artificiales (BHA) sobre la estabilidad a la oxidación (método TBARS). También se evaluó la incorporación de fitoesteroles de manera de lograr un 20% de la ingesta recomendada. Se realizaron ensayos de almacenamiento refrigerado bajo vacío en películas de baja permeabilidad gaseosa, monitoreando los principales parámetros de calidad (color, textura, pérdida de peso, oxidación lipídica, desarrollo microbiano, análisis sensorial) obteniendo valores aceptables para este tipo de productos. Sobre fases grasas extraídas de los productos (método de Folch) se determinó el perfil de ácidos grasos de los productos observándose pequeñas alteraciones en el perfil lipídico.

Capítulo 6: Se estudió el remplazo parcial de sales de sodio por potasio y tripolifosfato empleando un diseño de mezclas. Se modelaron las respuestas, obteniendo las diferentes curvas de nivel para las propiedades fisicoquímicas, texturales y de calorimetría diferencial de barrido. A su vez se estudió el comportamiento termo-reológico. Se halló la formulación óptima reducida en sodio, la cual fue empleada para el análisis de su microestructura y analizar el efecto del reemplazo de sodio en la matriz. Además se cuantificaron los niveles de sodio en el producto y se realizó una evaluación sensorial de los productos, mostrando pocas diferencias y resultados aceptables por los consumidores.

Capítulo 7: Consistió en la evaluación de la estabilidad lipídica, microbiológica y de calidad fisicoquímica y sensorial de la formulación con un contenido de sodio reducido durante su almacenamiento bajo vacío a 4°C estudiando el agregado de distintos niveles de tocoferoles. Sobre fases grasas extraídas de los productos (método de Folch) se determinó el perfil de ácidos grasos de los productos con un contenido de sodio reducido con y sin antioxidante para estudiar el efecto de la inclusión del mismo. Por último se encuadraron los productos obtenidos en las normas de información nutricional complementaria vigente.

Capítulo 8: Comprende las conclusiones generales tomando en cuenta los resultados presentados en los Capítulos anteriores. A su vez se indican los trabajos publicados que surgieron del desarrollo del trabajo de **Tesis**. Finalmente se lista la Bibliografía citada.

CAPÍTULO 1

Introducción general

1.1. Problemática de la dieta occidental actual

La dieta occidental responde a las costumbres alimenticias de la población de América. Esta dieta está constituida por alimentos altamente procesados, elevados niveles de carne vacuna y porcina, alimentos fritos y sal. A su vez incluye importantes cantidades de alimentos farináceos altamente refinados. La dieta de una población es un factor clave para el control y desarrollo de enfermedades crónicas, dentro de las cuales se puede mencionar algunos tipos de cáncer, diabetes enfermedades cardiovasculares y otras (Buzina y col., 1991; Halliwell, 1997; Satia-Abouta y col., 2002).

Las enfermedades cardiovasculares representan la principal causa de muerte en todo el mundo. En el año 2011 provocaron la muerte de cerca de 17 millones de personas, lo que representa a 3 de cada 10 muertes. De estas, 7 millones de personas murieron de cardiopatías isquémicas y 6.2 millones de derrame cerebral (OMS, 2013). Las cardiopatías isquémicas, entre otras enfermedades, han permanecido entre las principales causas de muerte durante la década 2001-2011.

Argentina no es ajena a esta problemática ya que las enfermedades del sistema circulatorio son la primera causa de muerte provocando el 30% del total de las defunciones anuales en el 2012 (Ministerio de Salud, 2013).

Se estima que en el año 2008, en nuestro país se perdieron 80 años potenciales de vida por muerte prematura debido a enfermedades cardio y cerebro vasculares cada 10000 habitantes (Ministerio de Salud, 2010) y en una Encuesta Nacional de Factores de Riesgo (INDEC, 2005) se estableció que entre el 34.5% y el 27.8% de los mayores de 18 años se detectó hipertensión arterial e hipercolesterolemia, respectivamente.

En la actualidad la prevalencia de enfermedades no transmisibles (obesidad, hipertensión arterial, diabetes, enfermedades cardiovasculares, entre otras) señala una fuerte tendencia epidemiológica que crece tanto en países desarrollados como en países en desarrollo. Es por ello que la Organización Mundial de la Salud, entre sus recomendaciones, incluye limitar la ingesta energética procedente de las grasas, sustituir las grasas saturadas por grasas insaturadas y tratar de eliminar los ácidos grasos trans, así como limitar la ingesta de sal (sodio) de toda procedencia (OMS, 2004, 2008; European Commission, 2012).

Más preocupante aún, es el aumento de la obesidad infantil; así, en EE.UU. el 16.9% de los niños y adolescentes son obesos (IOM, 2012), mientras que nuestro país lidera los porcentajes de obesidad en niños menores de 5 años en América Latina, con un 7.3% de prevalencia (FAO, 2010) y en un estudio de la Sociedad Argentina de Pediatría se detectó que 20.8% de los niños de 10 a 19 años presentaban sobrepeso y 5.4% obesidad (Kovalskys y col., 2003). Sobre la base de datos de anatomía patológica se conoce que el

proceso aterosclerótico se inicia en la infancia y el grado de extensión de las lesiones en niños y adultos jóvenes se correlaciona con la presencia de los mismos factores de riesgo identificados en adultos. Debido a la precocidad con que se presentan las lesiones, así como por el hecho de que muchos de los hábitos se establecen en la infancia y primeros años de vida, las acciones tendientes a evitar el establecimiento de los riesgos en la infancia y adolescencia son fundamentales en la reducción de este grupo de enfermedades. Parece entonces razonable iniciar estilos de vida saludables en la infancia con el fin de mejorar el estado de salud en la vida adulta (Sociedad Argentina de Pediatría, 2005).

1.1.1. Consumo de carne roja y la salud cardiovascular

Las carnes rojas son una importante fuente de ácidos grasos saturados, además en su preparación y/o procesamiento se suelen emplear elevados niveles de sal (NaCl). Un reciente estudio indica que el consumo de grasas saturadas no está asociado a un mayor riesgo de enfermedades del corazón (estimación combinada del riesgo relativo = 1.07 entre los cuartiles de admisión) (Siri-Tarino y col., 2010). Por otro lado Hoenselaar (2012) describe que los diversos comités asesores, a través de diferentes metodologías, a menudo excluyen pruebas válidas e ignoran las variables de los resultados lo cual resulta clave a la hora de examinar la asociación entre la ingesta de grasas saturadas y las enfermedades cardiovasculares. De esta manera, muchas de las conclusiones y recomendaciones actuales no reflejan la evidencia disponible. Es importante destacar que, el consumo de ácidos grasos trans, una dieta con un índice glucémico elevado, y un alto consumo de sal son factores de riesgo más importantes para enfermedades cardiovasculares que los ácidos grasos saturados (Danaei y col., 2009). El mayor contenido de sodio de alimentos cárnicos procesados respecto a los cortes frescos puede explicar las observaciones recientes que muestran un mayor riesgo de contraer enfermedades cardiovasculares por consumo de alimentos cárnicos procesados (Micha y col., 2010).

Wagemakers y col. (2009), en Inglaterra, no encontraron ninguna asociación entre el consumo de carne roja (vaca, cordero, cerdo, combinación de vaca y cordero) o carne procesada (jamón, tocino, salchichas, cortes de carne procesados y carne picada procesada) con el nivel de colesterol sérico y la presión arterial. Sin embargo en este estudio se demostró que la combinación de los dos factores (carne roja y procesamiento) está asociada a una mayor presión arterial en los hombres. Del mismo modo, Pitsavos y col. (2006) no lograron mostrar un efecto positivo entre la ingesta de carne roja y el

aumento de la presión arterial en un estudio realizado en Grecia con el diagnóstico autoinformado de la hipertensión arterial.

Por el contrario, utilizando los datos de más de 28000 mujeres, Wang y col. (2008) mostraron un aumento del riesgo de hipertensión asociado al mayor consumo de carne roja (fresca y procesada). Miura y col. (2004) mostraron resultados similares en un grupo más pequeño de personas, comparando terciles de ingesta y los cambios en la presión sanguínea. No hay estudios de intervención dietética que muestren la contribución individual de la carne roja a la presión arterial, lo que indica la necesidad de llenar este vacío en la investigación para poder comprender su impacto sobre la salud (McNeill y Van Elswyk, 2012). El Instituto de Medicina de la Academia Nacional de Ciencia de EE.UU. (IOM, 2012) incluye entre sus recomendaciones que se provea a la población de opciones de alimentos y bebidas más saludables, especialmente en lo referente a “comidas rápidas” (fast foods) y colaciones (snacks) preferidas por los consumidores infantiles. Dentro de estos grupos se destacan las salchichas debido a su rápida y fácil preparación y su amplia aceptación.

Esto plantea nuevos desafíos para producir alimentos de consumo masivo pero con alternativas más sanas utilizando ingredientes beneficiosos para la salud.

1.1.2. Lípidos y su implicancia en la salud

La grasa de la carne vacuna y porcina es una fuente importante de ácidos grasos saturados y monoinsaturados (AGS y AGMI) y presenta una escasa cantidad de ácidos grasos poli-insaturados (AGPI) como se indica en la Figura 1.1.

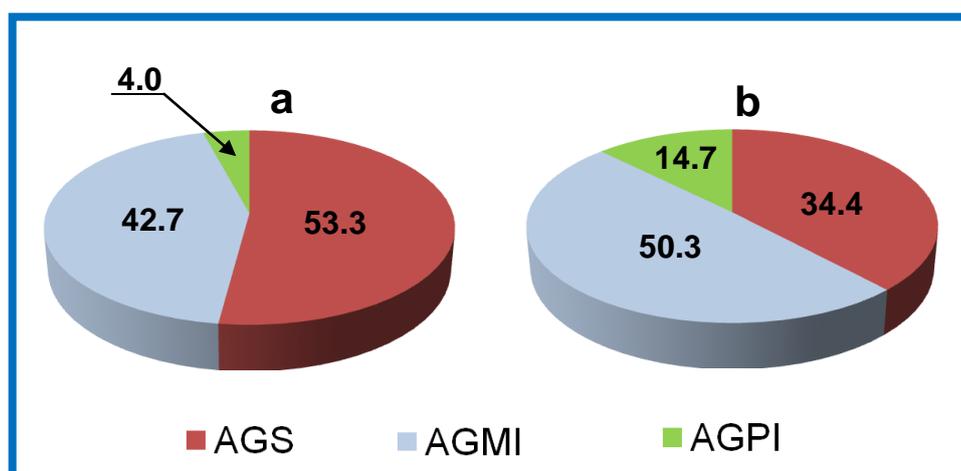


Figura 1.1. Composición aproximada de ácidos grasos de carne a) vacuna y b) porcina
(Fuente: Orellana y col., 2009 y García, 2009)

En las células de tejido muscular, los lípidos se encuentran bajo la forma de triacilgliceroles y fosfolípidos. La mayor proporción de fosfolípidos se encuentra en la membrana plasmática. Sin embargo el perfil de los lípidos varía cuanti y cualitativamente con el nivel de dieta, especie animal, tipo de músculo y fibras (Wagner y Añón, 1986).

La grasa presente en la carne se puede encontrar como grasa intermuscular, subcutánea o intramuscular. Esta última se ubica entre las fibras musculares y es la única que no puede ser eliminada mecánicamente mediante métodos sencillos.

Este perfil de AG dista mucho del requerido para una buena alimentación, por lo que su excesivo consumo constituye un factor de riesgo para el desarrollo de enfermedades coronarias y vasculares (Muchenje y col., 2009). Consecuentemente, sería deseable incrementar los niveles de AGPI en la dieta, tal como aconseja la OMS (2008), debido a que su consumo está asociado a múltiples beneficios en la salud.

La mejor forma de aumentar el aporte de AGPI n-3 a la dieta es a través del consumo de mayores cantidades de pescados y mariscos (ricos en ácido eicosapentanoico o EPA y docosahexanoico o DHA), y aceites y semillas (ricas en ácido α -linolénico o ALA) como lino, canola y soja, haciendo posible así balancear los ácidos grasos del organismo.

Pero, la resistencia de la población a los cambios de hábitos en la dieta sugiere que hay un mercado posible de alimentos frecuentemente consumidos, como los alimentos cárnicos procesados, que podrían ser reformulados para incorporarles ingredientes más beneficiosos para la salud y/o reducir la cantidad de los componentes que resultan en exceso considerando la dieta occidental.

Durante la última década, los requerimientos de los consumidores en el campo de la producción de alimentos han cambiado sustancialmente. Los consumidores cada vez más consideran que la alimentación contribuye directamente a su salud. De este modo, se tienen en cuenta a los alimentos que no sólo satisfagan el hambre y que provean los nutrientes necesarios, sino que además y especialmente prevengan enfermedades relacionadas con la nutrición y que mejoren el bienestar físico y mental. Recientemente, el término “alimento funcional”, en este caso particular, “carne funcional”, hace referencia a la carne modificada por el agregado de ingredientes considerados beneficiosos para la salud o por eliminación o reducción de componentes que son considerados perjudiciales (Bigliardia y Galatib, 2013).

Existen distintas alternativas tecnológicas para mejorar la calidad nutricional de la fracción lipídica de las distintas categorías de productos cárnicos procesados. Puede reemplazarse total o parcialmente la fuente de AG por una más saludable, también puede reducirse el nivel de grasa/lípidos empleados en la formulación. Por último, también es posible alterar la dieta de los bovinos y porcinos incorporando un mayor nivel de AGPI en

la misma, mejorando el perfil lipídico de la carne (Lanari, 1994; Jiménez-Colmenero y col., 2001; Yang y col., 2002, Serrano y col., 2005; López-López y col., 2009; Youssef y Barbut, 2011; Brewer, 2012).

Ácidos grasos poli-insaturados (AGPI)

Los ácidos grasos poli-insaturados n-3 (AGPI) se reconocen como constituyentes esenciales para el crecimiento y desarrollo normal de los animales. Este grupo de ácidos grasos incluye el ácido α -linolénico (ALA, 18:3 n-3), ácido eicosapentaenoico (EPA, 20:5 n-3), ácido docosapentaenoico (DPA, 22:5 n-3) y ácido docosahexaenoico (DHA, 22:6 n-3) representados en la Figura 1.2.

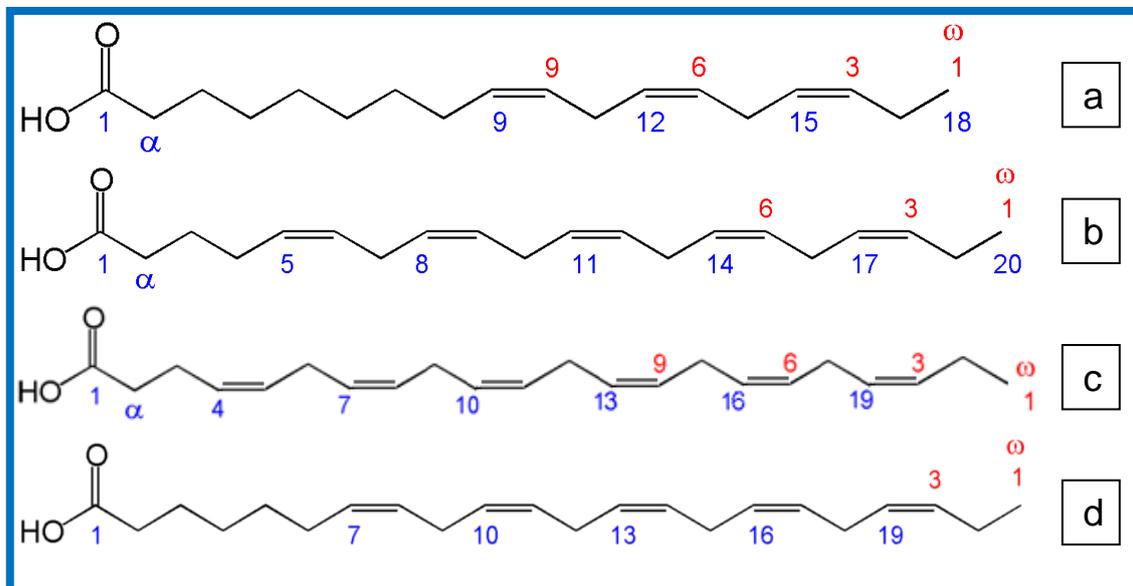


Figura 1.2. Principales ácidos grasos poli-insaturados n-3 (AGPI n-3)

a) ALA; b) EPA y c) DHA y d) DPA.

Los ácidos grasos n-3 están implicados en la expresión de genes (como segundos mensajeros) y en señales de transducción de las vías para regular la transcripción de genes específicos (Clarke y Jump, 1994; Graber, y col., 1994). Los ácidos grasos n-3 tales como el DHA también pueden participar en el crecimiento del cerebro e hígado durante la etapa de desarrollo (Martinez y Ballabriga, 1987) y juegan un papel importante en la prevención y tratamiento de diversos tipos de enfermedades.

Diversos estudios han demostrado que los ácidos grasos n-3 pueden retrasar la aparición de un tumor, inhibir la tasa de crecimiento y disminuir el tamaño y número de tumores (Funahashi y col., 2006; Kim y col., 2009). Se ha demostrado que el consumo regular de productos de cerdo enriquecidos con AGPI n-3 puede disminuir el contenido de

triglicéridos en suero y aumentar la producción de tromboxano sérico, y por lo tanto reducir las enfermedades cardiovasculares (Coates y col., 2009).

Los AGPI n-3 están posiblemente involucrados en la regulación de trastornos inflamatorios crónicos por la disminución de la producción de eicosanoides inflamatorios, citoquinas y especies reactivas de oxígeno, y la inhibición de la expresión de moléculas de adhesión (Calder, 2006).

Altos niveles de AGPI n-3 de cadena larga en la dieta mostraron estar asociados al desarrollo del sistema nervioso central (SNC), mientras que un defecto de éstos se relaciona con algunos trastornos neurológicos (Asís, 2006). También se estudiaron suplementos dietarios con aceite de pescado, observando una reducción de la presión arterial e inhibición de la hipertensión (Appel y col., 1993). El DHA es importante en la estructura y desarrollo cerebral del feto. El 65% de los lípidos del cerebro son poli-insaturados y de éstos, más del 85% corresponden a DHA (35 - 40%) y ácido araquidónico (40 - 50%) (Valenzuela y Nieto, 2001). El ácido araquidónico está presente además en todos los tejidos mientras que el DHA se encuentra en el tejido nervioso, visual y reproductivo (Clandinin, 1999). Es importante en los bebés, lactantes y niños la incorporación de DHA a partir de la dieta, ya que su insuficiencia puede causar efectos irreversibles en el aprendizaje y la habilidad de memorizar (Sanhueza y col., 2004). El ácido α -linolénico (ALA) es esencial puesto que no es sintetizado por el organismo y debe obtenerse a través de la dieta. El EPA y DHA pueden sintetizarse por el organismo a partir del ALA de la dieta (Figura 1.3) pero normalmente en una cantidad insuficiente a partir de los cinco años de edad.

Por ello, algunos expertos sugieren que es recomendable incluir EPA y DHA dentro de los AG esenciales e incluirlos en la dieta. Los niveles recomendados de ingesta para EPA y DHA oscilan entre 160 mg/día y 1.6 g/día (Meyer y col., 2003). Sin embargo, la dieta occidental típica brinda sólo alrededor de no más de 150 mg/día, siendo similar en América y Europa.

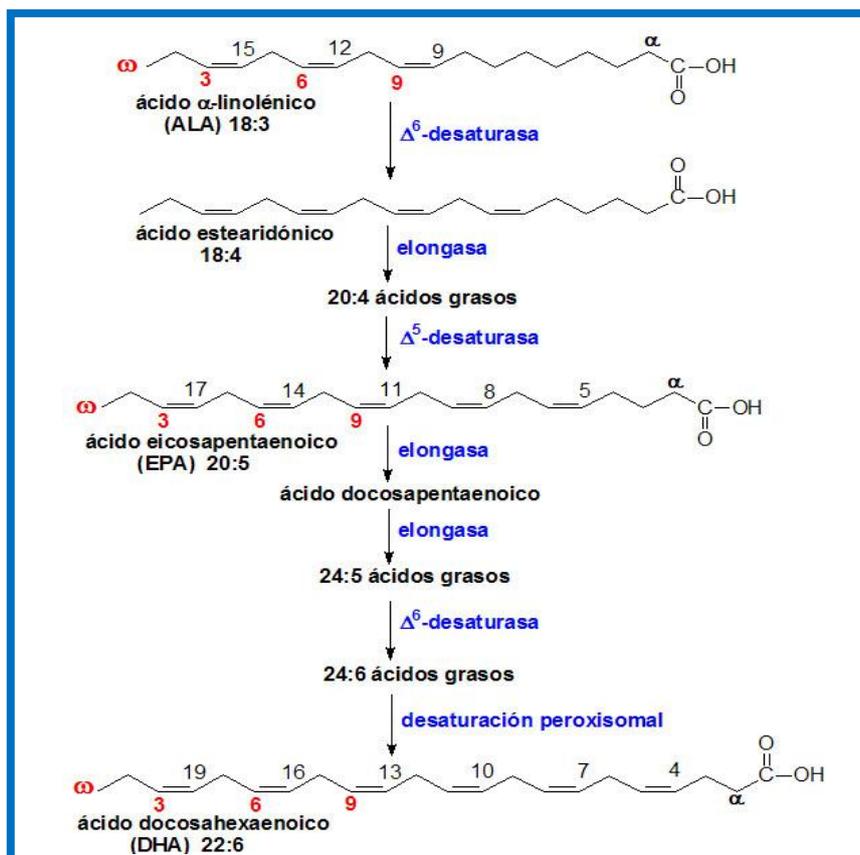


Figura 1.3. Esquema de la ruta metabólica de conversión de ALA en EPA y DHA

Las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2004) sobre el consumo de lípidos incluyen la disminución del consumo de grasas saturadas y el incremento de insaturadas. Por otra parte la American Heart Association (AHA, 2013) recomienda varios hábitos para lograr una alimentación más saludable, con un mejor perfil de ácidos grasos. Sin embargo debido a que la relación óptima de n-6/n-3 de la ingesta, varía según el individuo, resulta difícil definir relaciones exactas, por lo que se sugieren tendencias como que, la mayoría de las grasas de la dieta deben ser mono o poli-insaturadas. La AHA (2013) recomienda una ingesta de AGPI n-6 de 5 a 10% de las calorías diarias totales. Es importante que la relación n-6/n-3 no sea elevada ya que existe una competencia por las enzimas que procesan a estos AG, diferenciándose de la familia n-9.

La dieta occidental típica, resulta muy desequilibrada a favor de los ácidos grasos n-6 (relación n-6/n-3 = 15 a 20/1), como es el caso de nuestro país. Los productos cárnicos constituyen una parte significativa de nuestra dieta y representan una de las principales fuentes de la grasa dietaria. Las relaciones de ácidos grasos poli-insaturados/saturados (AGPI/AGS) y n-6/n-3 de algunas carnes se alejan mucho de los valores recomendados, por ello, cambios en la cantidad y el perfil lipídico de dichos productos podrían ayudar a

incrementar su calidad nutricional (Fernández-Ginés y col., 2005; Jiménez-Colmenero, 2007; Vandendriessche, 2008).

1.1.3. Micronutrientes presentes en los alimentos cárnicos

La razón por la que los alimentos cárnicos son una fuente esencial de algunos micronutrientes se debe al hecho de que la carne es el único origen o tiene una biodisponibilidad mucho mayor para los mismos. Dos importantes micronutrientes presentes solamente en la carne son las vitaminas A y B₁₂. Ambas no se pueden compensar con provitaminas de origen vegetal. La provitamina B₁₂ no existe y la provitamina A, el β-caroteno, debe ser consumido en cantidades elevadas debido a una pobre tasa de conversión (1:12). Asimismo, el hierro tiene una mayor biodisponibilidad cuando se deriva de carne como hierro hémico que el hierro de origen vegetal. Del mismo modo, el ácido fólico tiene una mayor biodisponibilidad, de casi 10 veces, en carnes (especialmente hígado) y huevos que en verduras. En consecuencia, una baja ingesta de carne (incluyendo hígado) está asociada a un riesgo de deficiencias en los micronutrientes mencionados (Biesalski, 2005).

1.2. Embutidos cárnicos

El origen de los productos cárnicos procesados se remonta a los tiempos más antiguos del ser humano. Debido a que la vida útil de la carne no es muy larga, el hombre ha buscado la forma de preservarla desde los tiempos más remotos. La elaboración de los embutidos cárnicos evolucionó como un esfuerzo para ahorrar y conservar la carne que no podía ser consumida fresca. En Europa, entre la segunda mitad del siglo XVII y comienzos del siglo XIX comenzó la elaboración de productos cárnicos de forma industrializada. De esta manera los países europeos desarrollaron técnicas de cocción y emplearon humo para conservar la carne. Por último, gracias a los grandes avances tecnológicos surgidos desde la segunda mitad del siglo XX se ha garantizado una alta calidad, tanto en los materiales y la maquinaria para producirlo, como en la extensión de su vida útil.

El Código Alimentario Argentino (CAA) define y clasifica a los embutidos entre los Art. 303 y 307 de la siguiente manera:

“Se entiende por Embutidos, los chacinados en cualquier estado y forma admitida que se elaboren, que hayan sido introducidos a presión en fracciones de intestino u otras membranas naturales o artificiales aprobadas a tal fin, aunque en el momento del expendio y/o consumo carezcan del

continente, pudiendo ser embutidos frescos, embutidos secos y embutidos cocidos”.

Los embutidos frescos, son aquellos embutidos crudos cuyo período de consumo oscila entre 1 y 6 días, recomendándose su conservación en frío (chorizos, salchicha parrillera).

Los secos, son embutidos crudos que han sido sometidos a un proceso de deshidratación parcial para favorecer su conservación por un lapso prolongado (salamines).

Los embutidos cocidos, cualquiera sea su forma de elaboración, son los que sufren un proceso de cocción por calor seco (estufas) o en agua con o sin sal, o al vapor, entre los que se encuentran las salchichas que fueron estudiadas en este trabajo. La vida útil de estas es de 45 días y se comercializan envasadas al vacío y refrigeradas.

Desde un punto de vista nutricional se puede decir que están compuestos por agua, proteínas y grasas. La proporción de agua dependerá del tipo de curado o deshidratación, pudiendo llegar desde un 70% en los productos frescos hasta un 10% en aquellos que han sido curados y deshidratados. Tras estos componentes básicos se suele añadir diferentes especias, según la región y las tradiciones culinarias.

Estos productos cárnicos son ampliamente consumidos y se encuentran muy presentes en la llamada dieta occidental, donde pueden representar hasta un 20% de las calorías y hasta un 25% del sodio aportados en la dieta (Weiss y col., 2010). Como tradicionalmente se elaboran con grasa animal resultan en alimentos con una deficiente calidad nutricional, debido también a los altos contenidos de ácidos grasos saturados (Tabla 1.1).

Tabla 1.1. Contenido aproximado de lípidos y sodio de distintos embutidos cárnicos

| Embutido | Contenido de lípidos (g/100g) | Contenido de sodio (mg/100g) |
|---------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| Salchichas tipo Frankfurt | 20 - 30 | 800 - 1200 |
| Mortadela | 20 - 30 | 700 - 1150 |
| Salchichas tipo Viena | 30 - 40 | 750 - 1200 |
| Salame | 30 - 50 | 1850 - 2350 |

A partir de las diversas cuestiones planteadas, surge en la industria cárnica un consenso para la reducción y/o modificación de los niveles de grasa y las sales empleadas para la elaboración de productos cárnicos procesados.

En nuestro país, con el objetivo de reducir el contenido de sodio en los principales grupos de alimentos procesados, los Ministerios de Salud y de Agricultura, Ganadería y Pesca de la Nación suscribieron un convenio marco con la Coordinadora de las Industrias de Productos Alimenticios (COPAL), Cámaras Alimentarias y empresas con la finalidad de que la población argentina disminuya el consumo de sal y, así, incidir sobre uno de los principales factores de riesgo de enfermedad cardiovascular (Ministerio de Salud de la Nación, 2011a).

1.2.1. Materia prima

La composición de la carne varía con la edad, sexo, especie, genotipo y estado nutricional del animal del cual proviene. En un mismo animal, la función y ubicación anatómica del músculo también influyen en la relación de sus componentes. Sin embargo su composición es relativamente constante para una amplia variedad de animales, notándose una variación apreciable en el contenido lipídico. La composición promedio de carne magra de vacunos bien alimentados se muestra en la Tabla 1.2.

Tabla 1.2. Composición promedio de carne vacuna magra.

| Componente | Proporción (g/100g) |
|------------|---------------------|
| Agua* | 75.0 |
| Proteínas | 18.0 |
| Grasa* | 3.0 |
| Cenizas | 1.5 |
| Glucógeno | 1.0 |

*El contenido de grasa más agua suele ser relativamente constante lo que implica que son inversamente proporcionales uno al otro.

Estructura del músculo esquelético

El tejido muscular esquelético presenta una arquitectura particular que se encuentra representada en la Figura 1.4.

El músculo está recubierto por tejido conectivo (epimisio) y está formado por fascículos. Los fascículos a su vez están recubiertos por otra membrana de tejido conectivo llamada perimisio y están formados por fibras musculares.

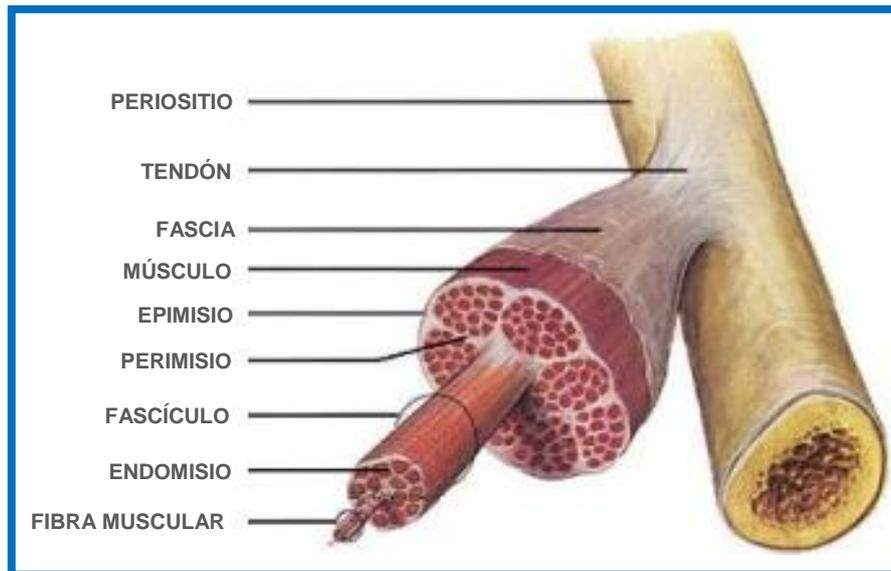


Figura 1.4. Esquema de un músculo esquelético.

La fibra muscular (Figura 1.5) es una célula alargada multinucleada que puede llegar a medir varios centímetros de longitud y entre 10 y 100 μm de diámetro.

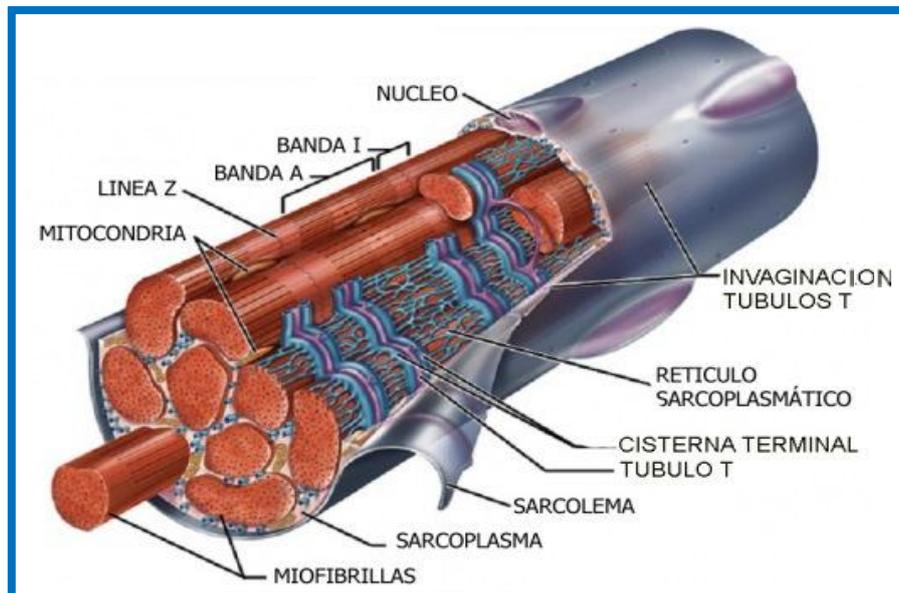


Figura 1.5. Estructura de una fibra muscular

El sarcolema es la membrana plasmática que la rodea, que a su vez está recubierta por el endomisio (tejido conectivo). La fibra muscular contiene varios cientos o millares de miofibrillas; éstas son estructuras contráctiles que la atraviesan y son las responsables de la contracción y de elasticidad, lo que permite realizar los movimientos característicos del músculo. La contracción de una fibra muscular requiere de la contracción simultánea de

todas sus miofibrillas. Esto se logra gracias a una red túbulo-membranosa denominada sistema de túbulos T que extienden el sarcolema en el interior de la célula muscular, y esto permite que la célula responda como una unidad por transmisión rápida del potencial de acción. El sarcoplasma (citoplasma) representa la parte líquida de las fibras musculares, llenando el espacio entre las miofibrillas. Las mitocondrias sirven como un primer transductor de energía para la célula muscular, y están localizadas a través de toda la célula.

Las miofibrillas están compuestas de un importante número de proteínas estructurales, (miofibrilares), dispuestas en filamentos finos y gruesos (Figura 1.6) que son los responsables de la contracción muscular desplazándose unos sobre otros. Además está compuesto por otras proteínas sarcoplasmáticas o globulares, principalmente mioglobina y enzimas.

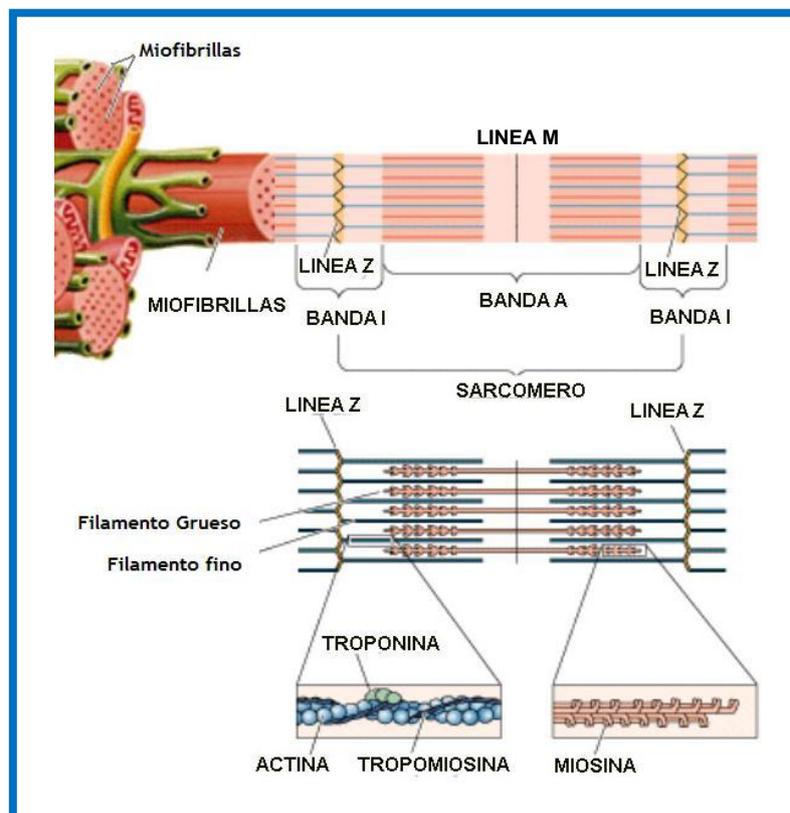


Figura 1.6. Estructura microscópica de la miofibrilla.

La miofibrilla se compone de diferentes regiones o bandas que pueden observarse al microscopio:

- **Bandas I:** corresponde a los denominados filamentos finos, compuestos principalmente por actina, troponina y tropomiosina. Dentro de la banda I se observa una línea más oscura o Z, sector donde se encuentran unidas las actinas

adyacentes y se mantiene la continuidad con el sarcómero subsiguiente. En ellas se encuentra la proteína α -actinina unida a actina-F que proporciona estructura. El espacio entre dos líneas Z se denomina sarcómero y constituye la unidad funcional del tejido muscular.

- **Bandas A:** corresponden a la zona de superposición de los denominados filamentos gruesos y finos y contiene una zona más clara, zona H, correspondiente al área sin superposición. En la región media de la zona H se encuentra la línea M, que corresponde a la unión de dos miosinas adyacentes. Los filamentos gruesos están compuestos principalmente de miosina.

Los componentes del filamento fino son:

- **Actina:** El filamento fino de actina es un polímero largo (actina-F, fibrilar) formado por dos cadenas de monómeros globulares (actina-G) arrolladas una sobre la otra, en doble espiral.
- **Tropomiosina:** dos polipéptidos α -helicoidales (α - y β - tropomiosina) superenrollados que se unen entre sí por sus extremos para formar filamentos largos que se localizan a lo largo del surco existente en la doble hélice de actina.
- **Troponina:** Es un complejo de tres subunidades: TnT, que se une a la tropomiosina; TnC, que tiene afinidad por el ión calcio, y TnI, que cubre el punto activo de la actina, inhibidor de la actividad ATPásica (este punto es el que interactúa con la miosina).

El filamento grueso está compuesto por:

- **Miosina:** está formada por 6 cadenas polipeptídicas: 2 pesadas: con regiones “cabeza” y “cola”, y 4 livianas: 2 DTNB (regulatoria) y 2 Alcalinas. Su estructura cuaternaria es el producto del ensamble de las 6 cadenas, teniendo forma de bastón. Presenta una región cola correspondiente a las 2 cadenas pesadas α -hélice enrolladas juntas en un enrollamiento supersecundario α -hélice, y una región cabeza, principalmente α -hélice, que posee puntos específicos para su combinación con actina, el sitio de la actividad ATPásica y el sitio para las cadenas livianas, alcalina y DTNB.

1.2.2. Emulsiones cárnicas

En la teoría de la emulsión cárnica, las pastas finas obtenidas se asimilan a una emulsión OW. Durante el picado de la carne con las sales y el agua se solubilizan gran parte de las proteínas miofibrilares que emulsionan las partículas de grasa molida después que

han sido dispersadas, situándose como una fina película en la superficie de separación entre las dos fases, impidiendo así su coalescencia. Este fenómeno se produce en el seno de un fluido sumamente viscoso formado por sales, proteínas insolubles, fragmentos de fibras musculares y de tejido conectivo y demás constituyentes del músculo desmenuzados y dispersados en el medio acuoso.

Durante el tratamiento térmico de la pasta la matriz proteica gelifica, la grasa se funde y tiende a fluir y a agregarse para formar partículas mayores. Existen dos teorías para explicar la estabilidad observada de las emulsiones cárnicas:

En la primera, la estabilidad de la emulsión se logra cuando las partículas de grasa han sido completamente cubiertas por las proteínas solubilizadas y permanecen individualizadas por esa membrana, frenando la coalescencia. Si las partículas de grasa están parcial o totalmente sin recubrir, las gotas pueden agregarse, aumentando su volumen y volviendo inestable al sistema.

Por otra parte, en la teoría del atrapamiento físico o retención mecánica, las partículas de aceite o grasa se encuentran dispersadas mecánicamente y atrapadas dentro de una matriz proteica altamente viscosa que impide físicamente su coalescencia. Durante el tratamiento térmico y consecuente gelificación, se forma un retículo proteico con las partículas de grasa fundidas distribuidas en su interior que no pueden agregarse por su retención mecánica dentro de los espacios libres del retículo.

Aunque que no hay una completa certeza sobre cuál es el mecanismo exacto de estabilización de una emulsión cárnica gelificada, varios autores (Smith, 1988; Gordon y Barbut 1991; Venegas Fornias, 2006; Youssef y Barbut, 2010) consideran que no existe una separación estricta entre ambas teorías, sino que se asemejan y se complementan, considerando que ambos fenómenos, emulsión y retención, ocurren conjuntamente durante la preparación del producto de la pasta, aunque actualmente las evidencias favorecen el modelo de la retención mecánica como el mecanismo primario de la formación y estabilización de un gel cárnico emulsionado.

1.2.3. Productos comerciales

Los geles cárnicos emulsionados o emulsión cárnica más común se denominan vulgarmente “salchicha tipo Viena”. Es un embutido a base de carne picada, generalmente de cerdo o vacuna y algunas veces de pavo, que tiene forma alargada y cilíndrica. Para su elaboración se suelen aprovechar además las partes del animal que, aunque son comestibles y a menudo nutritivas, no tienen un aspecto particularmente agradable, como la grasa o las vísceras. Esta carne procesada se introduce en una envoltura que es tradicionalmente la piel del intestino del animal, aunque actualmente es

más común utilizar colágeno, celulosa o incluso de polímeros sintéticos, especialmente en la producción industrial.

En la elaboración de este tipo de embutidos se utilizan diversos tipos de sales, dentro de las cuales se destacan el cloruro de sodio, nitrito de sodio y nitrato de potasio.

Los nitratos y nitritos no sólo ayudan a inhibir la proliferación de bacterias patógenas, sino que también producen un sabor característico y dan a la carne un color rosado o rojo. El nitrato (NO_3^-), provisto por ejemplo por el nitrato sódico o el nitrato potásico, se usa como fuente de nitrito (NO_2^-). El nitrito se descompone en la carne originando el óxido nítrico (NO), que se une al ión Fe^{2+} del centro del grupo hemo de la mioglobina, reduciendo la oxidación y provocando un color marrón rojizo (nitrosomioglobina) cuando el alimento está crudo, y el característico color rosa (nitrosohemocromo) cuando se cocina.

Sin embargo, la presencia de nitratos y nitritos en los alimentos es controvertida debido al desarrollo de nitrosaminas cuando los alimentos se cocinan a altas temperaturas. Por ello el uso de estos compuestos está regulado en la producción de alimentos curados, su concentración en el producto final se limita a 156 ppm (Graiver y col., 2002), aunque suele emplearse en niveles más bajos. El CAA Art. 323bis limita la incorporación de nitrito de sodio a un máximo de 0.015 g/100g residual y el doble en caso de emplear los nitratos para embutidos cocidos. Por último, cabe destacar que son irremplazables en la prevención del botulismo en alimentos curados o conservas, ya que pueden evitar la germinación de esporas.

Los productos embutidos (salchichas tipo Frankfurt, tipo Estrasburgo o Viena, mortadela) no constituyen una verdadera emulsión en el sentido clásico y están representados por un sistema multifásico en el cual una matriz continua hidrofílica de proteínas, agua y sal, funciona tanto química como mecánicamente para estabilizar la fase dispersa. Los componentes sólidos como proteínas insolubles, partículas de grasa y otros fragmentos (tejido conectivo y especias) están dispersos o inmovilizados en la matriz. Como ya se mencionó, la estabilidad del sistema reside en su estructura característica: una fase grasa emulsificada y estabilizada por proteínas miofibrilares y otras, formando un film lípido-proteína en la interfase. Las proteínas solubles en soluciones salinas han demostrado tener un rol importante en la formación de films interfaciales y encapsulación de partículas grasas. Sin embargo, en el caso de sistemas cocidos, las interacciones proteína-proteína y gelación son principalmente responsables de la estabilidad física y química de la grasa y del agua en el sistema (Tornberg, 2005; Youssef y Barbut, 2009).

Se pueden distinguir tres categorías de proteínas cárnicas según su función en la formación y estabilización de estos sistemas:

1. Proteínas sarcoplásmicas (~30%): De acuerdo con lo propuesto por Hamm (1977), las proteínas sarcoplásmicas son solubles en agua o soluciones acuosas de baja fuerza iónica. Dentro de este grupo se encuentran una gran variedad de enzimas, responsables de muchos de los cambios post-mortem. También se destaca la mioglobina, cuya capacidad de interaccionar con nitritos y nitratos tiene un gran impacto en el color del producto. La mayoría de estas proteínas forman agregados entre 40 y 60°C (Tornberg, 2005).

Davey y Gilbert (1974) encontraron, trabajando con músculo del cuello de toro, que la formación de agregados por tratamiento térmico de proteínas sarcoplásmicas podría extenderse hasta 90°C. Tornberg (2005) informó que las proteínas sarcoplásmicas tienen un papel importante en la consistencia de la carne cocida, de tal manera que estas al agregarse por calor pueden formar un gel en la carne entre los elementos estructurales y por lo tanto ligarse juntos.

2. Proteínas miofibrilares (~55%): Dentro de las cuales se destacan la miosina y la actina. Estas proteínas logran solubilizarse con un agregado de sales y presentan una elevada capacidad de retención de agua. La miosina tiene una elevada capacidad emulsionante y puede formar geles por desnaturalización térmica, siendo estas propiedades fundamentales para la formación y estabilización del sistema. La miosina forma geles a muy baja concentración (0.5%; Hermansson y Langton, 1988). La firmeza del gel de miosina alcanza su máximo valor a 45°C y a un pH de 5.5, o a 60°C a pH 6 (Sharp y Offer, 1992). Si la actina está presente, se obtiene un gel más firme (Yasui y col., 1980). La fuerza iónica (principalmente NaCl) y el pH son factores importantes, ya que determinan si existe la miosina en forma monomérica o en forma de filamentos. A fuerzas iónicas superiores a 0.3 y a pH neutro, las moléculas de miosina están dispersas como monómeros, formando una red gruesa con poros grandes. A una menor fuerza iónica las moléculas de miosina se ensamblan en filamentos, se asemeja a los filamentos gruesos naturales en el músculo. Durante el calentamiento, se forma un gel más firme, especialmente si los filamentos son muy largos (Tornberg, 2005). La gelificación de la miosina se produce en dos etapas. La primera etapa de la reacción, entre 30 y 50°C implica la agregación de las cabezas globulares de la miosina, y la segunda etapa, a temperaturas superiores a 50°C, está asociada con la desnaturalización de la cola.

3. Proteínas del estroma o tejido conectivo (~15-20%): La principal proteína en esta categoría es el colágeno, una proteína de bajo valor biológico, que tiene poca capacidad de interacción con otras proteínas. Entre 53 y 63°C, se produce la

desnaturalización del colágeno de acuerdo con determinaciones realizadas por calorimetría diferencial de barrido (Martens y col., 1982), lo que probablemente implica en primer lugar la ruptura de enlaces de hidrógeno hasta que pierden la estructura fibrilar y a continuación, ocurre la contracción de la molécula de colágeno. Si a continuación, las fibras de colágeno no son estabilizadas por enlaces intermoleculares resistentes al calor, el colágeno se disuelve y forma gelatina con un calentamiento adicional. La presencia de enlaces covalentes mantienen una parte de la fibra sin disolverse (Tornberg, 2005). Las fibras de colágeno se pueden reducir hasta llegar a una cuarta parte de su longitud original a temperaturas entre 60 y 70°C. Una cantidad excesiva de colágeno solubilizado que gelifica puede desestabilizar el sistema cárnico. Si se forma demasiada gelatina, el gel cárnico mostrará signos de separación, probablemente debido a la pérdida de líquido y posible desestabilización de la matriz de proteica (Ladwig y col. 1989). Sin embargo, la fusión de colágeno también podría estar asociada con su fluidez lo que le permitiría formar parte de la capa proteica interfacial entre los glóbulos grasos y el agua (Barbut, 1995).

1.3. Reformulación de productos cárnicos

Como ya se ha mencionado, los alimentos cárnicos procesados tradicionales contienen un nivel elevado de grasa animal (la cual está mayoritariamente compuesta por ácidos grasos saturados) y de sodio (debido a la gran cantidad de sales de sodio incorporadas para lograr las propiedades deseadas en estos productos).

En los últimos años la industria cárnica (al igual que otras industrias alimentarias) está sufriendo una transformación importante, dirigida entre otras cosas, por cambios en la demanda del consumidor. Dada su importancia, los lípidos se encuentran entre los componentes bioactivos (ingredientes funcionales) que han recibido mucha atención, particularmente (en términos cualitativos y cuantitativos) con respecto al desarrollo de productos cárnicos saludables (Jiménez-Colmenero, 2007).

Asimismo, se han estado buscando aditivos que logren productos cárnicos nutricionalmente más beneficiosos, por ejemplo, reduciendo su contenido calórico o por agregado de fibra, minerales o compuestos bioactivos. Esta reducción en la proporción de carne incorporada llega también en el contexto de la demanda de reducir la huella de carbono de los productos finales (Schuh y col., 2013). Entre los componentes que pueden usarse como ingredientes funcionales para reemplazar la carne se incluyen las proteínas no cárnicas y los hidrocoloides.

Los productos tipo emulsiones cárnicas de bajo contenido en grasas sin un simultáneo agregado de agua poseen mayores costos debido al alto contenido en carne magra, y resultan con una textura más firme y menos jugosa (Rakosky, 1970). El reemplazo de grasa por agua incrementa las pérdidas durante la cocción (Su y col., 2000). La cantidad de agua + lípidos de los productos suele ser constante, con valores entre 70 y 80 g/100g aproximadamente. El Código Alimentario Argentino (CAA) en el Art. 322 permite un máximo de 25 g/100g de agua agregada a salchichas tipo Viena, siendo su humedad final, no superior a 76 g/100g. Entre los aditivos químicos más usados para evitar o disminuir la pérdida de agua se encuentran los polifosfatos, generalmente usados en combinación con cloruro de sodio. Asimismo, la incorporación de distintas proteínas no cárnicas y/o polisacáridos en los productos contribuyen a evitar o disminuir las pérdidas por cocción.

Los reemplazantes de la materia grasa constituyen una gran variedad de sustancias químicas con diversas propiedades funcionales. A las emulsiones alimenticias se les pueden incorporar hidrocoloides, que ayudan a estabilizar este tipo de sistemas. Los más utilizados son las gomas guar, xántica, garrofín, celulosa microcristalina, carragenanos y pectinas. Pero como no existe un reemplazante universal de la grasa, se deben formular sistemas con más de un componente, y estudiar las interacciones que se producen a efectos de obtener un producto similar al original manteniendo la estabilidad durante el almacenamiento o vida útil del producto.

Como la grasa es la principal contribuyente al aporte energético de los alimentos cárnicos procesados debe reducirse su contenido para contribuir a una dieta más saludable (Vandendriessche, 2008). Para cumplir con las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud, no solo es conveniente disminuir el contenido de lípidos de los productos cárnicos procesados sino también modificar su perfil lipídico. En la dieta occidental tradicional el consumo de ácidos grasos poli-insaturados n-3 es bajo, por lo que una modificación en las formulaciones podría ser una forma de incrementar su ingesta en la población (Jiménez-Colmenero, 2007).

Existen diferentes posibilidades para modificar la cantidad y calidad de los ácidos grasos de alimentos cárnicos procesados. Puede modificarse la composición de los ácidos grasos en los animales mediante la adaptación de la alimentación. A su vez, como afirma Vandendriessche (2008) se puede modificar la fase grasa empleada para elaborar dichos productos, empleando aceites con mayor contenido de ácidos grasos poli-insaturados (AGPI).

Sin embargo debido a la elevada susceptibilidad a la oxidación de los AGPI se deben incorporar antioxidantes para controlar la rancidez e incrementar la estabilidad

minimizando los procesos de deterioro en los productos. Además, los alimentos provenientes de músculos son bastante susceptibles a la oxidación, y las operaciones de procesamiento facilitan la reducción del tamaño de las partículas y la exposición a superficies que, junto con ingredientes potencialmente prooxidantes y cambios inducidos por el tratamiento térmico disminuyen la estabilidad oxidativa (Lee y col., 2005). El empleo de antioxidantes naturales, como tocoferoles, resulta en una alternativa más saludable respecto a uso de los sintéticos tradicionalmente usados.

Asimismo, se conoce que los fitoesteroles tienen efecto hipocolesterolémicos, por lo cual son considerados importantes aliados en la prevención de enfermedades cardiovasculares (Valenzuela y Ronco, 2004). Son reconocidos como componentes importantes de dietas saludables y diseñadas para reducir la hipercolesterolemia. El United States National Cholesterol Education Program ha recomendado una suplementación con 2 g/día de fitoesteroles, lo que disminuiría el colesterol LDL en aproximadamente un 10% (Ostlund, 2007). Por lo tanto, su incorporación en este tipo de productos ayudaría a incrementar su ingesta, resultando en un alimento con una capacidad potencial para reducir los niveles de colesterol sanguíneos.

Por otro lado, las evidencias de los efectos cardiovasculares adversos que produce el sodio avaladas por numerosos estudios, indican una asociación entre el elevado riesgo de morbilidad y mortalidad de enfermedades cardiovasculares, incluyendo enfermedad de arterias coronarias e infarto, con ingestas elevadas de sodio. Sin embargo, a pesar que la restricción de sodio es ampliamente recomendada para prevenir hipertensión, esta propuesta es debatible dado que algunos estudios mostraron cómo la restricción de sodio podría ser beneficiosa sólo para la fracción de la población definida como sal-susceptible. Por esta razón, se ha recomendado una moderada reducción de ingesta de sal en personas normotensas y restricción en aquellas con alta presión sanguínea (Guárdia, y col., 2008). La Asociación Americana del Corazón (American Heart Association, 2010) recomienda elegir y preparar alimentos con poco o nada de sal, con el objetivo de consumir menos de 1.5 g de sodio por día. Existen evidencias que indican que una ingesta de no más de 70 mmol o 1.7 g de sodio por día es beneficioso en reducir la presión sanguínea (OMS, 2010a). Esto se lograría reduciendo la ingesta diaria de sal (cloruro de sodio) teniendo en cuenta el total de sodio ingerido de todas las fuentes de la dieta (aditivos como glutamato monosódico y conservantes). En Argentina el Ministerio de Salud de la Nación lanzó en plan “Menos Sal +Vida”, que consiste en una iniciativa para disminuir el consumo de sal (NaCl) de la población en su conjunto, para reducir la importante carga sanitaria que representan las enfermedades cardiovasculares, cerebrovasculares y renales (Ministerio de Salud, 2011b).

Por esto, el agregado de sal en los alimentos se ha convertido en una de las principales preocupaciones de la industria alimenticia, en particular de la industria cárnica. Actualmente es empleada como saborizante, resaltador del flavor, (siendo el sodio el responsable de la percepción del sabor salado y el cloruro modificando dicha percepción). El NaCl favorece la solubilización de proteínas miofibrilares, incrementando su hidratación y capacidad de retención de agua, reduciendo así las pérdidas por cocción y aumentando en consecuencia la ternura y la jugosidad del producto cárnico. Por lo tanto, si se disminuye el contenido de cloruro de sodio en la formulación para hacerla más saludable, se verían afectadas negativamente estas propiedades.

El cloruro de potasio es el sustituto más comúnmente empleado en alimentos de bajo/reducido contenido de sodio. Sin embargo en soluciones conteniendo 50:50 NaCl:KCl se ha observado un incremento del sabor amargo y la pérdida del salado, y por otro lado, excesivas ingestas de potasio pueden ser perjudiciales para ciertos subgrupos de la población con algunas patologías (diabetes Tipo I, insuficiencia renal crónica, etc). Algunos investigadores han indicado que reemplazos de entre 25-40 % no alterarían el flavor (Desmond, 2006).

Los fosfatos como el tripolifosfato de sodio ($\text{Na}_3\text{H}_2\text{P}_3\text{O}_{10}$) también son usados tradicionalmente en productos cárnicos para aumentar la capacidad de retención de agua a través del aumento de la fuerza iónica. Este incremento en la fuerza iónica libera sitios negativamente cargados de las proteínas, mejorando su capacidad de unir agua, y consecuentemente el rendimiento en cocción. Aunque generalmente los fosfatos son sales sódicas, su aporte de Na^+ a la ingesta representa una cantidad baja dado su menor contenido respecto al NaCl y a la menor proporción generalmente agregada de este aditivo (0.5 g/100g respecto al 2-4 g/100g de NaCl).

La sal y la grasa conjuntamente contribuyen con muchas de las propiedades sensoriales en productos cárnicos procesados. Por ello, la simultánea reducción de grasa y sal en geles cárnicos emulsificados representa un desafío tecnológico. Si tanto la sal y la grasa son reducidos, el agua usada para reemplazar la grasa disminuye la fuerza iónica a <0.4 , afectando la percepción del salado, flavor característico, textura, retención de agua y conservación (Totosaus y Pérez-Chabela, 2009). Una alternativa es usar ingredientes funcionales que imiten las propiedades de la grasa en este tipo de productos. Estos sustitutos de grasa aportan mínimas calorías y no alteran significativamente el flavor, jugosidad, palatabilidad, viscosidad u otras propiedades organolépticas y de procesamiento. Comúnmente, los carbohidratos como almidón o gomas son agregados para incrementar el rendimiento en cocción, la retención de agua, reducir costos, modificar la textura e incrementar la estabilidad congelado-descongelado.

1.3.1. Antecedentes de la reformulación de productos cárnicos

Se han realizado numerosos trabajos evaluando la factibilidad de la modificación de la formulación de diversos alimentos cárnicos procesados, obteniendo resultados exitosos.

Los primeros estudios realizados sobre la reformulación de productos cárnicos consistieron en el reemplazo parcial de grasa animal (disminuyendo así de 30g/100g a 20g/100g) por agua, con la simultánea incorporación de aislado de proteínas de soja para reducir las pérdidas de los productos (Rakosky, 1970; Sofos y Allen 1977).

Posteriormente, se trabajó en el cambio del perfil lipídico de los productos, para complementar la reducción del tenor graso, empleando aceites de origen vegetal. Así, Bloukas y Paneras (1994) reemplazaron grasa de cerdo en salchichas magras por aceites vegetales (oliva, maíz, girasol y soja) preemulsificadas con caseinato, obteniendo productos más saludables, de menor valor calórico, colesterol y contenido de ácidos grasos saturados, e incrementando los insaturados. Sin embargo, el empleo de aceite de soja afectó la aceptabilidad y estabilidad de manera negativa, debido a la inestabilidad del ácido linolénico. Otros autores (Park y col., 1989) estudiaron salchichas magras que contenían aceite de girasol de alto oleico o aceite de pescado, encontrando que las últimas presentaban flavor indeseable y problemas de textura. Por el contrario, Park y col. (1990) formularon salchichas magras con aceite de girasol de alto oleico encontrando características similares al producto tradicional. Yilmaz y col. (2002) lograron salchichas de carne vacuna o pollo con grasa o aceite de girasol y almidón, con buenas características fisicoquímicas y sensoriales. Lurueña-Matínez y col. (2004) redujeron la grasa de cerdo y la sustituyeron por aceite de oliva en salchichas mediante el agregado de goma xántica y garrofín, con buenos resultados sensoriales y de textura.

Andrés y col. (2006, 2008) formularon salchichas de pollo, empleando una combinación de gomas xántica y guar con suero lácteo para lograr productos con un contenido de grasa reducido (0 - 5%) y posteriormente reemplazaron la grasa vacuna por aceite de calamar logrando un alimento con un perfil lipídico saludable y buena aceptabilidad sensorial (Andrés y col., 2009).

Posteriormente se incluyó la reducción de sodio en las formulaciones, incorporando KCl, como principal alternativa tecnológica. Por ejemplo Aliño y col. (2009) estudiaron la sustitución de NaCl por KCl en lomos curados españoles, no observando diferencias significativas en las propiedades fisicoquímicas hasta un 50% del reemplazo de la sal sódica.

Los sucesivos avances tecnológicos junto con el desarrollo de diversos productos sustitutos de grasa permitieron reducir de manera muy significativa el contenido de lípidos de estos productos. La incorporación de proteínas de soja en salchichas de carne de

búfalo con 10% de lípidos permitió obtener características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales similares a las formulaciones tradicionales (Ahmad y col., 2010). Más recientemente Jimenez-Colmenero y col. (2013) emplearon aceites de oliva, lino y de origen marino para obtener un embutido seco fermentado reducido en grasa con un mejor perfil de ácidos grasos, sin embargo, esta modificación produjo una reducción en la dureza y un aumento en la cohesividad del producto y afectando negativamente los parámetros sensoriales respecto a un control.

Debido a la gran variabilidad de productos cárnicos y al elevado número de alternativas empleadas para su modificación, la reformulación de los mismos implica un proceso complejo donde se tienen que considerar múltiples alternativas debiéndose asegurar la calidad y la buena aceptabilidad del producto.

En un interesante review, Vanderniessche (2008) propone algunos lineamientos y desafíos a futuro que se abordarán en elaboración de productos cárnicos. Se deberán maximizar los aspectos relacionados a la calidad microbiológica, se profundizarán aspectos relacionados a la salud lo que implica una reducción de grasa y Na^+ de estos productos. Finalmente se profundizarán las cuestiones medioambientales como el bienestar animal y el concepto de huella de carbono.

1.4. La reología como método de estudio de los sistemas alimentarios

Los productos alimenticios pueden ser líquidos o sólidos simples, pero la gran mayoría de los materiales alimenticios pertenecen a la categoría de materiales viscoelásticos compuestos de una serie de nanoestructuras y microestructuras (Fischer y Windhab, 2011). En consecuencia, las emulsiones, los geles de biopolímeros y la combinación o mezclas de los mismos pueden ser abordados por la reología. La cual se rige por los principales ingredientes y sus interacciones en una amplia variedad de escalas de longitud y el tiempo.

Junto con la aparición de los alimentos procesados, la ciencia de los alimentos ha dedicado importantes investigaciones sobre el papel de los ingredientes individuales, en particular el de los agentes de estabilizantes. Se realizaron un gran número de estudios en hidrocoloides, biopolímeros, carbohidratos y las interacciones de los ingredientes con la matriz alimentaria a partir de la década de 1980. La caracterización reológica de los ingredientes individuales, así como el producto alimenticio que se encuentra en góndola es una parte integral de la ciencia de los alimentos.

El conocimiento de las propiedades reológicas de los alimentos está estrechamente relacionado con su desarrollo y producción industrial (agitación, bombeo, dosificación, dispersión, pulverización), o preparación para su consumo, así como el consumo de

alimentos (percepción oral, la digestión, bienestar). También se puede emplear para cuantificar las relaciones funcionales entre la deformación, tensiones, y las propiedades reológicas resultantes tales como viscosidad, elasticidad, y la viscoelasticidad.

Además de las actividades discutidas, algunas de las tendencias que se han originado en los últimos años deben ser mencionadas. Un ejemplo, abordado en esta **Tesis**, es minimizar el contenido de grasa en los alimentos, manteniendo la sensación plena de grasa en la boca o palatabilidad, que es de interés creciente para imitar otros atributos de sabor como salado, amargo, o cualquier otro mal sabor de ingredientes naturales o añadidos. Por ejemplo, la percepción de la sal depende, en gran medida, de la matriz del alimento, es decir, alimentos que contienen alto contenido de sal aún pueden percibirse sin sabor salado; mientras que los alimentos de bajo contenido de sal parecen salados. Por lo tanto, la modificación del contenido de sal depende de la matriz de los alimentos y las modificaciones estructurales de la matriz conducen a una reología diferente y atributos sensoriales diferentes (Mewis y Dullaert, 2006). En el mismo contexto, la estructuración de las grasas y aceite se está convirtiendo cada vez más en un aspecto abordado por esta disciplina (Marangoni, 2009).

Un reciente abordaje teórico para describir la reología de geles se origina a partir de un enfoque donde las diversas propiedades se describen a partir de la concentración y composición de los ingredientes primarios (por ejemplo, polisacáridos, proteínas) y su posible interacción (Stokes y Frith, 2008; Fuchs, 2009; Fischer y Windhab, 2011).

La aplicación de una fuerza a un material provoca que se deforme o bien que fluya. La intensidad de la deformación y del flujo depende de las propiedades fisicoquímicas del material. La reología es la ciencia que estudia la relación que existe entre las fuerzas externas aplicadas y la deformación o flujo que sufre la materia.

El esfuerzo al que se somete externamente un material puede ser aplicado de diferentes formas: como una compresión (en dirección perpendicular a la superficie), o como un esfuerzo cortante o de cizalla (en dirección paralela a una cara). El esfuerzo representa una fuerza por unidad de área, por lo que tiene unidades de presión. Tanto la deformación, representada usualmente por γ , como la velocidad de deformación ($\dot{\gamma}$) son la expresión matemática de la respuesta de un material al esfuerzo aplicado sobre él.

Una deformación tiene lugar siempre que ocurra un cambio en la distancia entre dos puntos de un material. La magnitud de esa deformación se da por el desplazamiento relativo de éstos, por lo tanto la deformación es una magnitud adimensional. La velocidad de deformación se obtiene directamente derivando la deformación con respecto al tiempo.

Una ecuación constitutiva es aquella que relaciona todos los componentes del esfuerzo con la deformación o con la velocidad de deformación. Como es una característica única del material describe su comportamiento para cualquier tipo de deformación o flujo.

Una función del material constituye una relación entre ciertos componentes específicos del esfuerzo y de la deformación y es por ello una particularización de la ecuación constitutiva. Las funciones del material se obtienen directamente a partir de medidas directas de los componentes específicos de fuerza y desplazamiento y a menudo se expresan en términos de ecuaciones empíricas que relacionan los componentes correspondientes del esfuerzo y la deformación. Dependiendo de cómo sean estas ecuaciones constitutivas, los materiales presentarán comportamientos reológicos diferentes.

Las propiedades reológicas de un material son los valores de los parámetros escalares que se requieren para definir la relación entre el esfuerzo y la deformación. Están definidos por un modelo correspondiente a una función del material que se puede medir.

En la mecánica clásica se distinguen nítidamente dos respuestas mecánicas extremas; la de los sólidos que responden a la Ley de Hooke y la de los líquidos que responden a la Ley de Newton. También se sabe que existen muchos materiales que no se pueden describir con estos modelos constitutivos extremos. No obstante, la teoría de la elasticidad (Ley de Hooke) se puede modificar para describir deformaciones finitas y la Ley de Newton también se puede generalizar para describir el comportamiento de líquidos que se suponen viscosos e inelásticos, en los cuales uno de los fenómenos típicos es que la viscosidad varía con la velocidad de corte. Estos fluidos se denominan no-Newtonianos generalizados. En este sentido, estas teorías se pueden considerar como extremos del espectro de comportamiento de los materiales reológicamente complejos. Ciertamente, este contexto es inadecuado para describir el comportamiento de un conjunto importante de materiales denominados viscoelásticos (Bird y col., 1977, Barnes y col, 1991, Montes y White, 1993). Forman parte de este grupo de materiales las mezclas de diferentes biopolímeros y casi la totalidad de los alimentos.

1.4.1. Deformación por esfuerzo de corte o cizalla simple

Para definir el flujo de corte, considérese un sistema de coordenadas cartesianas como el que se muestra en la Figura 1.7.

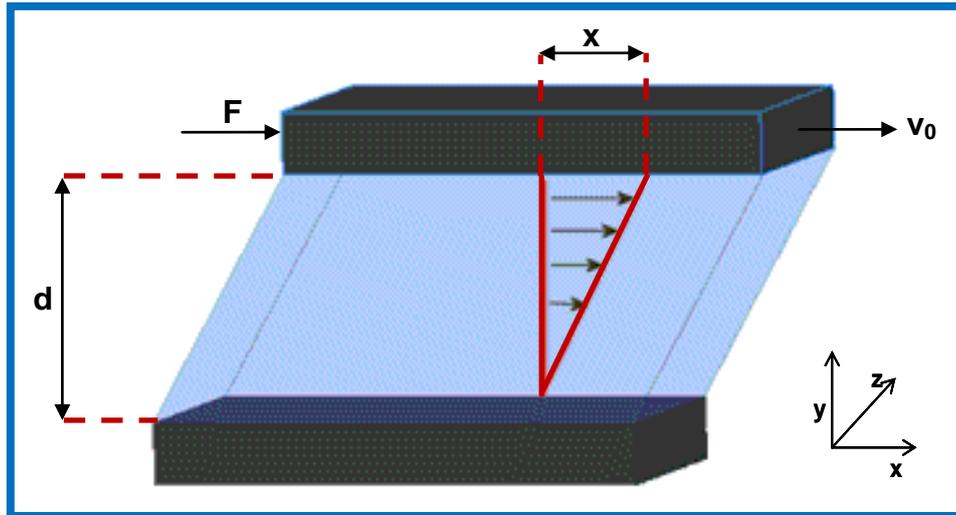


Figura 1.7. Flujo de corte entre dos placas paralelas. La placa superior se mueve en la dirección del eje “x” con una velocidad constante (v_0).

En dicha figura se observa de forma esquemática un modelo conformado por un material comprendido entre dos placas paralelas; una inferior fija y una superior móvil, separadas una distancia “d” (se supone que la distancia entre placas es mucho menor que la dimensión de las mismas).

Si se aplica una fuerza continua F sobre la placa superior, que la obliga a desplazarse a una velocidad constante v_0 , se generará un perfil de velocidades unidireccional en el material de acuerdo a:

$$v_x(y) = \frac{\partial v_x}{\partial y} y \quad ; \quad v_y = v_z = 0 \quad 1.1$$

La velocidad de deformación $\dot{\gamma} = v_0/d$ es constante respecto de la coordenada “y”, y por la ecuación de continuidad se observa que tampoco varía con la coordenada “x”.

Por estas características particulares, el perfil de velocidades propuesto genera un flujo de corte simple y homogéneo. A partir de las condiciones de simetría se obtiene la forma general del tensor esfuerzo (Bird y col., 1977).

A partir del flujo de cizalla en estado estacionario, donde la velocidad de cizalla no varía con el tiempo, se obtiene la viscosidad aparente $\eta(\dot{\gamma})$,

$$\eta(\dot{\gamma}) = \frac{\sigma}{\dot{\gamma}} \quad 1.2$$

1.4.2. Clasificación de un material de acuerdo a su comportamiento reológico

Como se ha mencionado previamente, las teorías lineales de elasticidad e hidrodinámica dividen a los materiales entre sólidos y fluidos, mediante los conceptos de sólido perfectamente elástico y fluido puramente viscoso. En el sólido perfectamente elástico, la aplicación de un esfuerzo, (fuerza por unidad de área) produce una deformación proporcional a la misma (Ley de Hooke):

$$\sigma = G\gamma \quad 1.3$$

Donde:

G = constante de proporcionalidad o la constante del resorte.

Cuando ese esfuerzo es suprimido, el cuerpo recupera su estado inicial no deformado de forma similar a lo que ocurre con un resorte estirado o comprimido.

Por otro lado, si el cuerpo en consideración es un fluido de viscosidad constante, el esfuerzo es proporcional al cambio instantáneo de deformación con el tiempo o velocidad de deformación (Ley de Newton), independientemente de la deformación producida, es decir:

$$\sigma = \eta\dot{\gamma} \quad 1.4$$

En realidad, ambos conceptos no constituyen más que idealizaciones del comportamiento dinámico de materiales que se cumplen sólo en casos muy específicos.

La presencia simultánea de propiedades elásticas y viscosas en diversos materiales ha originado una clasificación de los mismos con respecto a su comportamiento esfuerzo-deformación por cizalla. Cada material se caracteriza por las expresiones matemáticas que relacionan estas variables (Carreau y col., 1997). La clasificación más usual corresponde a la mostrada en la Figura 1.8.

| | | |
|---------------------------------|--------------------------------|---|
| Comportamiento Reológico | Sólido rígido (Euclides) | $\gamma = 0$ |
| | Sólido elástico (Hooke) | $\sigma = G\gamma$ |
| | Sólido elástico no-lineal | $\sigma = G(\gamma)\gamma$ |
| | Viscoelástico | $\sigma = f(\gamma, \dot{\gamma}, t)$ |
| | Fluido Viscoso no-lineal | $\sigma = \eta(\dot{\gamma})\dot{\gamma}$ |
| | Fluido Viscoso lineal (Newton) | $\sigma = \eta\dot{\gamma}$ |
| | Fluido invíscido (Pascal) | $\sigma = 0$ |

Figura 1.8. Clasificación de un material de acuerdo a su comportamiento reológico.

Además de la relación esfuerzo/deformación, el tipo de respuesta de un material depende de la escala de tiempo involucrada entre la aplicación del esfuerzo y la medida de sus efectos. Esta escala de tiempo se mide por el número de Deborah:

$$De = \frac{\text{tiempo de relajación del material}}{\text{tiempo de observación}} \quad 1.5$$

Cuando $De \rightarrow 0$, los materiales tienden a un comportamiento puramente viscoso, mientras que cuando $De \rightarrow \infty$ se comportan como sólidos. Los materiales viscoelásticos presentan $De \approx 1$.

A partir de esta clasificación se han desprendido tres conceptos reológicos fundamentales: la viscosidad de flujo estacionario, la tixotropía y la viscoelasticidad.

1.4.3. Viscoelasticidad

La mayoría de los sistemas alimenticios presentan estructuras complejas que exhiben características del tipo viscosas y elásticas simultáneamente, lo que implica que tanto la ley de Hooke como la ley de Newton resultan insuficientes para su completa caracterización. Este tipo de materiales reciben el nombre de *viscoelásticos* y tienen la característica de disipar parte de la energía de deformación al fluir y almacenar otra parte, que utilizan para recuperar parcialmente la forma original al desaparecer la fuerza externa (Barnes y col., 1991). El estudio de la viscoelasticidad implica relacionar el esfuerzo cortante, la deformación y el tiempo mediante una ecuación reológica de estado. En el caso de que tanto el esfuerzo como la deformación sean lo suficientemente pequeños

como para que ambas magnitudes se puedan describir a lo largo del tiempo mediante ecuaciones diferenciales lineales de coeficientes constantes, se dice que el material se encuentra dentro de su rango de *viscoelasticidad lineal* (Kokini, 1992). En este rango la relación entre el esfuerzo y la deformación sólo es función del tiempo o de la frecuencia, pero no depende de la magnitud del esfuerzo aplicado. Las propiedades viscoelásticas lineales son muy útiles para determinar las características estructurales del material pero de poco valor para predecir fenómenos que ocurren cuando se aplican deformaciones grandes como es el caso de las operaciones de procesado de alimentos (Kokini y col., 1995). El comportamiento viscoelástico lineal de un fluido puede relacionarse con su estructura.

Por otro lado, la respuesta de un material que es sometido a un esfuerzo puede depender de la magnitud del mismo, es decir que la respuesta puede no ser lineal. La enorme complejidad que se deriva de este hecho hace que normalmente la caracterización viscoelástica se lleve a cabo a esfuerzos o deformaciones lo suficientemente pequeños para no alterar la estructura del material y, por lo tanto, permanecer en el rango lineal. Las funciones viscoelásticas que se utilizan dependen del sistema experimental del que se dispone. Uno de los ensayos de caracterización viscoelástica más utilizado para diversos sistemas es el ensayo oscilatorio (Figura 1.9), donde se observa el estímulo producido sobre el material y las diferentes respuestas que puede presentar el mismo dependiendo de su comportamiento viscoelástico.

Los ensayos oscilatorios consisten en la aplicación sobre un material de una deformación (en un reómetro de velocidad controlada) o de un esfuerzo (en un equipo de esfuerzo controlado) que varía armónicamente con el tiempo (Steffe, 1996). Por ejemplo, suponiendo que se aplica una deformación que siga la función:

$$\gamma = \gamma_0 \text{sen}(\omega t) \quad 1.6$$

Donde:

γ_0 es la amplitud

ω es la frecuencia de oscilación.

A partir de esta expresión y recordando la definición de la velocidad de deformación Ec. 1.1), $\dot{\gamma}$ vendrá dada de acuerdo a:

$$\frac{d\gamma}{dt} = \dot{\gamma} = \gamma_0 \omega \text{cos}(\omega t) \quad 1.7$$

En un ensayo de estas características el reómetro registrará el esfuerzo de corte necesario para mantener esta deformación y su variación con la frecuencia. En el caso de un sólido elástico (que sigue la ley de Hooke), el esfuerzo será máximo cuando la deformación sea máxima, es decir, cuando $\text{sen}(\omega t) = 1$ y, por tanto, ωt sea un número impar de veces $\pi/2$; por tanto, la respuesta del material estará en fase con la perturbación aplicada. Si, por otro lado, el material es viscoso puro, el esfuerzo será máximo cuando sea máxima la velocidad de deformación, presentando un desfase de $\pi/2$ radianes con la deformación impuesta. De manera general, el esfuerzo de corte obtenido puede expresarse como:

$$\sigma = \sigma_0 \text{sen}(\omega t + \delta) \quad 1.8$$

Donde σ_0 es la amplitud del esfuerzo y δ es el ángulo de desfase (también llamado ángulo mecánico de pérdida) relativo a la deformación.

Por lo tanto, un fluido viscoelástico presentará un desfase entre 0 y $\pi/2$, que indicará la relación entre elasticidad y viscosidad, y dependerá de la frecuencia de oscilación. Por ejemplo, a frecuencias muy altas, correspondientes a tiempos muy cortos, el material no tiene tiempo de relajarse y su comportamiento se acerca al de un sólido elástico, con ángulo de desfase pequeño. Por el contrario, a frecuencias bajas, el material tiene tiempo de relajarse y fluir y, por tanto, su comportamiento es más viscoso, lo que implica un ángulo de desfase mayor (Figura 1.9).

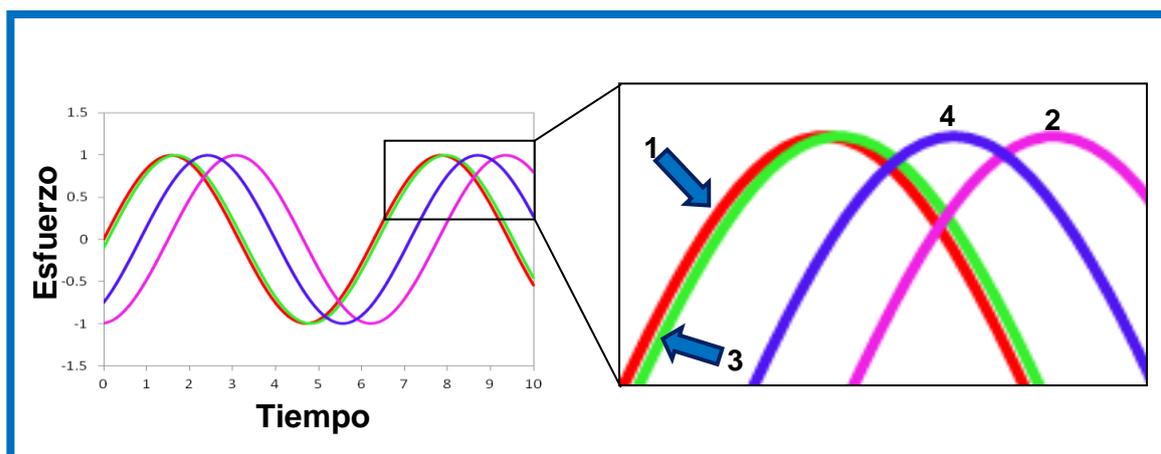


Figura 1.9. Estímulo y respuesta de diferentes tipos de materiales ante un ensayo oscilatorio. Esfuerzo aplicado (1): —. Respuesta de un fluido (2): —. Respuesta de un sólido (3): —. Respuesta de un material viscoelástico (4): —.

A partir de la Ec. 1.8, dividiendo en ambos miembros de la ecuación por la amplitud de deformación (γ_0) y desarrollando el seno de la suma de dos ángulos es posible obtener la siguiente expresión:

$$\frac{\sigma}{\gamma_0} = \left(\frac{\sigma_0}{\gamma_0} \right) \text{sen}(\omega t + \delta) = \left(\frac{\sigma_0}{\gamma_0} \right) [\text{sen}\omega t \cos\delta + \text{sen}\delta \cos\omega t] \quad 1.9$$

Esta ecuación permite definir dos funciones características que facilitan la interpretación del comportamiento viscoelástico de los materiales; estas son el módulo de almacenamiento o elástico (G') y el módulo de pérdida o viscoso (G''):

$$G' = \left(\frac{\sigma_0}{\gamma_0} \right) \cos(\delta) \quad 1.10$$

$$G'' = \frac{\sigma_0}{\gamma_0} \text{sen}(\delta) \quad 1.11$$

Estas funciones presentan la ventaja de tener sentido físico. Así, el módulo de almacenamiento, G' , con la parte de energía que queda almacenada y puede recuperarse. Es decir, es una medida de la elasticidad. El módulo de pérdidas, G'' está relacionado con la energía que se disipa. Es, por lo tanto, una medida del carácter viscoso del material.

Otra relación útil que permite evaluar el comportamiento viscoelástico de un material es la tangente del ángulo de desfase ($\tan \delta$). Es un parámetro adimensional que compara la cantidad de energía cedida durante un ciclo de deformación con la energía almacenada en dicho período (Ferry, 1980).

$$\tan(\delta) = \frac{\text{sen}(\delta)}{\cos(\delta)} = \frac{G''}{G'} \quad 1.12$$

1.4.4. Modelos analógicos mecánicos de materiales viscoelásticos

Los ensayos viscoelásticos reseñados en los apartados anteriores sirven, en principio, para propósitos comparativos, es decir, para comparar dos materiales y decidir cuál es más elástico o más viscoso. Sin embargo, la relación entre las diferentes funciones no es inmediata, y deberían realizarse todos los ensayos para conocerlas todas. Para evitar

esto, es importante la postulación de modelos mecánicos que representen el comportamiento del material y permitan relacionar las diferentes funciones viscoelásticas mediante un tratamiento matemático sencillo.

Un material elástico puro puede ser representado por un resorte que siga la ley de Hooke, según la Ec. 1.13, de manera que el esfuerzo interno (σ) resulta directamente proporcional a la deformación instantánea (γ). Un material viscoso puro se puede describir, análogamente, por un amortiguador hidráulico que siga la ley de Newton (Ec. 1.4). Por tanto, un material viscoelástico debería poder ser representado por una combinación de amortiguadores y resortes situados apropiadamente en serie y/o en paralelo (Ferry, 1980). Las combinaciones más simples comúnmente utilizadas son las de un resorte y un amortiguador en serie (modelo de Maxwell) como se representa en la Figura 1.10.

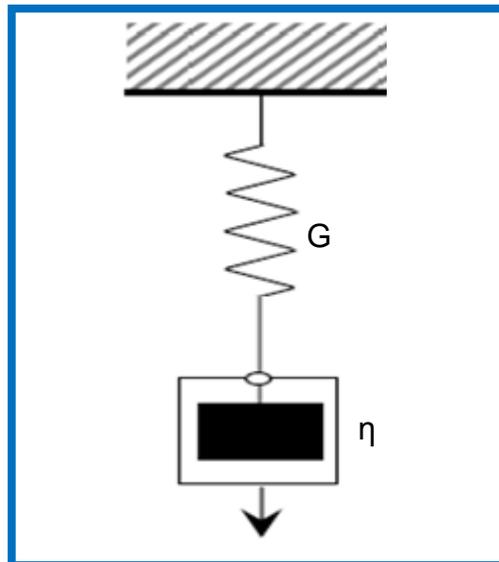


Figura 1.10. Esquema de resorte y amortiguador del modelo mecánico de Maxwell.

En el modelo de Maxwell, la deformación total será la suma de las deformaciones de los elementos resorte y amortiguador colocados en serie. Si esto se expresa de modo diferencial se obtiene para la velocidad de deformación la expresión:

$$\frac{d\gamma}{dt} = \dot{\gamma} = \frac{1}{G} \frac{d\sigma}{dt} + \frac{\sigma}{\eta} \quad 1.13$$

Si se aplica esta ecuación a los ensayos de viscoelasticidad descritos, y se define como tiempo de relajación la variable $\lambda = \eta/G$, que tiene unidades de tiempo e indica el tiempo que tarda un material en adaptarse al flujo, se obtiene:

$$G(t) = G e^{-t/\lambda} \quad 1.14$$

$$G'(\omega) = \frac{G(\omega\lambda)^2}{1+(\omega\lambda)^2} \quad 1.15$$

$$G''(\omega) = \frac{G(\omega\lambda)}{1+(\omega\lambda)^2} \quad 1.16$$

Para describir el comportamiento viscoelástico de un fluido de Maxwell, basta conocer dos parámetros, correspondientes a elementos mecánicos utilizados, la constante del resorte G y la viscosidad del amortiguador η , o bien G y el tiempo de relajación λ .

Los modelos matemáticos aplicados a sistemas tipo geles cárnicos emulsionados, resultan de utilidad ya que pueden ser empleados para comprender la estructura desarrollada, caracterizar y predecir el comportamiento mecánico de dichos sistemas frente a perturbaciones propias del procesamiento.

CAPÍTULO 2

Objetivos

2.1. Objetivo general

El objetivo de este trabajo de **Tesis** fue brindar alternativas tecnológicas para el desarrollo de productos cárnicos emulsionados gelificados, magros, de buena calidad nutricional, maximizando los atributos de calidad (sabor, textura, seguridad sanitaria, etc) de manera tal que puedan ser producidos y comercializados exitosamente por la industria alimentaria. Tales alimentos, de mejor valor nutricional pero similares características respecto a los tradicionales, serían una alternativa que permitiría al consumidor disminuir la ingesta de grasa saturada y sal, aumentar el consumo de ácidos grasos poli-insaturados, sin cambiar sus hábitos alimenticios.

2.2. Objetivos específicos

Los objetivos específicos abordados en esta **Tesis**, fueron los siguientes:

- 1) Incorporar aceite de pescado pre-emulsificado con proteínas no cárnicas en la formulación de salchichas tipo Viena, magras, elaboradas con carne vacuna, reemplazando así la grasa de origen animal, y mejorar la estabilidad del producto mediante el agregado de hidrocoloides a fin de obtener características similares a un producto tradicional.
- 2) Evaluar el efecto de la inclusión de distintos hidrocoloides y proteínas no cárnicas sobre las características fisicoquímicas y parámetros de calidad del producto obtenido.
- 3) Estudiar la evolución térmica de las distintas formulaciones identificando los procesos que ocurren, y relacionarlos con los cambios en sus características reológicas y texturales, para interpretar posibles interacciones entre la matriz cárnica y los biopolímeros incorporados.
- 4) Estudiar en sistemas modelo de geles mixtos el efecto de la combinación de hidrocoloide-proteína no cárnica sobre la capacidad de gelación y características obtenidas, a fin de seleccionar la combinación de los mismos que pueda ser aplicada en la formulación de este producto para obtener características similares a un producto tradicional.
- 5) Analizar el efecto de la variación en la relación hidrocoloide:proteína no cárnica seleccionada sobre los distintos parámetros de calidad: rendimiento, pérdidas por centrifugación y textura de los geles cárnicos emulsionados. Establecer la combinación óptima de hidrocoloide y proteínas no-cárnicas a incorporar.

- 6) Asegurar la estabilidad oxidativa de productos emulsionados almacenados bajo vacío en condiciones de refrigeración mediante la inclusión de antioxidantes naturales y/o sintéticos.
- 7) Evaluar los cambios en los diferentes parámetros de calidad (pérdida de peso, textura, color, oxidación lipídica, perfil de ácidos grasos, desarrollo microbiano y calidad sanitaria) que ocurren durante el almacenamiento refrigerado bajo vacío del producto desarrollado.
- 8) Analizar el efecto del reemplazo parcial de sales de sodio por sales de potasio sobre los parámetros de calidad (rendimiento, textura, aceptabilidad sensorial) mediante un diseño de mezclas de tres componentes (NaCl, KCl y tripolifosfato sódico), determinando la formulación que optimiza las características del producto para asemejarlo al tradicional no sustituido.
- 9) Evaluar los cambios en los parámetros de calidad durante el período de almacenamiento bajo vacío refrigerado del producto de bajo contenido de grasas saturadas y sodio.

CAPÍTULO 3

Efecto del agregado de diferentes proteínas no cárnicas o hidrocoloides sobre las propiedades fisicoquímicas, térmicas, reológicas y parámetros de calidad de geles cárnicos emulsionados con aceite de pescado.

3.1. Introducción

Los productos cárnicos son una de las principales fuentes de la grasa dietaria y dado que las relaciones ácidos grasos poli-insaturados/saturados y n-6/n-3 de algunas carnes se alejan mucho de los valores recomendados, cambios en la cantidad y el perfil lipídico de dichos productos podrían ayudar a incrementar su calidad nutricional.

Los aceites de origen marino se han empleado con anterioridad como componente de emulsiones cárnicas magras saludables. La principal ventaja del empleo de esta fuente lipídica es su elevado contenido de ácidos grasos poli-insaturados n-3 de cadena larga (AGPI), principalmente ácido eicosapentaenoico (EPA) y docosahexaenoico (DHA). Como se dijo en la introducción, estos AGPI son esenciales para el buen funcionamiento del organismo, participando en numerosas vías metabólicas.

Los dos problemas asociados con su empleo son la susceptibilidad a la oxidación lipídica y el aroma y sabor residual a pescado. Estos problemas pueden siempre ser minimizados por refinado y deodorizado del aceite, y por aplicación de diversas estrategias antioxidantes.

Comparado con las grasas habitualmente utilizadas, estas fases grasas de origen marino tienen características fisicoquímicas diferentes lo que implica que las condiciones de procesamiento deben ser modificadas para lograr los atributos deseados de calidad en los productos reformulados. La metodología empleada para incorporarlas varía desde el agregado directo como aceite líquido o sólido (incluyendo aceite interesterificado) hasta la incorporación en forma encapsulada o pre-emulsificada o como parte de ingredientes vegetales (Jiménez-Colmenero, 2007).

Algunos investigadores han reemplazado la fase grasa tradicional de emulsiones cárnicas por aceite comercial de algas (Lee y col., 2006a; Lee y col., 2006b), obteniendo productos con buena estabilidad de emulsión y logrando mantener su calidad durante el almacenamiento refrigerado y congelado. Por otra parte, Valencia y col. (2006a) reemplazaron parcialmente la fase grasa por aceite del alga *Schizochytrium spp.* en la formulación de salchichas fermentadas, logrando aspectos de calidad similares al producto tradicional, pero con un significativo incremento en el aporte de DHA.

En estudios previos del grupo de trabajo se evaluó el efecto de la reducción de la grasa (con incremento del contenido de agua) y el agregado de proteínas de suero lácteo e hidrocoloides (gomas guar y xántica) sobre la textura, microestructura y capacidad de retención de agua de salchichas de pollo con bajo contenido graso, obteniendo productos de buena calidad y atributos sensoriales. Además se formularon salchichas de pollo magras utilizando como fase grasa aceite de origen marino pre-emulsificado lográndose

productos con buena estabilidad durante el almacenamiento refrigerado (Andrés y col., 2006, 2008, 2009).

La pre-emulsificación es la formación de una emulsión aceite/agua con un emulsificante, típicamente una proteína no cárnica, antes de la elaboración del producto y agregada al mismo como ingrediente graso. Esta metodología incrementa la habilidad del sistema de inmovilizar grasa, ya que el aceite puede ser estabilizado o inmovilizado en la matriz proteica. Esto reduce la posibilidad de separación física de aceite desde la estructura del producto cárnico por lo que se mantiene estable durante su procesamiento, almacenamiento y consumo. Además, esta pre-emulsificación constituye una excelente manera de incrementar la estabilidad oxidativa de los lípidos, como una medida protectora adicional además de los antioxidantes que pueden ser usados para inhibirla. Asimismo, son más fáciles de dispersar en sistemas acuosos como son los productos cárnicos (Jiménez-Colmenero, 2007).

Se puede encontrar en la literatura, en un amplio rango de condiciones (por ejemplo, diferentes tipos de carne y fuentes de lípidos, distinta composición proximal, contenido de NaCl), una gran cantidad de información sobre el comportamiento de diferentes aditivos empleados en pastas cárnicas emulsionadas. Sin embargo se hace difícil comparar, en diversos sistemas, el efecto de cada aditivo para diferentes propiedades tales como el rendimiento, el peso perdido por centrifugación, color, textura y características viscoelásticas. Por ejemplo, se ha encontrado una correlación positiva entre la capacidad de retención de agua con el contenido de carragenanos agregados a salchichas bajas en grasa (Verbeken y col, 2005). Por el contrario, también se ha informado que la adición de carragenanos parece no tener ningún o un muy limitado efecto en la capacidad de retención de agua de otros geles cárnicos (Bernal y col, 1987; Foegeding y col, 1987; Barbut y Mittal, 1992).

Si bien existe una amplia lista de hidrocoloides y proteínas no cárnicas que se pueden incorporar en la formulación de emulsiones cárnicas con aceite de pescado, para el desarrollo de este **Capítulo** se eligió trabajar con los siguientes compuestos:

3.1.1. Derivados de celulosa

La celulosa es el principal componente de las paredes celulares de plantas y algas verdes. Este polímero se presenta en un 40 – 50% en la madera, en un 80% en fibras de lino y en un 90% en las fibras de algodón (Marchessault y Sundararajan, 1983). La purificación comercial de la celulosa se realiza a partir de las fibras de algodón y de la pulpa de madera. Químicamente difiere del almidón simplemente por tener uniones β -(1 \rightarrow 4) en lugar de α -(1 \rightarrow 4) entre las unidades de glucosa.

Es posible mejorar las propiedades funcionales de la celulosa a través de modificaciones que pueden ser físicas o químicas. Si bien existen numerosos derivados obtenidos por modificaciones químicas de la celulosa natural, sólo unos pocos éteres de celulosa han encontrado aplicación en la industria alimentaria. Los derivados más comúnmente usados son la carboximetilcelulosa, metilcelulosa, e hidroxipropilmetilcelulosa. Estos dos últimos son empleados debido a su capacidad de formar geles termorreversibles y por sus propiedades interfaciales (Kobashashi y col., 1999; Sarkar y Walker, 1995).

La hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) es un derivado de celulosa que forma parte de una familia que incluye entre otros a la metilcelulosa (MC), en la cual los sustituyentes son grupos metilo, y a la metilhidroxietilcelulosa, la que posee como sustituyentes grupos hidroxietilo hasta en un 5%. La HPMC presenta en su cadena grupos metilo e hidroxipropilos (Figura 3.1). Difieren principalmente entre sí en su peso molecular, viscosidad y grado de sustitución (Sarkar y Walker, 1995).

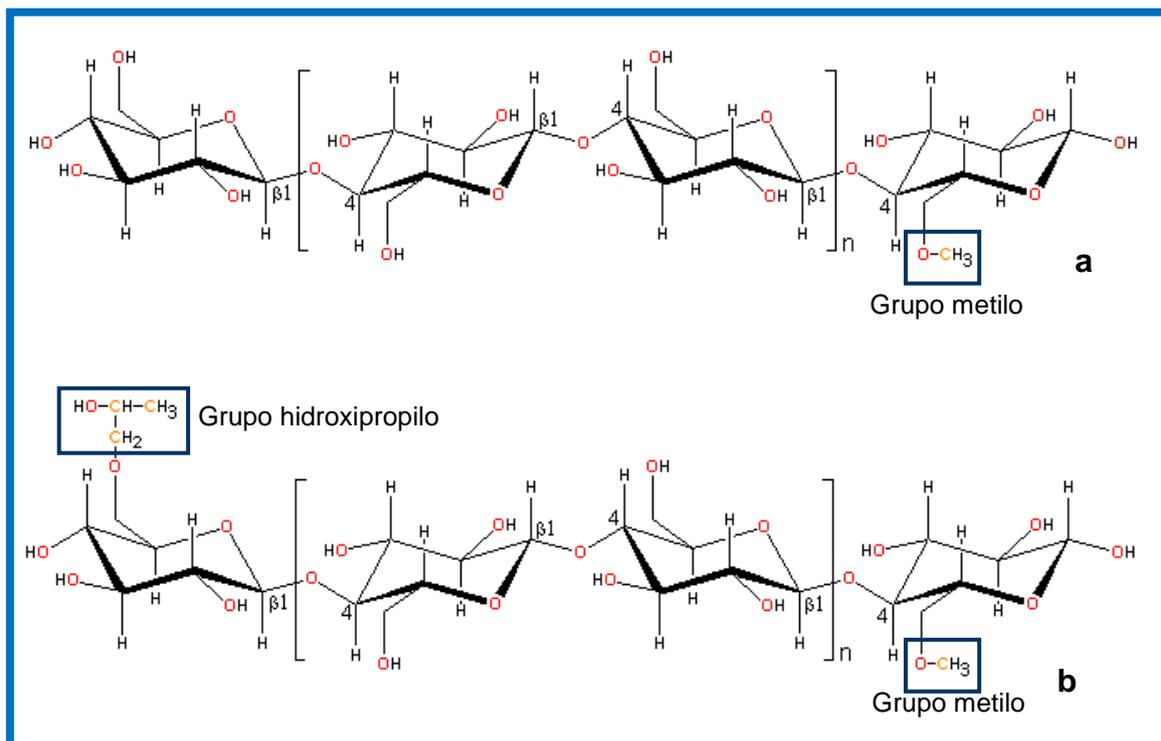


Figura 3.1. Estructura química de: **a)** metilcelulosa y **b)** hidroxipropilmetilcelulosa.

A lo largo de la cadena de celulosa, los grupos metilos constituyen zonas hidrofóbicas mientras que los grupos hidroxipropilos son más hidrofílicos. La introducción de estos sustituyentes permite a la HPMC comportarse como surfactante. La concentración de este polisacárido en la interfase de soluciones diluidas puede ser varias veces superior. Esta propiedad puede entonces conducir a la estabilización de espumas y emulsiones. La

HPMC tiende a concentrarse en interfases tanto aire-agua como aceite-agua (Daniels y Barta, 1993,1994; Ochoa y Buckton, 1996; Wollenweber y col., 2000). Con el incremento en el grado total de sustitución, la hidrofobicidad del polisacárido y así su actividad interfacial aumentan (Pérez y col., 2006; Wollenweber y col., 2000). Sarkar y Walker (1995) informaron que la metilcelulosa se asocia aún a temperatura ambiente y que este proceso puede influir en su capacidad para hidratarse y deshidratarse.

La utilidad de los éteres no iónicos de celulosa se basa fundamentalmente en cuatro atributos: son espesantes eficientes, presentan actividad superficial, tienen la habilidad de formar películas interfaciales y capacidad de formar geles termorreversibles.

3.1.2. Goma Xántica

La goma xántica es un exopolisacárido producido por fermentación aeróbica por la bacteria *Xanthomonas campestris*. En la naturaleza, este polímero es producido para mantener a la bacteria adherida a diferentes vegetales. Desde el punto de vista químico puede considerarse un polielectrolito aniónico, cuya estructura se muestra esquemáticamente en la Figura 3.2.

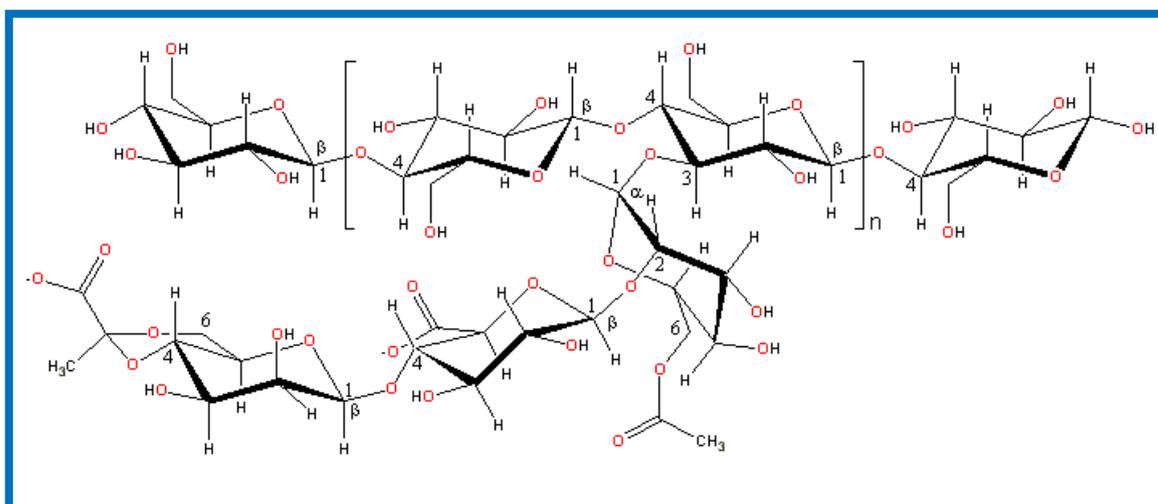


Figura 3.2. Estructura molecular de la goma xántica.

Dicha estructura consiste en un esqueleto de glucosas unidas por enlaces β -(1 \rightarrow 4) como en la celulosa, pero cada dos residuos de glucosa existe una cadena lateral constituida por un trisacárido cargado de unidades de β -D-manopiranosil- β -(1 \rightarrow 4)-D-glucuronopiranosil-(1 \rightarrow 2)-6-o-acetil- β -D-manopiranosil, con aproximadamente la mitad de ellos teniendo un ácido pirúvico unido al acetal cíclico en posición 4,6 (BeMiller y Whistler, 1996). Cada molécula está constituida por unos 7000 pentámeros, su peso molecular se

encuentra en el rango comprendido entre 0.9 a 1.6 millones y es menos polidispersa que la mayoría de los hidrocoloides.

El éxito comercial de la goma xántica se debe a su elevada viscosidad, tolerancia al NaCl, estabilidad térmica y compatibilidad para ser utilizada en alimentos (Kwon y col., 1987). Sus soluciones presentan alta viscosidad frente a bajas velocidades de deformación y ante el incremento del esfuerzo comienzan a fluir fácilmente. Estas propiedades la tornan útil para su aplicación en aderezos para ensaladas, evitando el cremado de las gotas de aceite cuando se encuentra en reposo y pudiendo fluir cuando se agita el envase.

3.1.3. Goma Garrofín

La goma garrofín se extrae de las semillas del algarrobo (*Ceratonia siliqua*), que es muy abundante en la región mediterránea, aunque su localización se extiende también a las distintas regiones de África del Norte, América del Sur y Asia. El polisacárido también se conoce en la literatura por varios otros sinónimos, tales como goma de algarroba, goma de semilla de algarrobo, harina de algarroba, o incluso ceratonia (Rowe y col., 2006).

Químicamente, la goma garrofín consiste en un esqueleto de β -(1 \rightarrow 4)-D-manosa con cadenas laterales (1 \rightarrow 6)-enlazadas de α -D-galactosa (Rowe y col., 2006) resultando neutras estas cadenas poliméricas (Figura 3.3).

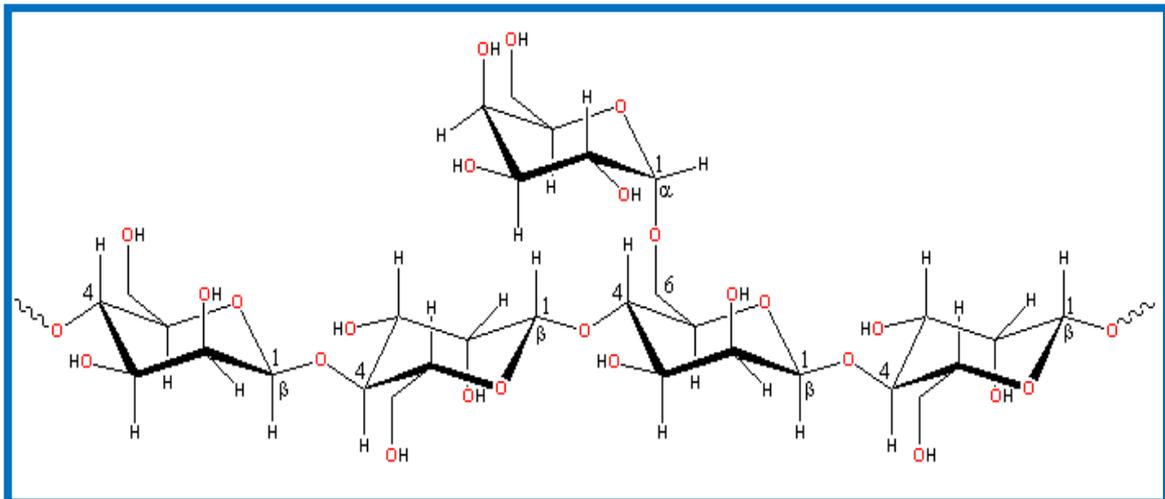


Figura 3.3. Estructura molecular de la goma garrofín.

Es importante mencionar que las cadenas laterales de galactosa no están espaciadas regularmente, sino que se pueden identificar regiones “ramificadas” y regiones “lisas”. La relación de manosa/galactosa (M/G) resulta específica para la goma garrofín.

Aproximadamente la relación M/G es 4:1. Estas relaciones se refieren siempre como aproximadas, debido a su dependencia con los diversos orígenes de materiales y las condiciones de crecimiento de las plantas durante la producción.

La goma garrofín se considera polidispersa desde un punto de vista químico. Polidispersión es, en este caso, un resultado directo de tres tipos de variaciones estructurales:

- grado de sustitución con galactosa
- los patrones de los grupos laterales de galactosa
- longitud de cadena o grado de polimerización

Todas estas variaciones están directamente relacionadas con los mecanismos de biosíntesis (Pollar y col., 2008). Es importante destacar que, diferentes grados de sustitución de la cadena de manosa afectará a la solubilidad del polímero, por ejemplo, entre diferentes proveedores. Este es posiblemente uno de los mayores inconvenientes que presenta este polisacárido.

3.1.4. Combinación sinérgica de gomas xántica y garrofín

Varios estudios indican que ocurre una interacción entre las cadenas laterales de la goma xántica y el esqueleto de la goma garrofín (BeMiller y Daniels, 2002; Prajapati y col., 2013). Esta interacción se puede representar como un modelo de llave-cerradura (Figura 3.4), en la que una cadena de goma xántica podría asociarse con una, dos, o más moléculas de goma garrofín (Morris y col., 1980; Tako y col., 1984).

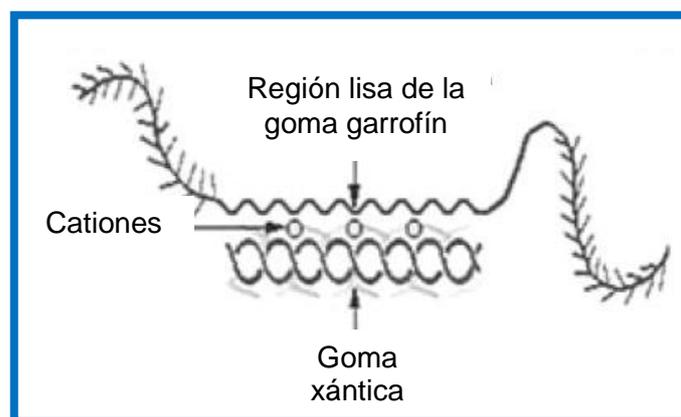


Figura 3.4. Interacción de las gomas xántica y garrofín

La presencia de cationes puede favorecer la interacción entre ambas cadenas, lográndose geles con mayor dureza y capacidad de retención de agua. A temperaturas

superiores a la temperatura de transición hélice-ovillo para la unión entre los dos polímeros, se puede lograr la formación de fuertes geles elásticos (Renou y col., 2013).

3.1.5. Carragenanos

El nombre de carragenano procede supuestamente del lugar de Carrageen (Carragheen o Carrigeen), en el condado de Waterford, en Irlanda. Sin embargo, probablemente el nombre del lugar proceda a su vez de una expresión gaélica antigua para designar el alga, "*cosáinín carraige*".

Los carragenanos son moléculas grandes, altamente flexibles que se curvan formando estructuras helicoidales. Esto les da la capacidad para formar una variedad de diferentes geles a temperatura ambiente. Se utilizan ampliamente en las industrias alimentarias y otras, como espesantes y estabilizantes.

Todos los carragenanos son polisacáridos de alto peso molecular, compuestos de unidades repetitivas de galactosa y 3,6 anhidrogalactosa (3,6-AG), ambos sulfatados y no sulfatados. Las unidades están unidas por la alternancia de enlaces glicosídicos α -(1→3) y β -(1-4).

Se destacan tres clases principales de carragenanos (Figura 3.5.):

- **Kappa (κ):** forma geles fuertes y rígidos, en presencia de iones potasio, reacciona con las proteínas lácteas. Se obtienen principalmente de *Kappaphycus alvarezii*.
- **Iota (ι):** forma geles blandos en presencia de iones calcio. Se produce principalmente a partir de *Eucheuma denticulatum*.
- **Lambda (λ):** no gelifica, y se utiliza para espesar productos lácteos. La fuente más común es *Gigartina* de América del Sur.

Las diferencias principales que influyen en las propiedades de kappa, iota y lambda carragenanos son el número y posición de los grupos sulfato en las unidades de galactosa que se repiten.

Al incrementarse la cantidad de sustituciones tienden a bajar la temperatura de solubilidad y producen geles de resistencia inferior, o en un caso de múltiples sustituciones se llega a la inhibición de la gelificación (lambda). Todos son solubles en agua caliente, pero en agua fría, sólo la forma lambda (y las sales de sodio de los otros dos) son solubles.

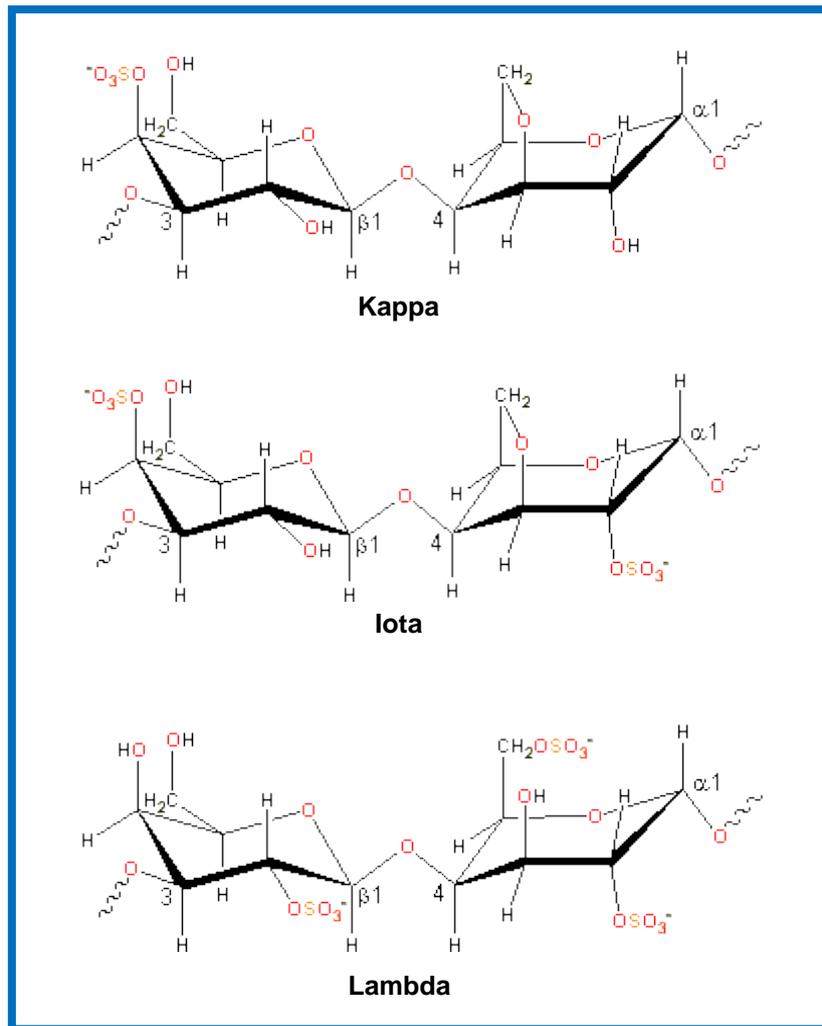


Figura 3.5. Estructura de las principales clases de carragenanos: kappa (κ), iota (ι) y lambda (λ).

3.1.6. Proteínas de leche

Se pueden distinguir dos grandes grupos de proteínas en la leche debido a grandes diferencias fisicoquímicas y funcionales: un primer grupo formado por las caseínas y un segundo grupo por el resto de las proteínas presentes.

3.1.6.1. Caseínas

Las caseínas constituyen alrededor del 76-86% de las proteínas de la leche (Fox, 1995). Son un conjunto heterogéneo de proteínas con una característica común: precipitan cuando se acidifica la leche a pH 4.6. Por otra parte, y aunque las proteínas que se denominan caseínas son específicas de cada especie, se clasifican en los siguientes grandes grupos de acuerdo con su movilidad electroforética: α_{s1} -caseína, α_{s2} -caseína, β -caseína y κ -caseína. Contienen un número inusual de residuos prolina en sus secuencias

aminoacídicas: entre 10 en la α_{s2} -caseína y 35 en la β -caseína. Como resultado, las caseínas son relativamente hidrofóbicas y carecen de estructura secundaria o terciaria bien definidas. En la leche forman las estructuras más grandes, de varios miles de moléculas de proteínas unidas con la ayuda de fosfato de calcio, complejos esféricos, altamente hidratados, denominados “micelas de caseína”, hidrofílicas en el exterior e hidrofóbicas en el interior, y se encuentran como suspensión. Estas micelas de caseína se estabilizan por iones de calcio e interacciones hidrofóbicas. Su tamaño puede variar de 30 a 300 nm de diámetro, con un pequeño porcentaje que puede llegar a los 600 nm (Fennema, 1996). Estas propiedades resultan de gran interés para la formación y estabilización de emulsiones cárnicas.

3.1.6.2. Proteínas del suero lácteo

Estas proteínas son más solubles en agua que las caseínas y no forman estructuras más grandes. Debido a que estas proteínas permanecen suspendidas en el suero durante la elaboración del queso cuando las caseínas coagulan, se las conocen colectivamente como proteínas de suero de leche. Las proteínas de suero constituyen aproximadamente el 20% de las proteínas de la leche, en peso. La β -lactoglobulina es la proteína de suero de leche más común por un amplio margen seguida de la α -lactoalbúmina (Fox, 1995).

- **β -lactoglobulina:** Está formada por una cadena de 162 aminoácidos con un peso molecular aproximado de 18400 Da. Puede formar geles en diversas condiciones, cuando la estructura nativa está suficientemente desestabilizada para permitir la agregación o bajo un calentamiento prolongado a bajo pH y fuerza iónica baja. Las moléculas de proteínas se ensamblan para formar las fibras largas rígidas que dan lugar a un gel. Las interacciones que pueden darse son del tipo covalentes, mediante grupos tiol (-SH) libres o no covalentes.
- **α -lactoalbúmina:** Su peso molecular es del orden de los 14000 Da, y el punto isoeléctrico está entre 4.2 y 4.5. Una de las principales diferencias estructurales con la β -lactoglobulina es que no tiene ningún grupo tiol libre que puede servir como el punto de partida para una reacción de agregación covalente. Como resultado, la α -lactoalbúmina pura no puede formar geles.

3.1.6.3. Concentrado de proteínas de suero lácteo (WPC)

El suero lácteo líquido es convertido en una variedad de concentrados de proteínas a través de diversas técnicas como electrodiálisis, intercambio iónico, filtración en gel, metafosfato complejante, ósmosis inversa o técnicas de ultrafiltración (Ensor y col., 1987; Marriott y col., 1998). De esta manera es comercializado como un sólido.

El concentrado de suero de leche, WPC (que significa en inglés Whey Protein Concentrate) es una mezcla heterogénea de proteínas no caseínicas de la leche. La concentración de proteínas suele encontrarse entre 80 y 85 g/100g.

La funcionalidad de estas proteínas está dada por su capacidad de interacción de forma simultánea con fases acuosas y grasa. Las proteínas del suero son adsorbidas en la interfase grasa/agua donde se desenrollan estabilizando así los glóbulos dentro de la matriz del alimento (Huffman, 1996). En las emulsiones cárnicas son ampliamente usados (El-Magoli y col., 1995, 1996; Barbut y Choi, 2007; Youssef y Barbut, 2011; Dickinson, 2012).

Sin embargo la funcionalidad de las proteínas puede ser alterada mediante modificaciones en las mismas. Estas modificaciones pueden ser químicas (hidrolizados) o físicas. Dentro de las modificaciones por métodos físicos, se destaca el tratamiento térmico. El tratamiento del WPC con elevadas temperaturas produce un impacto sobre la estructura de las proteínas, lo que se traduce como un cambio en su funcionalidad. Las proteínas se despliegan totalmente, lo que permite dirigir todos los restos aminoacídicos no-polares hacia la fase grasa y reducir la tendencia a formar agregados. Es probable que puedan formar una capa sobre el glóbulo graso más compacta en una emulsión (Monahan y col., 1996). También se reportó que la cantidad de proteína adsorbida en un glóbulo graso, aumenta con la temperatura del tratamiento térmico (Sliwinski y col., 2003).

3.1.6.4 Concentrado de proteínas totales de leche

Si se trata a la leche de manera similar (electrodialisis, intercambio iónico, filtración en gel, metafosfato complejante, ósmosis inversa o técnicas de ultrafiltración) que al suero líquido para obtener un concentrado proteico se puede obtener un concentrado de proteínas de leche. Este concentrado contiene la totalidad de las proteínas de leche. Por lo tanto presentará las propiedades funcionales descritas para el WPC, que son fundamentalmente la capacidad emulsionante, junto con las propiedades funcionales de las caseínas, principalmente su capacidad de formar geles. Las proteínas totales de leche se han empleado en diversos estudios como aditivos en sistemas cárnicos (Fox, 2003; Hsu y Sun, 2006; Youssef y Barbut, 2010).

3.1.7. Clara de huevo en polvo

La clara de huevo en polvo es ampliamente empleada en la industria alimentaria (Fernandez y col., 1998; Owusu-Apenten, 2000; Cully, 2007).

Las proteínas más abundantes son:

- **Ovoalbúmina:** representa entre el 60 al 65% de las proteínas de la clara de huevo. Además es la proteína de mayor valor biológico ya que tiene los nueve aminoácidos esenciales. Es llamada fosfogluco proteína integrada por tres fracciones, A1, A2 y A3, en una proporción de 85:12:3, respectivamente, que se diferencian por su contenido en fósforo (Huntington y Stein, 2001). Es rica en cisteína y metionina y presenta grupos tiol (-SH, siendo la única de las proteínas de huevo que posee esta característica) y se puede decir que la presencia de estos grupos hacen una gran contribución al sabor, textura y, aroma característicos del huevo. La ovoalbúmina posee 385 residuos de aminoácidos, y masa molecular relativa de 45000 Da. Presenta buenas propiedades gelificantes y espumantes, siendo utilizada en la preparación de productos horneados de panificación y repostería, también como ayudante en la incorporación de aire en los mismos, la espuma formada es estable. Las buenas propiedades gelificantes, se deben a la elevada proporción de aminoácidos hidrofílicos presentes en la ovoalbúmina (Huntington y Stein, 2001).
- **Conalbúmina:** (Ovotransferrina) es una glicoproteína que constituye entre un 12 a 14% del total de las proteínas de la clara de huevo. Posee un peso molecular de 77000 Da. Presenta a su vez, 686 residuos de aminoácidos con 15 puentes disulfuro. Posee una cadena única en el dominio C-terminal, compuesta de residuos de manosa y N-acetilglucosamina. La función de la misma consiste en ligar los iones Fe^{2+} con el objetivo de dificultar la disponibilidad del mismo y de esta manera evitar el crecimiento microbiano (Mine, 1995).
- **Ovomucoide:** alcanza una proporción del 11% del total de las proteínas de la clara de huevo. Es causante de muchas de las respuestas alérgicas al huevo. Se caracteriza por su actividad inhibidora de tripsina. Tiene una masa molecular de 28000 Da. Presenta nueve puentes disulfuro y consta de tres dominios inhibidores de tripsina en tándem (Huntington y Stein, 2001).

3.2. Objetivos específicos del Capítulo

El efecto del agregado de hidrocoloides o proteínas no cárnica en emulsiones cárnica se encuentra descrito en la bibliografía, principalmente referido a formulaciones conteniendo grasa sólida como fase lipídica, sin embargo, resulta difícil de comparar el efecto de cada componente ya que las matrices estudiadas varían. Por lo tanto surge la necesidad de sistematizar la comparación del efecto del agregado de estos diversos componentes a una emulsión cárnica formulada con aceite de origen marino.

Si bien existen en el mercado una amplísima diversidad de hidrocoloides o proteínas no cárnicas que pueden ser empleadas, se seleccionaron ocho. Por lo tanto, en este **Capítulo** se realizará un estudio comparativo del impacto que genera el agregado de metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, carragenanos (combinación de iota y kappa), combinación de gomas xántica y garrofín, concentrados de proteínas de suero de leche, proteínas de suero de leche modificadas por tratamiento térmico, proteínas de leche o clara de huevo en una emulsión cárnica magra, cuando se reemplaza la grasa de origen animal por aceite de pescado.

Para ello se propuso:

1. Evaluar las características fisicoquímicas y parámetros de calidad de formulaciones conteniendo distintas proteínas no cárnicas o hidrocoloides y comparar con controles sin aditivo, con grasa o aceite de pescado.
2. Comparar la estabilidad de las emulsiones cárnicas cuando son sometidas al tratamiento térmico y las características texturales de los diferentes productos cocidos obtenidos; comparando, además, con los resultados correspondientes a formulaciones sin aditivos, conteniendo grasa vacuna o aceite de pescado, consideradas control.
3. Identificar los procesos que ocurren durante el tratamiento térmico y relacionarlos con los cambios en sus características reológicas.
4. Relacionar las propiedades térmicas y reológicas con las características fisicoquímicas y parámetros de calidad del producto (rendimiento, pérdidas por centrifugación, color y textura).

3.3. Materiales y Métodos

3.3.1. Materiales

Para la elaboración de los productos se utilizó nalga adquirida en un comercio local. Este corte está descrito bajo el código 2464 del Anexo del nomenclador para carnes bovinas (SENASA, 1999) como nalga de adentro sin tapa. El corte quedó integrado por los músculos *adductor femoris* y *semimembranosus*. Se extrajeron completamente los depósitos de grasa visible.

Como sustituto de la fase grasa se utilizó aceite de origen marino, que correspondió a un lote de aceite de raya, el cual fue previamente refinado y deodorizado, con 1000 ppm de mezcla de tocoferoles agregados por el productor (Omega Sur S.A., Mar del Plata, Argentina). En la formulación control con grasa, se empleó grasa bovina (Reciento, Lomas del Mirador, Argentina) como fase grasa.

Se adicionó 1 g de los siguientes agentes estabilizantes y/o emulsionantes cada 100g de emulsión cárnica:

- proteínas no cárnicas:
 - clara de huevo en polvo (CH, Tecnovo S.A., Crespo, Entre Ríos, Argentina), con una concentración de proteínas de 78%,
 - concentrado de proteínas lácteas (L, Milkaut S.A., Franck, Santa Fe, Argentina), con un contenido de proteínas de 80%,
 - concentrados de proteínas de suero de leche modificado térmicamente y estándar (WPCmod y WPC, respectivamente, Arla Foods Ingredients S.A., Martínez, Buenos Aires, Argentina) con un contenido de proteínas de 78%.
- hidrocoloides:
 - metilcelulosa (MC, Droguería Saporiti, Buenos Aires, Argentina),
 - hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC, Droguería Saporiti, Buenos Aires, Argentina),
 - carragenanos iota (I) y kappa (κ) usados en una proporción κ :I 2:1 (Candogan y Kolsarici, 2003) (Carr, Fluka BioChemika, EE.UU.),
 - goma xántica en combinación con goma garrofín (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EE.UU.) en una relación xántica:garrofín 2:1 (XL).

Se estudiaron además dos formulaciones control, ambas sin estabilizantes y/o emulsionantes agregados, y reemplazando 1 g/100g correspondiente a dicho agregado por carne:

- Control con 5g /100g de grasa bovina (CG).
- Control con 5g /100g de aceite de pescado (CA).

Se emplearon, además, sal (NaCl), tripolifosfato de sodio (TPP), pimienta y nuez moscada. Además se incluyeron preservadores como nitrito de sodio (NaNO₂) y eritorbato de sodio en niveles permitidos por el Código Alimentario Argentino (CAA, 2013). Todos los reactivos empleados en los ensayos fueron de grado alimentario o superior.

En la Tabla 3.1 se muestra la proporción de componentes variables incorporados a las mismas, mientras que en la Tabla 3.2 se presentan los ingredientes comunes a las distintas formulaciones de salchichas estudiadas.

Tabla 3.1. Componentes variables (g/100g formulación cruda) de las formulaciones estudiadas.

| Componente | Formulaciones | | | | | | | | | | |
|----------------------------|------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|---|
| | L | WPC | WPCm | CH | HPMC | MC | Carr | XL | CA | CG | |
| Aceite de pescado (g/100g) | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | - | |
| Grasa vacuna (g/100g) | - | - | - | - | - | - | - | - | - | 5 | |
| Carne (g/100g) | 67.1 | 67.1 | 67.1 | 67.1 | 67.1 | 67.1 | 67.1 | 67.1 | 68.1 | 68.1 | |
| Aditivo | (g/100g) | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | - | - |
| | Tipo de aditivo* | L | WPC | WPCm | CH | HPMC | MC | Carr | XL | - | - |

* WPC = proteínas de suero de leche; WPCMod = proteínas de suero de leche tratado térmicamente; L = proteínas de leche, CH = clara de huevo, Carr = (2:1) κ:ι – carragenanos, HPMC = hidroxipropilmetilcelulosa, MC = metilcelulosa, XL = combinación (2:1) de gomas xántica y garrofín, CG = control con grasa, CA = control con aceite.

Tabla 3.2. Componentes comunes (g/100g) a todas las formulaciones de salchichas estudiadas.

| Componente | g/100g |
|---------------------|--------|
| Agua | 25 |
| NaCl | 1.4 |
| TPP | 0.2 |
| Eritorbato de sodio | 0.045 |
| NaNO ₂ | 0.015 |
| Pimienta | 0.2 |
| Nuez moscada | 0.05 |

3.3.2. Elaboración

Para la elaboración de las distintas formulaciones a estudiar se siguieron las etapas descritas a continuación según la metodología de Andrés y col. (2009):

1. Para la trituración-homogeneización de la materia prima, la carne (9 kg, cuatro músculos, pH: 5.48 ± 0.01 ; lípidos totales: 1.3 ± 0.17 g/100g) sin grasa ni tejido

conectivo visible se procesó empleando una picadora con un plato con orificios de 0.95 cm diámetro (Meifa32, Buenos Aires, Argentina) de manera de lograr un único “batch” de carne y así evitar diferencias en las determinaciones que puedan surgir debido a la variabilidad bioquímica intrínseca de los cortes provenientes de distintos animales. Luego este batch fue fraccionado convenientemente (500g aprox.) en bolsas para envasado bajo vacío (Cryovac BB4L, Sealed Air Co., Buenos Aires, Argentina; PO_2 : $35 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ día}^{-1} \text{ bar}^{-1}$ a $23 \text{ }^\circ\text{C}$), congelado a -20°C y empleado dentro los 21 días posteriores a su preparación (Ayo y col., 2005). El día previo a la elaboración del producto, se descongeló la fracción a utilizar dejando toda la noche a 4°C .

2. Se realizó una segunda trituración de la carne junto con las sales (NaCl y TPP) en procesadora (Universo, Rowenta, Alemania) durante 5 minutos. El tiempo de contacto entre las sales y la carne antes de continuar con la elaboración fue al menos de 2 minutos (Vaudagna y col., 2008).
3. Por otro lado, empleando un homogeneizador manual (Minipimer MR 390G, Argentina) se preparó la emulsión con el aceite de pescado y el agua conteniendo los distintos hidrocoloides o proteínas no cárnicas, así como los demás ingredientes disueltos, emulsificando durante un minuto.
4. Seguido a esto, se incorporó la emulsión a la mezcla de carne y sales. Se procedió a realizar un mezclado en la procesadora por 5 minutos a la máxima velocidad. La temperatura final de la mezcla se mantuvo entre 12 y 15°C . Para la elaboración de la formulación control (CG) se siguió un proceso distinto ya que no se realizó una etapa de pre-emulsificación. Los componentes fueron incorporados a la carne con las sales, concluyendo con el agregado de la materia grasa finamente particulada, a temperatura ambiente, según Andrés y col., (2006).
5. Una vez obtenida la pasta se embutió en tripa celulósica (22 mm de diámetro) empleando una embutidora manual vertical (Santini, Marostica, Italia) obteniendo piezas de 8 cm de longitud. La cocción se realizó colocando las salchichas obtenidas en bolsas cook-in (3 o 4 por bolsa) (Cryovac CN510, Sealed Air Co., Buenos Aires, Argentina) y sometidas a un tratamiento térmico por inmersión en baño de agua de temperatura controlada (Haake L, Haake Buchler Instruments, Karlsruhe, Alemania) a 80°C hasta lograr una temperatura interna final de 74°C de acuerdo a las recomendaciones de USDA-FSIS (2006, 2008).

El tiempo de cocción fue determinado en un ensayo previo donde la temperatura fue monitoreada mediante una termocupla tipo T (cobre-constantan) insertada en el centro de una salchicha, y conectada a un sistema de adquisición (TESTO175, Testo AG,

Lenzkirch, Alemania). El tiempo de cocción se fijó, entonces, en 11.5 min, que incluye un margen de seguridad de 30 seg.

Inmediatamente después del tratamiento térmico, las muestras dentro de las bolsas fueron enfriadas en un baño agua-hielo. Una vez obtenidas las muestras fueron almacenadas a 4°C en bolsas para envasado bajo vacío (Cryovac BB4L, Sealed Air Co., Buenos Aires, Argentina; PO₂: 35 cm³ m⁻² día⁻¹ bar⁻¹ a 23 °C) hasta su posterior análisis (24-48 h).

3.3.3. Composición proximal y valor nutricional

Para cada formulación se determinó por duplicado el contenido de humedad, lípidos, cenizas y proteínas, empleando los métodos AOAC (1984), 24.003, 24.005 24.003 y 24.027 respectivamente. Los contenidos de hidratos de carbono se calcularon por diferencia.

3.3.3.1. Determinación de humedad

Se determinó el contenido de humedad mediante método indirecto (AOAC, 1984, 24.003). Se pesaron aproximadamente 2 g de muestra triturada y homogeneizada en cristizador, y se secó a 105 ± 2°C en una estufa de vacío (Instrumentación Científica, Bs As., Argentina) hasta constancia de peso. El contenido porcentual de humedad en las muestras se calculó por diferencia de pesada.

3.3.3.2. Determinación de proteínas

Se determinó el contenido de proteínas totales en los productos mediante el método de Kjeldahl-Arnold-Gunning (AOAC, 1984, 24.027). Consiste en la determinación del contenido de nitrógeno total (N) presente en la muestra, que está relacionado directamente con la cantidad de proteínas, tras eliminar la materia orgánica con H₂SO₄.

Es importante remarcar que con este método no se determinan sólo proteínas o aminoácidos libres, sino también ácidos nucleicos y sales de amonio y también nitrógeno ligado de compuestos orgánicos o vitaminas, no obstante, en este caso el contenido de estos componentes es de nivel traza, el error así cometido se considera despreciable.

La muestra (aprox. 1 g) se sometió a un tratamiento oxidativo en caliente en un digestor (K-435 Büchi Labortechnik AG), con H₂SO₄ concentrado en presencia de una mezcla catalizadora (1:10 - CuSO₄:K₂SO₄). Del (NH₄)₂SO₄ formado se liberó el NH₃ por tratamiento alcalino con NaOH 32 g/100g en una unidad de destilación (K-350 Büchi Labortechnik AG), empleando una corriente de vapor y colectando el NH₃ en un recipiente con H₃BO₃ 4 g/100g. Finalmente se realizó una titulación con una solución valorada de H₂SO₄.

El contenido porcentual de proteína en la muestra se calculó teniendo en cuenta el contenido medio en nitrógeno de la proteína cárnica, factor 6.25 g proteína/g N. A su vez se realizó por duplicado una determinación del blanco de reactivos de manera análoga a lo detallado anteriormente, pero sin la adición de muestra.

3.3.3.3. Determinación del contenido de lípidos

Se determinó el contenido de lípidos en los productos mediante el método de Soxhlet (método 24.005, AOAC, 1984).

Se colocaron aproximadamente 5g de muestra, previamente triturada y mezclada con abundante Na_2SO_4 anhidro (desecante), en un cartucho de papel de filtro, que posteriormente fue colocado en el tubo de extracción del equipo. Se agregó el solvente, éter de petróleo (P_{eb} : 35-60°C) y se conectó con una línea refrigerante. La extracción se realizó a reflujo durante 8 ciclos de extracción, sobre manta calefactora. Una vez finalizada, se eliminó el solvente por evaporación obteniéndose la fracción lipídica de las muestras. Se calculó el contenido de lípidos como porcentaje en peso de las muestras analizadas.

3.3.3.4. Cenizas totales

Se determinaron los residuos de incineración o cenizas, refiriéndose al residuo que queda tras la calcinación completa de los componentes orgánicos de un alimento en condiciones determinadas. Este residuo, se corresponde con el contenido de minerales del alimento (AOAC, 1984, 24.003).

En primer lugar se calcinaron las cápsulas de porcelana a 900°C en mufla, se enfriaron en desecador y pesaron al tomar temperatura ambiente. Esta calcinación previa se realizó para eliminar cualquier vestigio orgánico que puedan tener las capsulas.

Empleando las cápsulas así preparadas se realizó la carbonización de aproximadamente 1.5 g de muestra sobre triángulo de pipas y mechero, hasta lograr un residuo carbonoso. Luego se procedió a calcinar en mufla a 500-550°C hasta obtenerse cenizas blancas o de color gris claro y de peso constante. Se determinó el contenido de cenizas totales como porcentaje en peso de las muestras analizadas.

3.3.3.5. Valor energético

Se calcularon las calorías totales (kCal) aportadas cada 100 g de producto cocido utilizando los valores de Atwater correspondientes a lípidos (9 kCal/g), proteínas (4 kCal/g) e hidratos de carbono (3.75 kCal/g) (Cáceres y col., 2006). Para las muestras con hidrocoloides (Carr, XL, MC y HPMC) se consideró que no brindan un aporte calórico

significativo, por lo que la cantidad incorporada de los mismos (1 g/100g) no fue considerada dentro de los hidratos de carbono.

3.3.4. Determinación de parámetros de calidad

3.3.4.1. Rendimiento

El rendimiento se evaluó determinando el peso de las salchichas antes y después del proceso de cocción. Se expresó como rendimiento porcentual, refiriendo la diferencia entre ambas pesadas al peso inicial de la muestra. El rendimiento se evaluó al menos por cuadruplicado.

3.3.4.2. Pérdidas por centrifugación

Con esta metodología se determinó de forma empírica la fuerza relativa en la que la matriz se encuentra interactuando con el agua y/o aceite. Para ello se debe someter a la muestra a algún tipo de esfuerzo de modo tal de evaluar qué parte del agua y/o aceite de la muestra es liberada, por lo que se siguió la metodología propuesta por Eide y col. (1982). Se tomó una porción cilíndrica (0.5 cm x 0.3 cm de diámetro) de cada muestra a las 24 h de ser elaborada y almacenada a 4°C, se pesó exactamente y se colocó sobre un soporte constituido por una malla plástica y perlas de vidrio, contenido en tubo de centrifuga Falcon (Figura 3.6) previamente pesado. Se centrifugó a 1200 g durante cinco minutos, luego de lo cual se retiró la muestra del tubo y se determinó la cantidad de fluido liberado de la muestra por diferencia de pesada del tubo antes y después del ensayo.

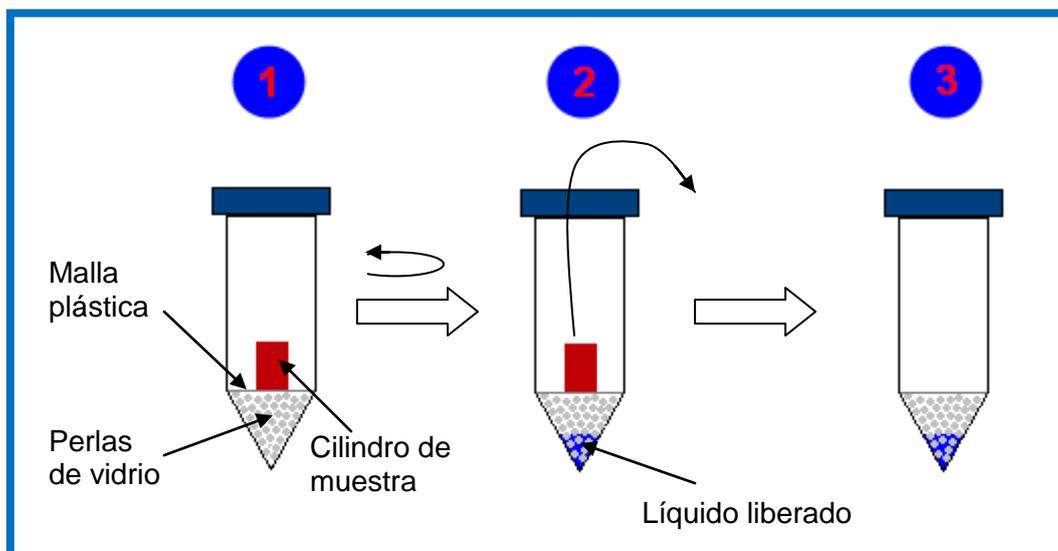


Figura 3.6. Procedimiento para determinar la pérdida por centrifugación.

Conociendo la masa de la muestra y el peso del líquido liberado se pudo determinar la pérdida por centrifugación (PC) como el porcentaje del líquido liberado en el ensayo, expresado como g líquido extraído/100 g salchicha. Se emplearon ocho replicados por formulación.

3.3.4.3. Análisis de Perfil de Textura (TPA)

Para realizar este ensayo descrito por Bourne (1978) y Brennan y Bourne (1994) se empleó un Texturómetro TAXT2i Texture Analyzer (Stable Micro Systems, UK) que consta de un brazo móvil al cual se le pueden adaptar distintas sondas según el tipo de ensayo a realizar.

El análisis de perfil de textura (TPA, por su sigla en inglés) se realizó sobre cilindros de 1.5 cm de altura y 1.7 cm de diámetro, cortados en el momento a partir de muestras refrigeradas, realizando diez replicados por formulación en un cuarto de temperatura controlada (20°C). El ensayo constó de dos ciclos de compresión axial, de un 30% de la altura original de la muestra, entre los platos planos del equipo, separado por un tiempo de espera. Se utilizó una sonda de aluminio SMS/P75. La celda de carga utilizada fue de 25 kg y la velocidad del ensayo de 0.5 mm/seg. Los resultados fueron obtenidos mediante el software provisto por el equipo (Texture Technologies Corp.) que permite realizar el análisis del TPA.

Se determinaron los parámetros asociados a un perfil de textura típico (Szczesniak 1963, Bourne 1978, Brennan, y Bourne 1994) para una muestra de salchichas (Figura 3.7):

- *Fracturabilidad*: se la define como la fuerza (N) del primer pico significativo (donde la fuerza decae) antes de finalizar la primera compresión.
- *Dureza*: se calcula como la fuerza máxima (N) en el primer pico y está relacionada con la resistencia a la compresión.
- *Adhesividad*: es el trabajo (J) necesario para levantar la sonda de la muestra, es decir, para vencer las fuerzas atractivas entre las superficies de la muestra y la sonda. Se calcula como el área del pico negativo con valor positivo (Área 3).
- *Elasticidad*: se determina como la distancia hasta llegar al máximo de la segunda compresión (dist.3) dividida la distancia hasta llegar al máximo de la primera compresión (dist.1), mm/mm. Es la habilidad para recuperar la forma original, está relacionada a la altura que el material recupera entre el final de la primera compresión y el comienzo de la segunda (dist.3/dist.1).
- *Cohesividad*: Este parámetro refleja lo bien que el producto resiste una segunda deformación respecto a cómo se comporta en una primera. Se calcula realizando

el cociente del área del segundo pico sobre el área del primer pico (J/J) (Áreas 4+5/ Áreas 1+2).

- *Resiliencia* o “elasticidad instantánea”: representa cuanto un producto logra recuperar su posición original. Resulta del cociente entre el valor de la compresión en la zona de decaimiento del primer pico, dividido el valor de la compresión del primer pico (J/J) (Área 2 / Área 1).
- *Masticabilidad*: propiedad referida a alimentos sólidos, este sería el caso de los geles cárnicos (Steffe, 1996). Resulta de una función de otros parámetros y se define como: dureza x cohesividad x elasticidad (N).

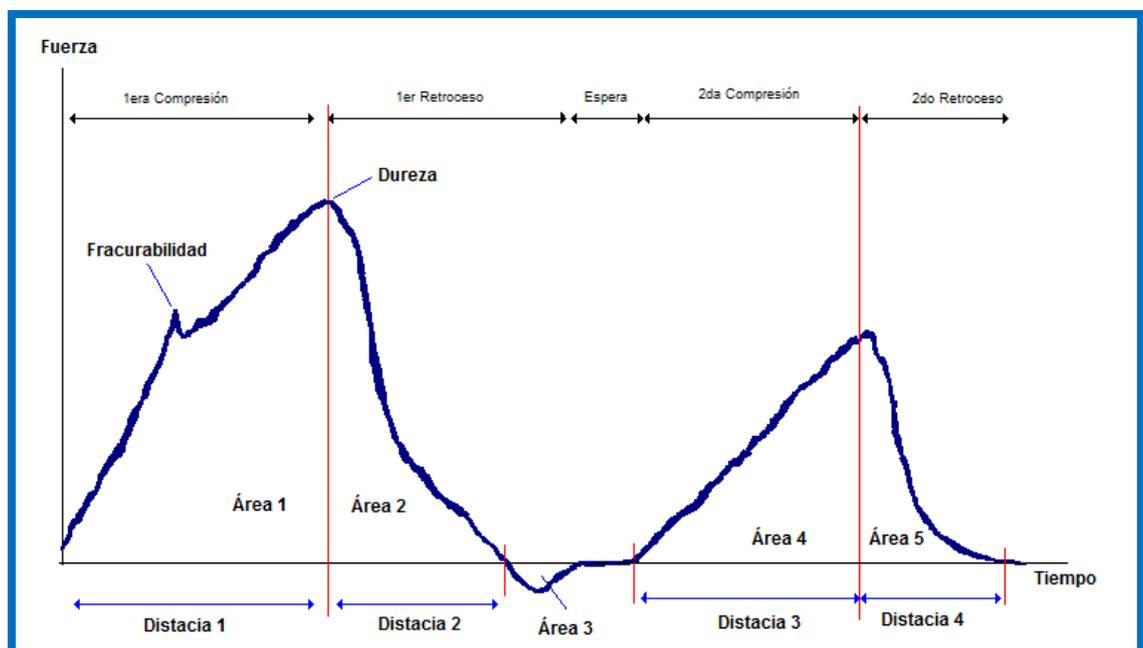


Figura 3.7. Perfil de textura genérico obtenido para un alimento.

3.3.4.4. Color

El color, en escala CIELab (Commission Internationale de l' Eclairage (CIE), 1931) es descrito a través de la luminosidad L^* y la cromaticidad por los parámetros a^* y b^* (Figura 3.8).

Las mediciones colorimétricas se llevaron a cabo con un colorímetro triestímulo (Minolta CR-400, Minolta Corp., Ramsey, New Jersey, EE.UU.), analizador compacto triestímulo del color reflejado por superficies, el cual consta del respectivo cabezal de medida y un procesador de datos DP-401.

El parámetro L^* varía desde 100 para un blanco perfecto y 0 para el negro, a^* representa rojo cuando es positivo, y verde cuando es negativo, y b^* representa amarillo cuando es positivo y azul cuando es negativo.

El color se determinó sobre cinco unidades de cada formulación, realizando tres medidas por espécimen.

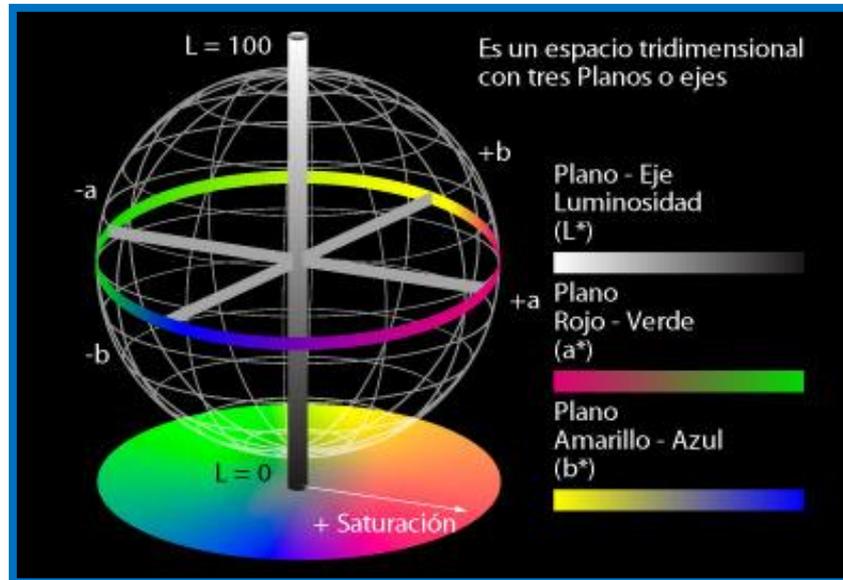


Figura 3.8. Espacio de color CIELab.

3.3.5. Ensayos reológicos

Los ensayos reológicos se llevaron a cabo en un reómetro de esfuerzo controlado Haake RS600 (ThermoElectron, Alemania) provisto de una unidad de control de temperatura (K-15 Haake, ThermoElectron, Alemania). Para obtener los datos y procesarlos se utilizó un software específico (Rheowin Data Manager, Thermo Fisher Scientific Inc., Alemania y RheoHub, IRIS Development LLC). En todos los ensayos reológicos se utilizó una geometría de platos paralelos rugosos de 35 mm diámetro (sensor PP35S) y un espacio entre placas o “gap” de 1 mm para pastas crudas y 1.4 mm para pastas cocidas. Para cada medida se realizaron al menos tres replicados, reportándose en cada caso los valores medios.

Se realizaron ensayos reológicos de dos tipos:

- *ensayos oscilatorios isotérmicos*: sobre muestras cocidas luego del tratamiento térmico, para evaluar su comportamiento viscoelástico en el rango lineal.
- *ensayos termo-reológicos*: sobre pastas crudas para determinar el comportamiento de las distintas formulaciones durante el proceso de cocción.

3.3.5.1. Ensayos oscilatorios isotérmicos

a) Preparación de los especímenes

Para los ensayos oscilatorios sobre productos cocidos se empleó un método de cocción alternativo (Ferris y col., 2009) a fin de obtener muestras adecuadas a la geometría a aplicar. Una porción de pasta (emulsión cárnica) cruda se colocó entre dos placas planas de aluminio (0.8 x 100 x 120 mm) y contenidas en un marco (1.4 x 100 x 120 mm) como se muestra en la Figura 3.9. Para asegurar un cierre hermético se colocó el sistema dentro de bolsas cook-in (Cryovac, CN510, Sealed Air Co., Buenos Aires, Argentina), y se sometió a un tratamiento térmico por inmersión en un baño de temperatura controlada (Haake) a 80°C. Debido al pequeño espesor de las placas puede asumirse que la transferencia de calor es uniaxial, lo que sumado a la alta conductividad térmica del aluminio, asegura una velocidad de transferencia de calor muy alta.

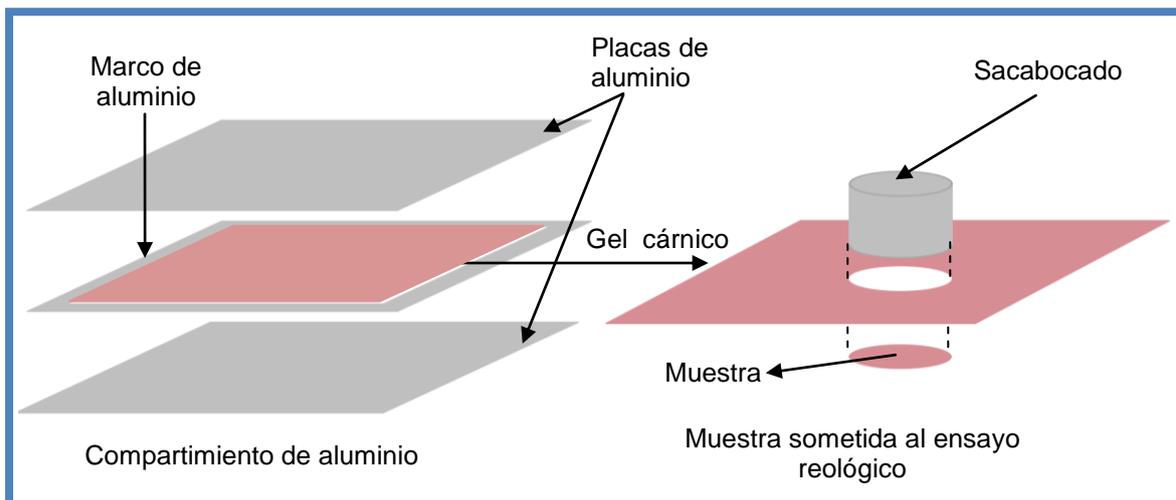


Figura 3.9. Esquema del arreglo de aluminio para la cocción de las muestras destinadas a ensayos reológicos isotérmicos.

El tiempo de cocción fue determinado en un ensayo previo donde se monitoreó la temperatura mediante una termocupla tipo T (cobre-constantan) insertada en el centro del espacio delimitado por el marco de aluminio y conectada a un sistema de adquisición (TESTO175, Testo AG, Lenzkirch, Alemania). Se fijó un tiempo de cocción de 90 seg, adecuado para asegurar 74°C en el centro térmico de la placa y considerando un margen de seguridad de 15 seg.

Inmediatamente después del tratamiento térmico, las muestras dentro de las bolsas fueron enfriadas en baño agua-hielo y se almacenaron a 4°C hasta su posterior análisis. Se prepararon cuatro láminas de emulsión cárnica cocida para cada formulación a evaluar. Para realizar los ensayos reológicos se cortaron con un sacabocados, de cada

lámina, muestras de 1.4 mm de espesor y 35 mm de diámetro; como se muestra en la Figura 3.9. De este modo las muestras ocuparon exactamente el receptáculo del arreglo de placas paralelas del reómetro: 35 mm de diámetro y espacio entre placas (gap) de 1.4 mm.

b) Determinación del rango de viscoelasticidad lineal

Inicialmente se determinó el rango de viscoelasticidad lineal (RVL) a 25°C de cada muestra. Se cubrió el borde expuesto de la muestra con silicona para prevenir la evaporación superficial. Las muestras se dejaron reposar durante 600 segundos antes de iniciar cada ensayo, para garantizar la completa relajación de los esfuerzos normales a los que pudiera haber estado sometida durante la manipulación previa.

Posteriormente, se varió el esfuerzo aplicado entre 0.05 y 50 Pa, y manteniendo fija la frecuencia de oscilación en 1 Hz (6.28 rad/s). En esta zona (RVL) los módulos de almacenamiento y de pérdida (G' y G'' , respectivamente) permanecen constantes frente al esfuerzo realizado sobre la muestra. Hay un valor de esfuerzo crítico a partir del cual, ambos módulos disminuyen en función del esfuerzo.

c) Ensayos oscilatorios de barrido de frecuencia

Teniendo en cuenta el RVL previamente determinado para cada formulación, se realizaron ensayos de barrido de frecuencias desde 0.01 hasta 100 Hz, a un esfuerzo de 5 Pa, para determinar la evolución de los módulos de almacenamiento o elástico (G'), de pérdida o viscoso (G''), módulo complejo (G^*) y la tangente de pérdida ($\tan \delta$), procediendo a manipular las muestras según lo descrito en **3.3.5.1.a)**.

3.3.5.2. Ensayos termo-reológicos

a) Determinación del rango de viscoelasticidad lineal

Se realizaron ensayos de barrido de temperatura sobre emulsiones cárnicas crudas de las diferentes formulaciones estudiadas. Inicialmente se determinó el RVL de cada muestra a 25°C, 50°C y 80°C, empleando los parámetros de corrida descritos en **3.3.5.1.b)**, prolongando, el tiempo de estabilización térmica de la muestra cuando se trabajó a 50°C y 80°C.

b) Ensayos oscilatorios con barrido de temperatura

Para cada experiencia se colocó la emulsión cárnea cruda sobre el plato, se dejó equilibrar a $25 \pm 1^\circ\text{C}$. La frecuencia del ensayo se fijó en 1 Hz (6.28 rad/s) y se fijó el esfuerzo en 5 Pa, mientras que la temperatura se incrementó de 25 a 80°C a una

velocidad de 1°C/min. Los cambios en el módulo de almacenamiento, G' , el módulo de pérdida G'' , y la tangente de pérdida ($\tan \delta$) fueron monitoreados durante todo el proceso de gelificación. Los termo-reogramas que se presentan, corresponden a los valores medios de tres repeticiones por formulación. Los cambios de pendientes de las distintas curvas obtenidas fueron asociados a eventos térmicos (desnaturalización de las proteínas cárnicas).

3.3.6. Calorimetría diferencial de barrido modulada

El análisis de las diferentes formulaciones de emulsiones cárnicas por calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC) se realizó en un equipo DSC Q100 (TA Instruments, EE.UU.). Se utilizaron aproximadamente 12 mg de emulsión cárnica cruda en cada corrida, realizándose los ensayos por duplicado. Se colocó la muestra dentro de cápsulas de aluminio y se sellaron herméticamente antes de realizar el ensayo. Como referencia se empleó una cápsula vacía, sellada. El protocolo empleado fue el siguiente: se enfrió a -50°C, se mantuvo 2 min a dicha temperatura; luego se calentó hasta -25°C a una velocidad de 5°C/min, se mantuvo esta temperatura por 3 min y se enfrió hasta -50°C a 10°C/min, manteniendo 2 min la muestra a -50°C; luego se calentó hasta 120°C, nuevamente a 5°C/min. Se empleó una modulación de $\pm 1^\circ\text{C}$ cada 1 min (Figura 3.10).

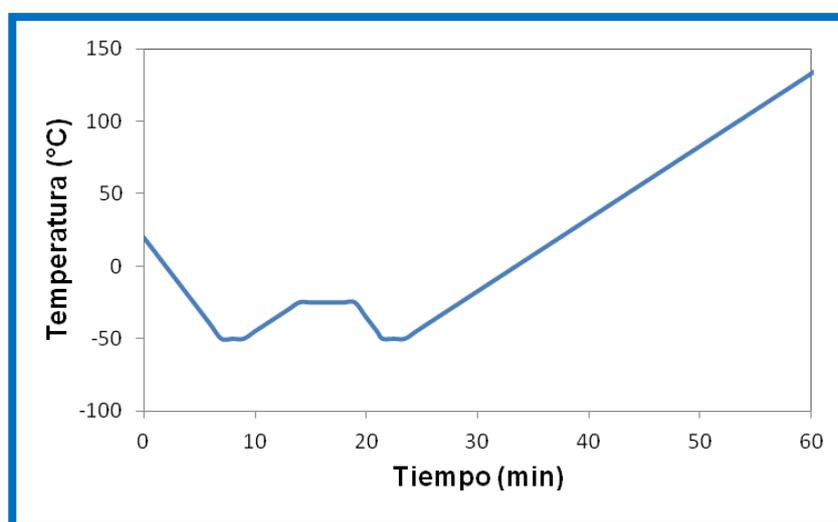


Figura 3.10. Historia térmica a las que fueron sometidas muestras de emulsiones cárnicas crudas durante el ensayo de MDSC.

Después de cada corrida, se realizó un orificio en la cápsula y se secó a 105°C para la determinación del contenido de agua (Fernández-Martín y col., 2002).

De cada termograma resultante se obtuvo la siguiente información:

- fracción de agua no congelada,
- desnaturalización proteica,
- temperatura de transición vítrea (T_g).

La fracción en peso de agua no congelada se evaluó a partir del pico de fusión del agua (Roos, 1978). Se determinó la entalpía de fusión de -40°C a 20°C de las muestras (ΔH) y agua pura (ΔH_0), mediante la integración del área bajo la curva de MDSC a través del software para el análisis térmico (TA Instruments Análisis Universal de 2000, TA Instruments, EE.UU.), pudiéndose determinar, entonces, el contenido de agua no congelada (m_{nc}) de la matriz del gel cárnico (Anese y Gormley, 1996) de la siguiente forma:

$$m_c = \frac{\Delta H}{\Delta H_0} \quad 3.1$$

$$m_{nc} = (m_T - m_c) \times \frac{100}{m_T} \quad 3.2$$

Donde:

m_T = masa de agua total/100 g producto

m_c = masa de agua congelada/100 g agua

m_{nc} = masa de agua no congelada/100 g agua

ΔH = entalpía de fusión de la muestra

ΔH_0 = entalpía de fusión del agua pura (333.9 J/g)

Asimismo, de los termogramas obtenidos se determinaron las entalpías asociadas a la desnaturalización proteica utilizando un proceso de integración análogo al descrito para obtener la entalpía de fusión de la muestra. Se utilizó una línea de base sigmoïdal para calcular las áreas de los picos y compensar el cambio en el calor específico que se produce cuando el agua pasa del estado sólido al estado líquido (Bourne, 1978).

Las temperaturas máximas temperaturas de pico también se determinaron a partir de termogramas MDSC.

La primera derivada del termograma se utilizó para determinar la temperatura en el punto de inflexión que se asignó a la temperatura de transición vítrea (T_g) de la muestra.

3.3.7. Análisis estadístico

Se realizaron análisis de varianza para las distintas variables dependientes estudiadas, considerando cada formulación como un nivel de un diseño monofactorial. Se analizaron dos replicados completos (batch) por formulación para verificar la reproducibilidad del

procedimiento experimental. Se utilizó el ensayo de LSD (least significant differences) para estudiar las comparaciones pareadas de medias. Las diferencias entre medias y ensayos F se consideraron significativas cuando las probabilidades estimadas fueron inferiores a 0.05 ($P < 0.05$). Todos los procedimientos estadísticos se llevaron a cabo mediante el software SYSTAT (SYSTAT, Inc., Evanston, IL, EE.UU.). Los resultados experimentales se informaron como valor medio \pm el error estándar de la media.

3.4. Resultados y Discusión

3.4.1. Composición proximal

En la Tabla 3.3 se muestra la composición proximal, así como el valor calórico obtenido para cada una de las formulaciones estudiadas.

La incorporación de aceite de pescado, en reemplazo de grasa animal, ofrece una nueva alternativa saludable para el consumidor, pero tiene sus desafíos en términos de que este aceite permanezca estable dentro del producto cárnico. Sin embargo, el contenido lipídico obtenido en las diferentes formulaciones reflejó la cantidad de grasa o aceite agregada sumada a los lípidos propios de la carne (1.3 ± 0.17 g/100g), lo que indica que las pérdidas ocurridas durante el procesamiento fueron bajas, y por ende, las emulsiones obtenidas fueron estables.

El contenido de agua de los dos controles (CG y CA) fue mayor al determinado para el resto de las formulaciones, probablemente debido a que los controles tienen un 1g más de carne, de alto contenido acuoso, cada 100g de pasta cruda, respecto a las demás, en reemplazo de los aditivos estudiados.

Tabla 3.3. Composición centesimal y valor calórico de las distintas formulaciones analizadas.*

| Formulación** | Humedad g/100g | Lípidos g/100g | Proteínas g/100g | Cenizas totales g/100g | Valor calórico kCal/100g |
|---------------|-----------------------|---------------------|----------------------|------------------------------|--------------------------------|
| WPC | $75.0^b \pm 0.05$ | $6.0^b \pm 0.02$ | $13.5^a \pm 0.12$ | $2.6^{ab} \pm 0.02$ | $119^a \pm 4.2$ |
| WPCMod | $74.2^{cd} \pm 0.11$ | $6.2^{ab} \pm 0.07$ | $13.4^a \pm 0.07$ | $2.2^b \pm 0.01$ | $124^a \pm 1.2$ |
| L | $74.4^{bcd} \pm 0.08$ | $6.2^{ab} \pm 0.09$ | $13.3^{ab} \pm 0.08$ | $2.2^b \pm 0.04$ | $123^a \pm 2.1$ |
| CH | $74.1^d \pm 0.13$ | $6.0^b \pm 0.04$ | $13.5^a \pm 0.06$ | $2.4^{ab} \pm 0.09$ | $123^a \pm 5.1$ |
| HPMC | $72.0^e \pm 0.14$ | $6.6^a \pm 0.02$ | $13.4^a \pm 0.09$ | $2.9^a \pm 0.10$ | $132^a \pm 3.5$ |
| MC | $74.3^{cd} \pm 0.17$ | $6.2^{ab} \pm 0.10$ | $12.2^c \pm 0.05$ | $2.3^{ab} \pm 0.08$ | $123^a \pm 2.3$ |
| XL | $74.9^{bc} \pm 0.12$ | $6.0^b \pm 0.04$ | $12.4^c \pm 0.10$ | $2.3^{ab} \pm 0.07$ | $120^a \pm 2.1$ |

| | | | | | |
|-------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------|--------------------------|------------------------|
| Carr | 74.9 ^b ± 0.06 | 6.1 ^{ab} ± 0.11 | 12.2 ^c ± 0.05 | 2.2 ^b ± 0.05 | 121 ^a ± 1.5 |
| CA | 77.1 ^a ± 0.11 | 6.0 ^b ± 0.04 | 12.4 ^c ± 0.02 | 2.2 ^b ± 0.01 | 112 ^a ± 1.1 |
| CG | 76.7 ^a ± 0.16 | 6.2 ^{ab} ± 0.12 | 12.6 ^{bc} ± 0.15 | 2.4 ^{ab} ± 0.10 | 114 ^a ± 1.7 |

*Medias con distintos supraíndices en una misma columna presentan diferencias significativas ($P < 0.05$).

**Código de las distintas formulaciones: WPC = proteínas de suero de leche; WPCMod = proteínas de suero de leche tratado térmicamente; L = proteínas de leche, CH = clara de huevo, Carr = (2:1) κ:ι – carragenanos, HPMC = hidroxipropilmetilcelulosa, MC = metilcelulosa, XL = combinación (2:1) de gomas xántica y garrofin, CG = control con grasa, CA = control con aceite.

Los niveles de proteínas fueron superiores a 12 g/100g de producto, y debido al origen de las mismas (músculo vacuno, huevo o leche) tienen un alto valor biológico. Como era de esperar, el nivel de proteína fue mayor en las formulaciones con proteínas agregadas, sin diferencias significativas entre ellas ($P > 0.05$). Sin embargo los productos que contenían HPMC presentaron niveles de proteína similares a estos últimos, probablemente como resultado de su menor contenido de humedad (Tabla 3.2) y rendimiento (Tabla 3.6) ($P < 0.05$). Asimismo, los niveles de lípidos y cenizas fueron mayores en esta formulación.

Los bajos niveles de lípidos empleados en estas formulaciones conllevan a un valor energético muy bajo. No se encontraron diferencias significativas para las distintas formulaciones, siendo el valor medio de todas de 121 ± 2.2 kCal/100g. Esto implicaría una reducción de un 51.5% del aporte calórico respecto de un producto tradicional formulado con un 20 g/100g de grasa, que presenta un aporte calórico de 250 kCal/100g (USDA, 2013). El agregado de niveles reducidos de sal (1.4 g de NaCl / 100 g) respecto a los tradicionalmente usados en este tipo de productos (hasta 3 g/100g), resultó en bajos niveles de cenizas totales, para este tipo de productos, en las diferentes formulaciones estudiadas.

3.4.2. Parámetros de calidad

Dentro del análisis de los principales parámetros de calidad del producto hay dos aspectos generales o puntos de vista que tienen que ser considerados. El primero es la calidad percibida por el consumidor. Para esto se analizaron los parámetros de color y se realizó un análisis de perfil de textura de las distintas formulaciones. Por otro lado para el productor es también relevante evaluar el rendimiento después de la elaboración. Una alta retención de líquidos y un buen rendimiento implican menos pérdidas económicas en esta etapa del proceso. La pérdida por centrifugación es una prueba en condiciones extremas para evaluar la capacidad de retención de líquidos por la matriz cárnica.

3.4.2.1. Color

En la Tabla 3.4 se presentan los resultados obtenidos para los parámetros de color de formulaciones cocidas conteniendo diferentes proteínas no cárnicas o hidrocoloides. El reemplazo de grasa vacuna por aceite de pescado pre-emulsificado produjo geles cárnicos emulsionados con valores de L* superiores al control CG en todos los casos, excepto cuando se adicionó HPMC o MC. En cuanto al parámetro b*, este se incrementó, en todos los casos, debido a dicha sustitución. Anteriormente, en la bibliografía, se han informado resultados que confirman esta conclusión. Así, la sustitución de grasa de cerdo por aceite de oliva dio como resultado un producto más luminoso (mayor L*) y aumentó el parámetro b* en salchichas con un contenido graso entre 10% y 20% (Bloukas y col., 1997; Mugerza y col., 2002). Estos resultados coinciden con lo informado por Youssef y Barbut (2009) quienes también encontraron que la incorporación de proteínas no cárnicas a sistemas cárnicos emulsionados resultó en un producto más luminoso (L*). Esto estaría asociado a la pre-emulsificación del aceite, que logra una distribución de aceite en la matriz cárnica más fina y homogéna que la grasa (Ambrosiadis y col. 1996). Las salchichas con hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) agregada mostraron la menor luminosidad y los más altos valores del parámetro a* que cuantifica el color rojo. Esto podría estar relacionado con la menor cantidad de agua presente en esta formulación (Tabla 3.2), lo que implica una mayor concentración de sólidos.

Tabla 3.4. Efectos de la incorporación de proteínas no cárnicas o hidrocoloides en los parámetros de color de las distintas formulaciones analizadas (*).

| Formulación** | L* | a* | b* |
|---------------|---------------------------|--------------------------|----------------------------|
| WPC | 64.5 ^{bc} ± 0.08 | 12.6 ^c ± 0.04 | 11.4 ^c ± 0.02 |
| WPCMod | 64.5 ^{bc} ± 0.09 | 13.5 ^b ± 0.03 | 11.7 ^{abc} ± 0.7 |
| L | 66.0 ^a ± 0.05 | 12.2 ^c ± 0.05 | 11.0 ^c ± 0.05 |
| CH | 65.1 ^{ab} ± 0.10 | 12.7 ^c ± 0.04 | 11.5 ^{bc} ± 0.6 |
| HPMC | 58.7 ^e ± 0.05 | 15.1 ^a ± 0.01 | 11.3 ^c ± 0.08 |
| MC | 61.9 ^d ± 0.07 | 14.0 ^b ± 0.08 | 12.4 ^a ± 0.04 |
| XL | 64.8 ^{bc} ± 0.11 | 13.7 ^b ± 0.06 | 12.2 ^{ab} ± 0.04 |
| Carr | 64.0 ^c ± 0.03 | 13.6 ^b ± 0.06 | 12.2 ^{ab} ± 0.04 |
| CA | 63.4 ^c ± 0.07 | 12.2 ^c ± 0.03 | 11.7 ^{abc} ± 0.03 |
| CG | 61.4 ^d ± 0.05 | 14.0 ^b ± 0.02 | 10.1 ^d ± 0.03 |

(*)Medias con distintos supraíndices en una misma columna presentan diferencias significativas (P < 0.05).

**Código de las distintas formulaciones: WPC = proteínas de suero de leche; WPCMod = proteínas de suero de leche tratado térmicamente; L = proteínas de leche, CH = clara de huevo, Carr = (2:1) κ:ι – carragenanos, HPMC = hidroxipropilmetilcelulosa, MC = metilcelulosa, XL = combinación (2:1) de gomas xántica y garrofín, CG = control con grasa, CA = control con aceite.

3.4.2.2. Textura

A modo de ejemplo, en la Figura 3.11 se muestran uno de los 10 replicados realizados de los perfiles de textura (TPA) obtenidos para las distintas formulaciones analizadas. Donde puede observarse que los perfiles exhibidos por las muestras presentaron en todos los casos una ausencia de fracturabilidad en las condiciones del ensayo.

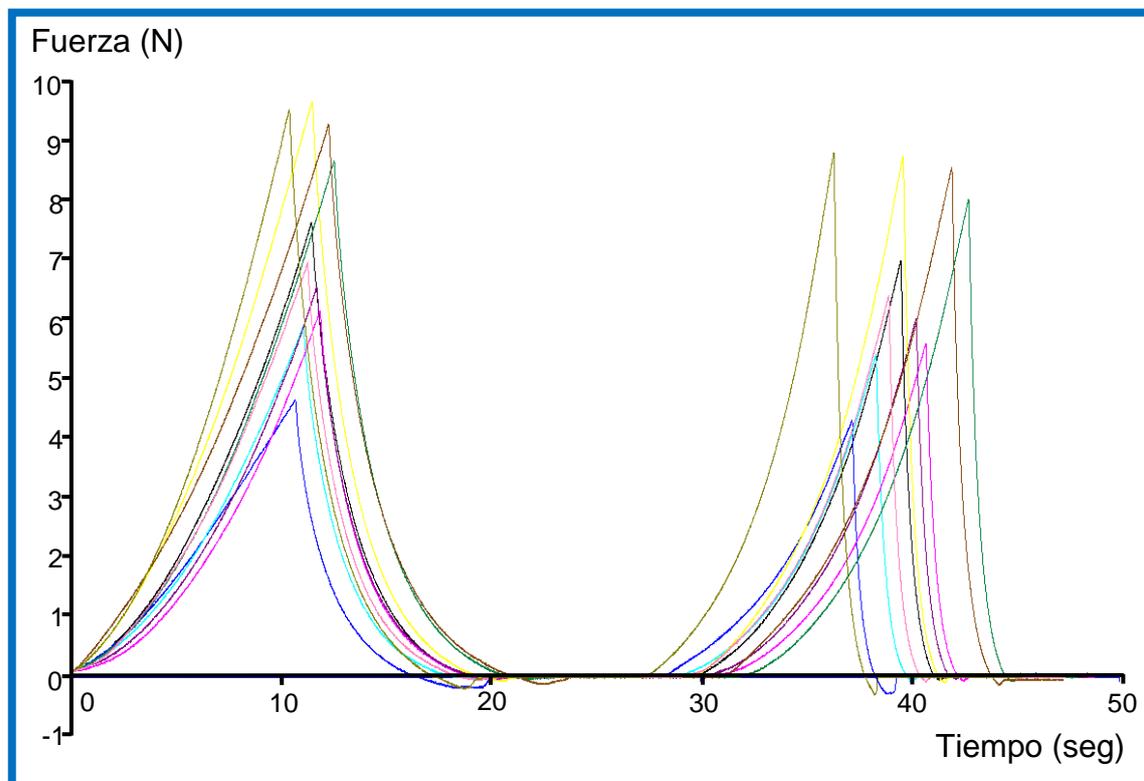


Figura 3.11. Perfiles de textura obtenidos para las diferentes formulaciones de emulsiones cárnicas cocidas. Códigos: WPC = —, WPCMod = —, L = —, CH = —, Carr = —, HPMC = —, MC = —, XL = —, CG = —, CA = —.

La sustitución de la grasa bovina por aceite de pescado produjo un fuerte impacto sobre la textura de salchichas (Figura 3.11; Tabla 3.5). Así, se redujo la dureza en un 40.2%, como puede verse si se comparan las medias obtenidas para los controles con grasa y aceite (Tabla 3.5). La incorporación de proteínas de leche, carragenanos, o gomas xántica-garrofín en las formulaciones con aceite de pescado permitió obtener productos

de dureza similar al control con grasa ($P > 0.05$). La matriz con aceite (CA) se reforzó por la adición de estos biopolímeros (L, Carr o XL) debido a sus capacidades de gelificación. Las formulaciones restantes presentaron valores de dureza más bajos que el control con grasa y similares (WPCmod) o ligeramente mayores que el control con aceite ($P < 0.05$). En el caso de la HPMC y la metilcelulosa, este efecto puede atribuirse a la formación de geles termo-reversibles, que, a temperatura ambiente, vuelven al estado de sol, disminuyendo así la fortaleza de la estructura de estas matrices. Por otra parte se observó que los valores de dureza resultante de los geles cárnicos formulados con WPC y WPCmod fueron inferiores a los obtenidos por la incorporación de proteínas de leche (L). Esta diferencia puede explicarse por la funcionalidad de las caseínas que tienen mayor poder gelificante que las proteínas de suero y refuerzan la estructura del sistema.

Tabla 3.5. Efecto de la adición de proteínas no cárnicas o hidrocoloides sobre los parámetros obtenidos del análisis de perfil de textura de las formulaciones estudiadas.*

| Formulación** | Dureza (N) | Masticabilidad (N) | Cohesividad (J/J) | Resiliencia (J/J) | Adhesividad ($J \times 10^4$) | Elasticidad (mm/mm) |
|---------------|------------------------------|------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| WPC | 6.44 ^c ± 0.10 | 2.92 ^{bc} ± 0.04 | 0.551 ^{cd} ± 0.010 | 0.415 ^b ± 0.006 | 0.59 ^c ± 0.2 | 0.822 ^{cd} ± 0.005 |
| WPCMod | 5.57 ^{fg} ± 0.08 | 2.35 ^{bc} ± 0.05 | 0.549 ^{cd} ± 0.010 | 0.380 ^c ± 0.002 | 0.47 ^c ± 0.5 | 0.769 ^{ef} ± 0.010 |
| L | 8.76 ^b ± 0.06 | 4.19 ^a ± 0.02 | 0.569 ^a ± 0.008 | 0.413 ^b ± 0.010 | 0.15 ^c ± 0.4 | 0.841 ^{bc} ± 0.008 |
| CH | 6.00 ^{de} ± 0.05 | 2.66 ^{bc} ± 0.03 | 0.548 ^{cd} ± 0.003 | 0.403 ^b ± 0.009 | 0.50 ^c ± 0.6 | 0.791 ^{de} ± 0.015 |
| HPMC | 5.82 ^{ef} ± 0.08 | 2.38 ^{bc} ± 0.02 | 0.543 ^d ± 0.002 | 0.401 ^b ± 0.005 | 3.70 ^a ± 0.8 | 0.753 ^{fg} ± 0.012 |
| MC | 6.45 ^c ± 0.04 | 2.95 ^b ± 0.04 | 0.551 ^{cd} ± 0.007 | 0.446 ^a ± 0.004 | 3.14 ^a ± 0.6 | 0.831 ^c ± 0.007 |
| XL | 9.00 ^{ab} ± 0.2 | 4.34 ^a ± 0.06 | 0.558 ^{bc} ± 0.005 | 0.442 ^a ± 0.005 | 2.26 ^b ± 0.4 | 0.864 ^{ab} ± 0.020 |
| Carr | 8.91 ^{ab} ± 0.09 | 4.40 ^a ± 0.04 | 0.566 ^{ab} ± 0.005 | 0.433 ^a ± 0.007 | 2.09 ^b ± 0.4 | 0.872 ^a ± 0.011 |
| CA | 5.15 ^g ± 0.04 | 2.05 ^c ± 0.03 | 0.548 ^d ± 0.007 | 0.412 ^b ± 0.004 | 3.45 ^a ± 0.7 | 0.738 ^g ± 0.005 |
| CG | 8.62 ^b ± 0.08 | 3.93 ^a ± 0.04 | 0.549 ^d ± 0.004 | 0.413 ^b ± 0.003 | 0.15 ^c ± 0.9 | 0.815 ^{cd} ± 0.006 |

*Medias con distinto supraíndice en una misma columna, presentan diferencias significativas ($P < 0.05$).

**Código de las distintas formulaciones: WPC = proteínas de suero de leche; WPCMod = proteínas de suero de leche tratado térmicamente; L = proteínas de leche, CH = clara de huevo, Carr = (2:1) κ-I-carragenanos, HPMC = hidroxipropilmetilcelulosa, MC = metilcelulosa, XL = combinación (2:1) de gomas xántica y garrofín, CG = control con grasa, CA = control con aceite.

Se encontró una correlación positiva entre la elasticidad y la dureza ($R^2 = 0.86$, $P < 0.05$), consecuentemente el material de mayor dureza fue el más elástico. La masticabilidad también presentó la misma tendencia que la dureza, dado que es función lineal de dicho parámetro. Similares tendencias entre la dureza y la masticabilidad fueron observadas por Yang (2001) trabajando en salchichas tipo Frankfurt magras con distintos sustitutos de la fase grasa.

Los valores medios de cohesividad también variaron según el aditivo utilizado, las formulaciones con proteínas de leche (L), o carragenanos (Carr) presentaron las matrices más cohesivas.

La resiliencia, que se puede definir como una elasticidad instantánea del material, presentó una variación entre las distintas muestras estudiadas (0.380 J/J – 0.446 J/J). Se observaron diferencias significativas entre las muestras pero no se encontró una tendencia o correlación. Las muestras con los hidrocolodes MC, Carr y XL arrojaron los valores más elevados de resiliencia, superiores a los controles CA y CG.

Las formulaciones con HPMC y MC y el control con aceite de pescado (CA) presentaron la mayor adhesividad; mientras que la adición de las proteínas no cárnicas evaluadas (WPC, WPCm, L y CH) originó productos con igual adhesividad que el control con grasa.

Por lo tanto, como puede observarse en la Tabla 3.5 la pérdida de dureza, que es el parámetro textural más afectado cuando se utiliza aceite de pescado en reemplazo de grasa sólida, puede ser controlada mediante la adición de diferentes macromoléculas, tales como proteínas de leche, carragenanos o goma xántica.

3.4.2.3. Rendimiento y pérdida por centrifugación

Durante la etapa de cocción de productos cárneos tienen lugar un gran número de reacciones químicas. Dentro de ellas se destaca el proceso de desnaturalización proteica parcial seguido por una agregación irreversible, además de la formación de puentes disulfuro, formándose una red tridimensional de proteínas cárneas con estructura de gel. (Samejima y col., 1981; Smith y Alvarez, 1988; Sharp y Offer 1992; Stone y Stanley 1992; Sun y Holley, 2011). Esto puede traer aparejado que una cantidad de líquido (fundamentalmente agua) se libere del sistema debido a los cambios sufridos por las nuevas interacciones formadas por las proteínas en detrimento de interacciones existentes proteínas-agua.

El rendimiento depende de la capacidad de la proteína de la matriz para inmovilizar tanto lípidos como agua. Sin embargo, en pastas cárnicas con muy bajo contenido lipídico, la capacidad de gelificación y de retención de agua de los ingredientes no cárnicos tienen

un papel crítico en la formación de la emulsión, su estabilidad térmica y almacenamiento de los productos (Su y col., 2002).

El contenido y tipo de sales del sistema determinará la fuerza iónica del mismo. Como es sabido, la fuerza iónica es un parámetro importante que afecta la capacidad de las proteínas para interactuar con las moléculas de agua en los geles cárnicos. La eficiencia de estas interacciones se puede ver reflejada en la capacidad de retención de agua del gel (Huff-Lonergan y Lonergan, 2005). Sun y Holley (2011) informaron que se requieren elevadas concentraciones de NaCl (2 a 3 g/ 100g) para solubilizar las proteínas miofibrilares (miosina y actina principalmente) y lograr formar un buen gel. Sin embargo en condiciones con niveles bajos de NaCl, tal como las formulaciones ensayadas, también se pueden lograr geles con buenas propiedades texturales y capacidad de retención de agua encontrando la combinación adecuada de sales como NaCl y TPP. Los niveles de sales determinan la fuerza iónica del sistema, la que a su vez afecta las interacciones entre las proteínas de la carne con las proteínas no cárnicas o hidrocoloides. El resultado de estas interacciones puede llevar a un fortalecimiento de la estructura si se incrementan en número o intensidad pero también puede ocasionar un debilitamiento de la misma debido a interacciones negativas entre la matriz cárnica y la proteína no cárnica o hidrocoloide incorporado.

Otro aspecto que se modifica, por las interacciones previamente descritas, es la capacidad de retener agua por parte del sistema. La fuerza iónica condicionará la capacidad de retención de agua de las proteínas.

Las pérdidas de peso que se producen durante el tratamiento térmico son indicadores de gran importancia, ya que determinan el rendimiento del proceso. Este parámetro es de gran interés desde el punto de vista industrial ya que un rendimiento alto implica mayores ganancias para el productor. La Tabla 3.6 muestra los resultados obtenidos de rendimiento y pérdidas por centrifugación (valores medios) para todas las formulaciones analizadas.

Tabla 3.6. Rendimiento y pérdidas por centrifugación de las distintas formulaciones estudiadas.*

| Formulación** | Rendimiento (g/100g) | Pérdidas por centrifugación (g/100g) |
|---------------|--------------------------|---|
| WPC | 98.5 ^a ± 0.02 | 23.6 ^{bcd^e} ± 0.18 |
| WPCMod | 98.1 ^a ± 0.08 | 24.5 ^{bcd} ± 0.17 |
| L | 98.1 ^a ± 0.21 | 22.9 ^{def} ± 0.15 |

| | | |
|-------------|--------------------------|---------------------------|
| CH | 98.2 ^a ± 0.15 | 25.5 ^{bc} ± 0.23 |
| HPMC | 80.9 ^c ± 0.08 | 15.1 ^g ± 0.14 |
| MC | 96.7 ^b ± 0.10 | 3.8 ⁱ ± 0.21 |
| XL | 98.1 ^a ± 0.13 | 7.5 ^h ± 0.19 |
| Carr | 97.9 ^a ± 0.08 | 7.6 ^h ± 0.16 |
| CA | 97.2 ^b ± 0.05 | 28.0 ^a ± 0.19 |
| CG | 98.2 ^a ± 0.08 | 26.0 ^{ab} ± 0.17 |

*Medias con supraíndices distintos en una misma columna presentan diferencias significativas (P < 0.05).

**Código de las distintas formulaciones: WPC = proteínas de suero de leche; WPCMod = proteínas de suero de leche tratado térmicamente; L = proteínas de leche, CH = clara de huevo, Carr = (2:1) κ:ι – carragenanos, HPMC = hidroxipropilmetilcelulosa, MC = metilcelulosa, XL = combinación (2:1) de gomas xántica y garrofín, CG = control con grasa, CA = control con aceite.

Los rendimientos obtenidos para las formulaciones de salchichas con aceite de pescado y el agregado de diversos hidrocoloides o proteínas no cárnicas (1 g/100g) variaron entre 80.9 y 98.5 g/100g de producto. La formulación control con aceite de pescado tuvo un rendimiento ligeramente inferior que la formulación control con grasa a pesar de su similar contenido de agua (Tabla 3.2). Esto sugiere que la diferencia en el rendimiento podría ser atribuido a la formación de una emulsión menos estable. Estos resultados coinciden con lo reportado por Bloukas y col. (1997) quienes informaron que la sustitución parcial de grasa de cerdo por aceite de oliva pre-emulsionado con aislados proteicos de soja resultó en pérdidas de peso superiores a los observados en los controles con grasa. Sin embargo, Ambrosiadis y col. (1996) indicaron que la sustitución de la grasa de cerdo por aceite de soja, girasol, semilla de algodón, maíz o palma dio lugar a emulsiones de salchichas de carne vacuna con buena estabilidad.

Las formulaciones con agregados de proteínas no cárnicas (WPC, WPCMod, L y CH), carragenanos (Carr), o mezcla de gomas xántica y garrofín (XL) mostraron rendimientos similares al control con grasa (CG) y más altos que la formulación control con aceite de pescado (CA), lo que indicó una buena estabilidad térmica y capacidad de retención de líquidos de dichas formulaciones. Estos resultados coinciden con Barbut y Choy (2007), quienes agregando distintas proteínas lácteas (leche en polvo, leche sin grasa, suero de leche, caseinatos normales y modificados térmicamente) en niveles de 2 g/100g a emulsiones de pollo con un contenido acuoso de 51 g/100g, aumentaron significativamente el rendimiento en comparación con el control, informando que los caseinatos producían los mejores resultados. Atughonu y col. (1998) también han

reportado que el concentrado de suero de leche y los caseinatos mejoraron el rendimiento de salchichas con carne de cerdo. Yousseff y Barbut (2010) mostraron que la adición de 1 ó 2 g/100g de aislado de suero de leche, leche en polvo descremada o su combinación aumentó el rendimiento, contenido de humedad y retención de líquidos en hamburguesas de carne.

La adición de derivados de celulosa (MC y HPMC) mostró rendimientos similares o marcadamente inferiores al control con aceite (96.7 y 80.9 g/100g, respectivamente, Tabla 3.6). El agregado de HPMC al sistema resultó en el rendimiento más bajo obtenido. Esto concuerda con lo informado por Foegeding y Ramsey (1986), quienes estudiaron el rendimiento obtenido con diferentes hidrocoloides (Carr, XL, MC y HPMC) en emulsiones cárnicas, encontrando que el más bajo rendimiento correspondió a HPMC. Barbut y Mittal (1996) han propuesto que HPMC y MC envuelven a las proteínas miofibrilares, reduciendo la capacidad de retención de agua. Sin embargo, la disposición de las macromoléculas en ambos geles no sería igual.

Aunque los rendimientos promedio mostraron pequeñas diferencias significativas únicamente para las formulaciones conteniendo HPMC, MC y el control con aceite de pescado, la pérdida por centrifugación de los sistemas varió considerablemente entre las formulaciones, ya que el ensayo evalúa la capacidad de retención del sistema cuando se lo somete a una situación extrema. Las pérdidas por centrifugación variaron desde 3.8 hasta 28 g de líquido liberado/100g, pero no se vieron afectadas por el tipo de lípido utilizado, por lo que se puede inferir que dichas pérdidas corresponden casi exclusivamente a agua. La adición de hidrocoloides, en cambio, influyó significativamente en dicho parámetro. La cantidad de líquido liberado por centrifugación de los productos formulados con metilcelulosa, κ /I-carragenanos o mezcla de gomas xántica-garrofín fue mucho menor que los dos controles con grasa y aceite (CG y CA), reflejando el aumento de la capacidad de retención de líquido cuando estos aditivos se incluyeron en la matriz. La metilcelulosa produjo los menores valores de pérdidas por centrifugación, es decir, la más alta capacidad de retención de líquido en estas condiciones.

Los resultados para rendimiento y pérdidas por centrifugación de las formulaciones con agregado de κ /I-carragenanos y gomas xántica-garrofín indicaron que en ambos casos se logró estabilizar la emulsión con una buena retención de agua. Según Montero y col. (2000) los galactomananos, como la goma garrofín, se encontrarían en el interior de cavidades esféricas, distribuidas por toda la matriz proteica del gel. En estas cavidades, los galactomananos se dispondrían en forma de filamentos, y no habría áreas de interacciones ni contacto entre el hidrocoloide y las proteínas. La goma xántica, en cambio, se alojaría en cavidades de un modo diferente, con un arreglo de malla en su

interior. Por otra parte, los κ / λ -carragenanos se encontrarían dispersos por toda la matriz, sin deposición filamentosa, posiblemente debido a su gelificación durante el tratamiento térmico, llenando las numerosas cavidades. Asimismo, la diferente distribución de los carragenanos se relaciona con el hecho de que el κ -carragenano se solubiliza a 60-70°C, cuando la miosina ya ha comenzado a gelificar, mientras que el λ -carragenanos se solubiliza a 50°C, antes de la gelificación de la proteína miofibrilar, y por lo tanto es capaz de penetrar en la matriz proteica de manera más efectiva.

La formulación con hidroxipropilmetilcelulosa presentó valores de pérdida por centrifugación intermedios entre los obtenidos para los productos con proteínas y demás hidrocoloides agregados. Como ya se mencionó, las salchichas con HPMC tuvieron un rendimiento considerablemente más bajo, por lo cual después del tratamiento térmico la hidroxipropilmetilcelulosa resultó estar más concentrada que las otras gomas o proteínas no cárnicas en las otras formulaciones. El contenido de humedad de la formulación de HPMC fue 72 g/100g, mientras que el resto de las muestras mostraron valores de humedad cerca de 74.5 g/100g. Por todo esto, el bajo resultado obtenido para las pérdidas por centrifugación de la formulación con HPMC no se atribuyó necesariamente a una interacción efectiva de los hidrocoloides con la matriz o un aumento de las interacciones entre el agua y la red, sino a una matriz más concentrada y consecuentemente una menor cantidad de agua capaz de ser liberada.

Los resultados obtenidos indicaron que los hidrocoloides tuvieron una mayor capacidad para retener el agua y restringir su movilidad molecular incluso en condiciones más drásticas, en comparación con las proteínas no cárnicas seleccionadas (L, WPCMod, WPC, y CH). La cantidad de agua liberada está directamente relacionada con la fuerzas de interacción matriz-agua, implicando fuerzas más débiles entre la matriz y el agua, para cantidades mayores de agua liberada. Por otro lado, las formulaciones con proteínas lácteas agregadas (L, WPC, WPCmod) registraron valores ligeramente más bajos de pérdidas por centrifugación respecto al control con aceite (CA) y similares a las salchichas control con grasa bovina adicionada (CG).

Las pérdidas por centrifugación encontradas indicarían que la presencia de las caseínas en la formulación L aumentó la retención de líquido de la matriz probablemente debido a su capacidad de gelificación. En cuanto a los aditivos WPC y WPCmod, si bien en estudios preliminares se determinó que las proteínas de WPCMod tenían una solubilidad en agua muy inferior al WPC (44.3 ± 2.1 g/100ml y 78.2 ± 3.1 g/100ml, respectivamente) y una menor entalpía de desnaturalización evaluada por calorimetría diferencial de barrido modulada (1.02 ± 0.08 J/g para WPCMod vs. 2.24 ± 0.11 J/g para WPC), las

pérdidas por centrifugación obtenidas para ambas formulaciones no presentaron diferencias significativas entre sí ($P > 0.05$).

Hammer (1992) y Carballo y col. (1995) trabajando en emulsiones cárneas adicionadas con proteínas del huevo, informaron que las mismas no contribuyeron a la formación de la matriz proteica, brindando muy pocas ventajas tecnológicas a los sistemas; agregados de hasta 3 g de clara de huevo/100 g no influyeron en la retención de agua o lípidos en emulsiones de carne de cerdo. Los resultados obtenidos para la formulación con agregado de clara de huevo en polvo (CH) concuerdan con estos autores, ya que las pérdidas por centrifugación obtenidas fueron similares a la formulación control con grasa (CG).

3.4.3. Análisis de la interacción matriz cárnica-agua por calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC)

En la Figura 3.12 se presenta un termograma típico obtenido por calorimetría diferencial de barrido modulada para las emulsiones cárneas crudas analizadas.

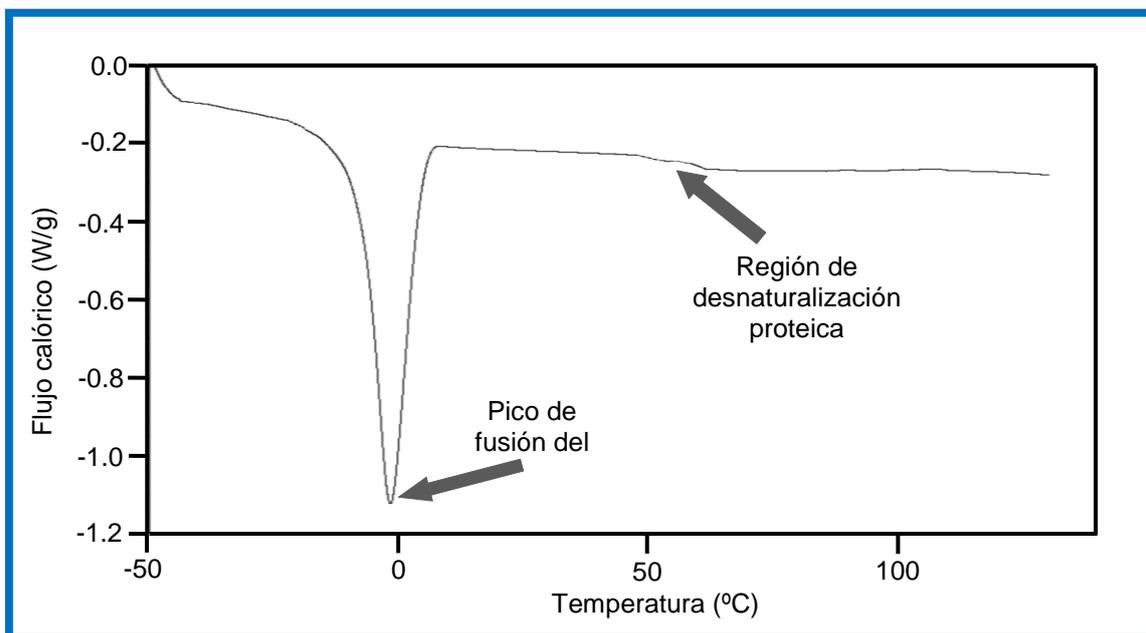


Figura 3.12. Termograma típico obtenido para las emulsiones cárnicas crudas.

Para todas las formulaciones evaluadas se observaron en los respectivos termogramas, el pico característico de fusión del hielo entre -1°C y -3°C y las transiciones de desnaturalización de las proteínas en el intervalo de $50 - 67^{\circ}\text{C}$.

En la Figura 3.13 se muestra la zona del pico de fusión del hielo de los termogramas respectivos a las diferentes formulaciones analizadas.

A partir de la integración de la endoterma de fusión de hielo se estimó la fracción de agua congelada de cada formulación. Si bien el calor latente de fusión del hielo efectivo disminuye al aumentar la concentración de la solución, dicha disminución depende del tipo y concentración de los solutos y es pequeña en el caso de soluciones diluidas. Así, en el caso de una solución de NaCl, cuando la concentración de soluto aumenta de 0 a 5 g/100g, la entalpía de fusión (ΔH) disminuye sólo de 333.9 a 330 J/kg (aproximadamente un 1.2%, Kumano y col., 2007). Por lo tanto, se utilizó el valor de entalpía del agua pura (ΔH_0) para aproximar la entalpía de la solución. Los porcentajes de agua no congelada calculados se informan en la Tabla 3.7.

La incorporación de todos los biopolímeros evaluados produjo un incremento del contenido de agua no congelada. Algunas de las formulaciones (Carr, XL, L y MC) duplicaron o triplicaron estos valores respecto a los controles dado que la interacción polímero-agua afecta la movilidad del agua en la matriz (Hills, 2007). Un efecto similar se ha observado por adición de diferentes proteínas de leche a una matriz de pescado procesado (Tsai y col., 1998).

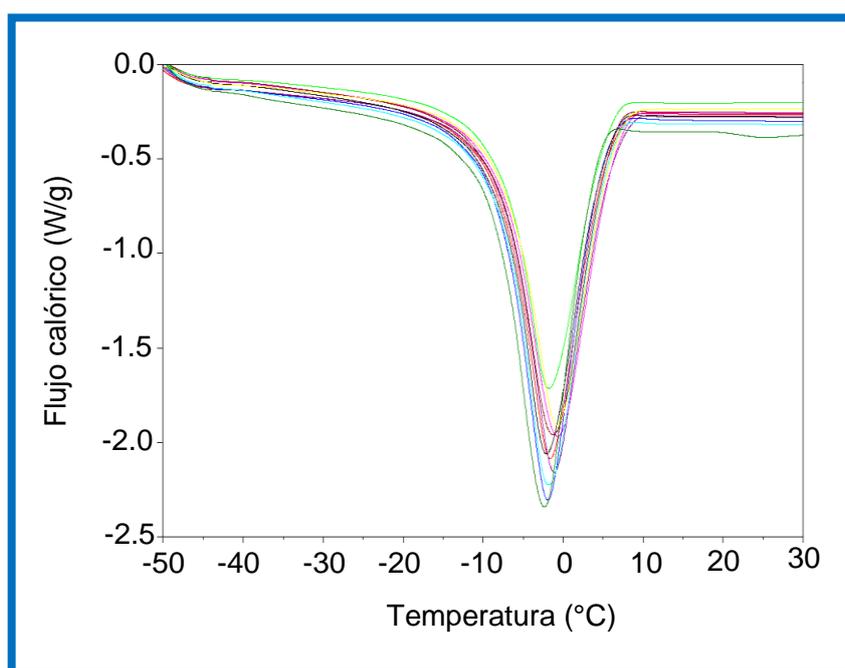


Figura 3.13. Termogramas en la zona de fusión de hielo correspondientes a las formulaciones estudiadas. Códigos: WPC = —, WPCMod = —, L = —, CH = —, Carr = —, HPMC = —, MC = —, XL = —, CG = —, CA = —.

Los valores más elevados de agua no congelada correspondieron a la incorporación de proteínas de leche (L) y a las formulaciones con hidrocoloides, exceptuando HPMC. El resto de los tratamientos (proteínas no cárnicas: WPC, WPCMod y CH) mostraron

valores intermedios de agua no congelada, siendo siempre los controles las formulaciones con un menor valor de este parámetro.

Las formulaciones L y MC presentaron valores similares de agua no congelada, de humedad y rendimiento, pero arrojaron valores marcadamente distintos de pérdidas por centrifugación (MC = 3.8 g/100g y L = 22.9 g/100g), quizá asociado a las extremas condiciones en este último ensayo.

Tabla 3.7. Contenido de agua no congelada (g/100g) de las emulsiones cárnicas crudas evaluadas a partir de termogramas obtenidos por MDSC.*

| Formulación** | Agua no congelada (g/100g de agua) |
|---------------|------------------------------------|
| WPC | 19.34 ^c ± 0.23 |
| WPCMod | 17.30 ^{de} ± 0.18 |
| L | 22.92 ^b ± 0.14 |
| CH | 17.83 ^d ± 0.14 |
| HPMC | 16.10 ^e ± 0.18 |
| MC | 23.93 ^b ± 0.21 |
| XL | 26.28 ^a ± 0.19 |
| Carr | 26.86 ^a ± 0.18 |
| CA | 13.70 ^f ± 0.21 |
| CG | 8.74 ^g ± 0.17 |

*Medias con distintos supraíndices presentan diferencias significativas (P < 0.05).

**Código de las distintas formulaciones: WPC = proteínas de suero de leche; WPCMod = proteínas de suero de leche tratado térmicamente; L = proteínas de leche, CH = clara de huevo, Carr = (2:1) κ:ι – carragenanos, HPMC = hidroxipropilmetilcelulosa, MC = metilcelulosa, XL = combinación (2:1) de gomas xántica y garrofín, CG = control con grasa, CA = control con aceite.

El contenido de agua no congelada aumentó cuanto más fuerte era la interacción hidrocoloide-agua (Carr, MC, XL), lo que puede explicar los altos rendimientos (menos agua liberada durante el tratamiento térmico) y bajas pérdidas por centrifugación obtenidos en estas formulaciones, respecto a las que contenían proteínas no cárnicas. La correlación encontrada entre las pérdidas por centrifugación y el contenido de agua no congelada se muestra en la Figura 3.14 ($R^2 = 0.80$, P < 0.05).

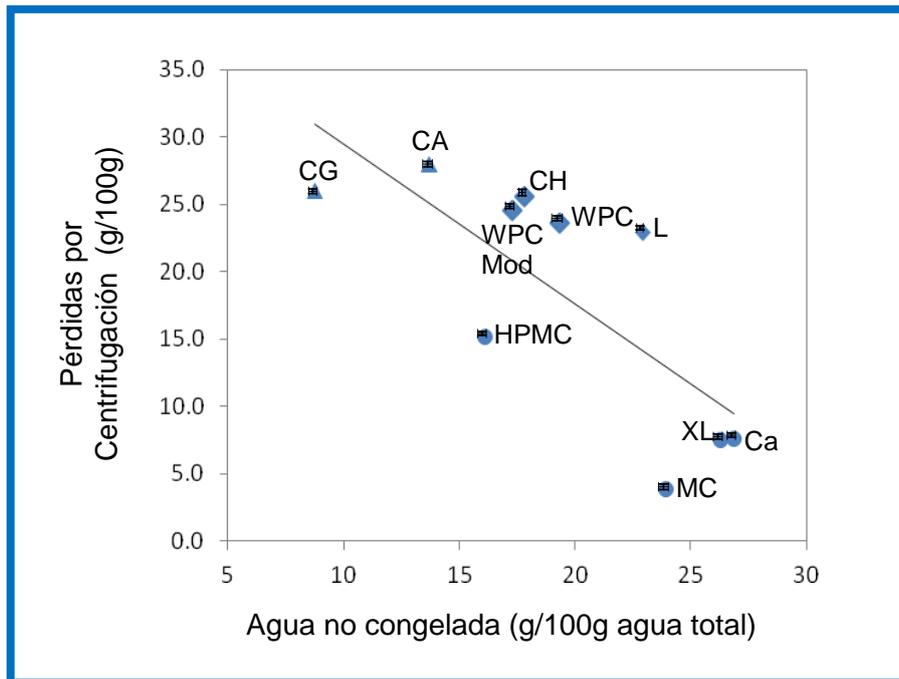


Figura 3.14. Relación entre las pérdidas por centrifugación y el porcentaje de agua no congelada de los productos elaborados. Los símbolos corresponden a formulaciones con:

- ◆ proteínas no cárnicas, ● hidrocoloides, ▲ controles CG y CA.

3.4.4. Efecto del tratamiento térmico sobre los sistemas estudiados

a) *Desnaturalización proteica*

La técnica de calorimetría diferencial de barrido (DSC) permite observar las temperaturas de desnaturalización de las proteínas cárnicas. Una curva típica obtenida por DSC (Figura 3.15) se compone de tres zonas de transición principales, I, II y III

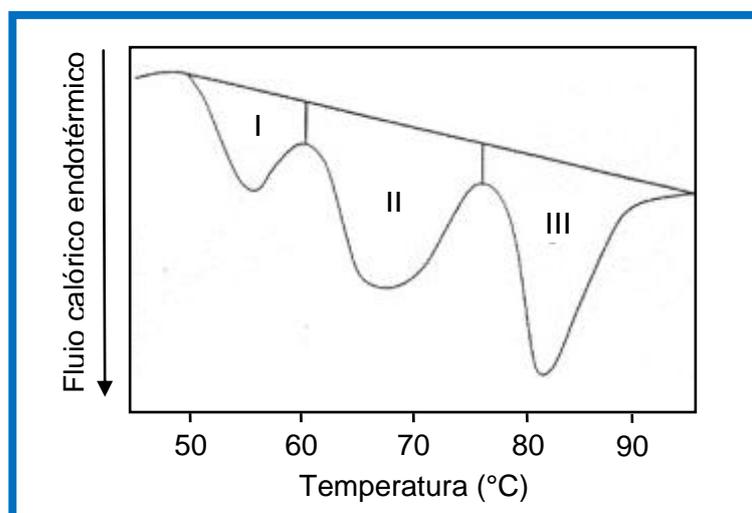


Figura 3.15. Transiciones térmicas de las proteínas cárnicas estudiadas por DSC

Fuente: Findlay y col. (1989)

Los eventos endotérmicos de las proteínas de la carne están típicamente agrupados en tres regiones, con temperaturas de pico alrededor de 54 - 58°C (Fernández-Martín, 2009) en relación con la porción de la cabeza de miosina, más termolábil (región I), 65 - 67°C para el resto de la miosina, colágeno y proteínas sarcoplasmáticas (región II), y 80 - 83°C relacionadas a la actina (región I) (Martens y Vold, 1976; Wright y col, 1977; Tornberg, 2005). Sin embargo las sales agregadas durante el procesamiento de la carne (NaCl, tripolifosfato de sodio) disminuyen la estabilidad térmica de las proteínas miofibrilares, por lo que la miosina y la actina convergen a un mismo pico de temperatura de desnaturalización, evolucionando prácticamente hacia un único proceso endotérmico (pico II, Kijowski y Mast, 1988; Graiver y col., 2006).

En la Figura 3.16 se muestran, a modo de ejemplo, los termogramas obtenidos por MDSC en la zona de desnaturalización proteica a partir de emulsiones cárnicas crudas de las formulaciones estudiadas.

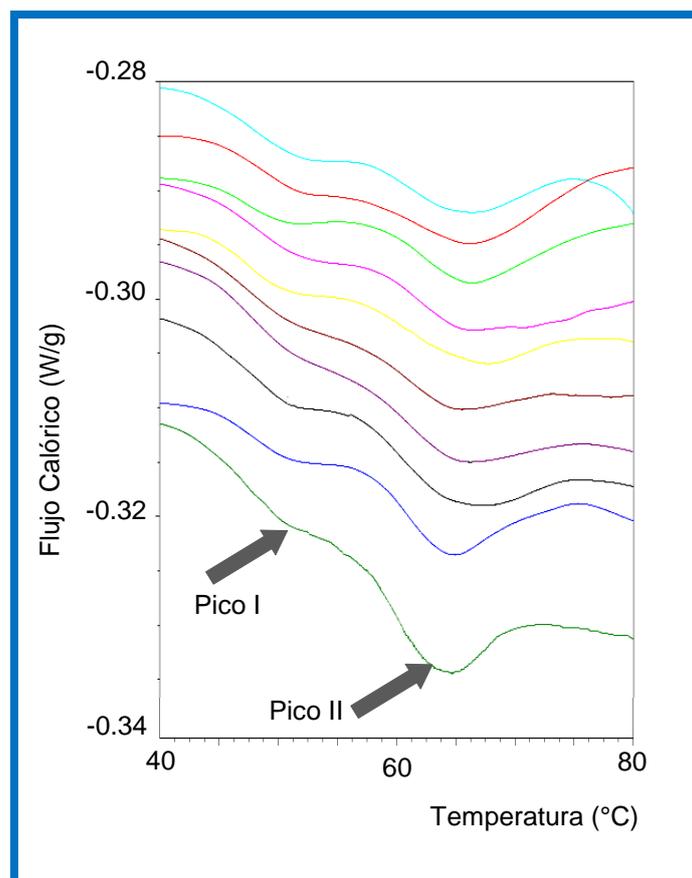


Figura 3.16. Termograma de distintas formulaciones crudas de emulsiones cárnicas en la zona de desnaturalización proteica. Códigos: WPC = —, WPCMod = —, L = —, CH = —, Carr = —, HPMC = —, MC = —, XL = —, CG = —, CA = —.

En todos los casos, se observó una endoterma compleja en la zona de desnaturalización de las proteínas, que comprende varios eventos endotérmicos superpuestos, típicos de sistemas de carne triturada con agregado de sales. Si bien se identificaron y determinaron dos temperaturas máximas de transición, la proximidad de ambos picos impidió su integración en forma individual, por lo que se calculó únicamente la entalpía total de desnaturalización proteica (Tabla 3.8).

Tabla 3.8. Entalpía total de desnaturalización proteica (ΔH) y temperaturas (T) de los picos I y II, correspondientes a las emulsiones cárnicas evaluadas.*

| Formulación** | T I (°C) | T II (°C) | $\Delta H_{\text{desnaturalización}}$ (J/g _{proteína}) |
|---------------|----------------------------|---------------------------|---|
| WPC | 52.0 ^b ± 0.05 | 66.1 ^{cd} ± 0.07 | 8.92 ^b ± 0.02 |
| WPCMod | 51.6 ^{ab} ± 0.16 | 65.4 ^b ± 0.26 | 9.72 ^a ± 0.09 |
| L | 52.8 ^c ± 0.001 | 66.6 ^{de} ± 0.12 | 7.11 ^c ± 0.11 |
| CH | 52.3 ^{bc} ± 0.001 | 66.2 ^d ± 0.05 | 6.98 ^c ± 0.01 |
| HPMC | 51.0 ^a ± 0.02 | 65.6 ^{bc} ± 0.17 | 9.69 ^a ± 0.01 |
| MC | 52.6 ^c ± 0.19 | 66.6 ^{de} ± 0.16 | 7.27 ^c ± 0.03 |
| XL | 53.3 ^d ± 0.13 | 66.7 ^e ± 0.05 | 6.90 ^c ± 0.03 |
| Carr | 54.5 ^e ± 0.03 | 67.0 ^e ± 0.08 | 7.57 ^c ± 0.07 |
| CA | 51.6 ^{ab} ± 0.11 | 64.5 ^a ± 0.05 | 9.75 ^a ± 0.2 |
| CG | 50.9 ^a ± 0.04 | 64.7 ^{ab} ± 0.02 | 9.87 ^a ± 0.05 |

*Supraíndices distintos en una misma columna, indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

**Código de las distintas formulaciones: WPC = proteínas de suero de leche; WPCMod = proteínas de suero de leche tratado térmicamente; L = proteínas de leche, CH = clara de huevo, Carr = (2:1) κ:1 – carragenanos, HPMC = hidroxipropilmetilcelulosa, MC = metilcelulosa, XL = combinación (2:1) de gomas xántica y garrofín, CG = control con grasa, CA = control con aceite.

La adición de algunas proteínas (WPC, L, y CH) o hidrocoloides (Carr, XL, y MC) disminuyó la entalpía total de desnaturalización proteica e incrementó ambas temperaturas de pico en comparación con los controles (CA y CG), debido a las diferentes cantidades de agua disponible para el proceso de desnaturalización (Tabla 3.8). Al encontrarse menos agua disponible, es decir, fracción de agua no congelada creciente, se observaron mayores temperaturas de desnaturalización, como puede observarse en las Figuras 3.17 y 3.18, obteniéndose una buena correlación entre las

temperaturas de pico de las respectivas transiciones y el contenido de agua no congelada (R^2 para TI = 0.89, $P < 0.05$ y R^2 para TII = 0.93, $P < 0.05$).

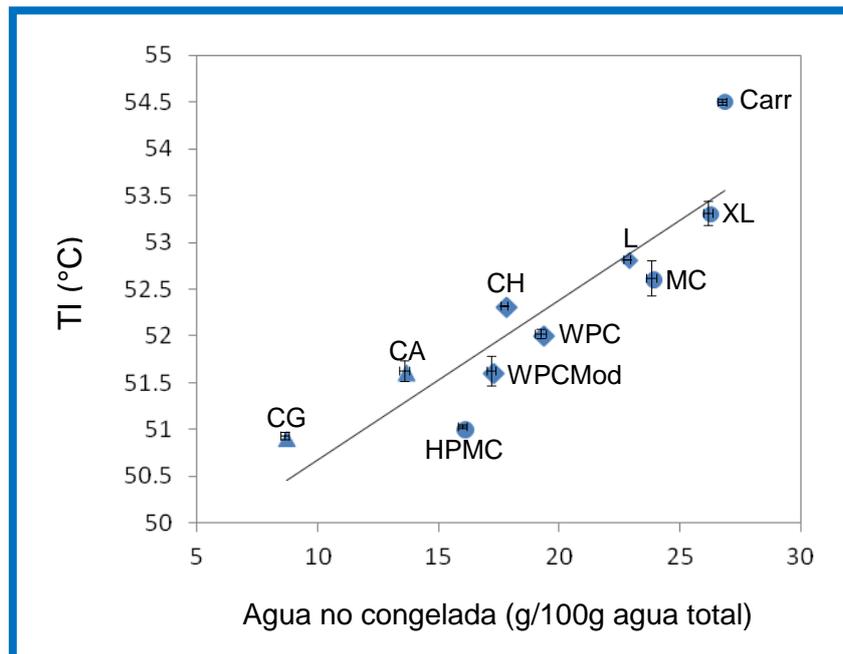


Figura 3.17. Efecto del contenido de agua no congelada en la temperatura de pico de la transición I de pastas crudas. Los símbolos corresponden a formulaciones con:

◆ proteínas no cárnicas, ● hidrocoloides, ▲ controles CG y CA.

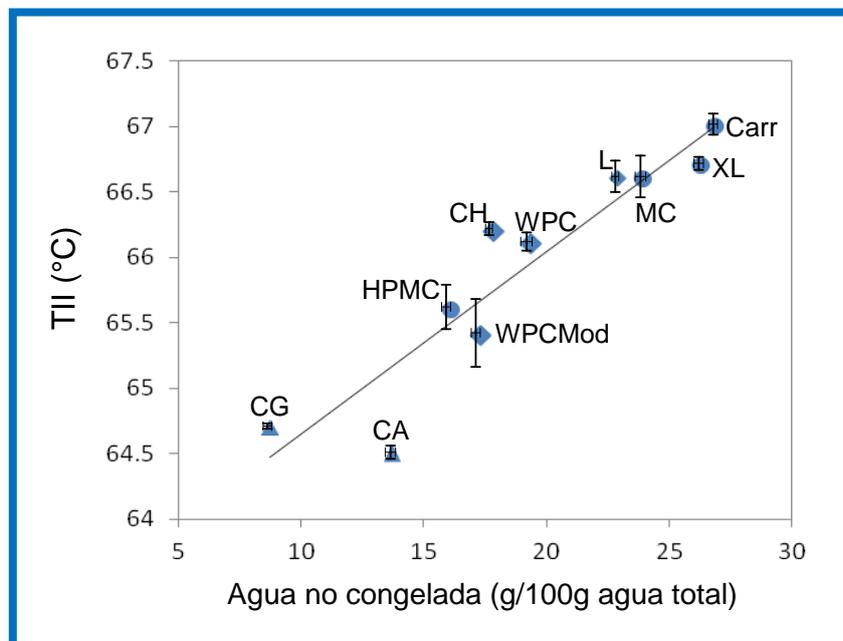


Figura 3.18. Efecto del contenido de agua no congelada en la temperatura de pico de la transición II de pastas crudas. Los símbolos corresponden a formulaciones con:

◆ proteínas no cárnicas, ● hidrocoloides, ▲ controles CG y CA.

Estos resultados concuerdan con lo reportado por Zhou y Labuza (2007), quienes informaron que una mayor movilidad de las proteínas debido a una mayor actividad de agua está relacionada con menores valores de temperaturas de desnaturalización y de transición vítrea. A su vez, Ma y col. (2012) informaron un incremento de los valores de TI y TII con la adición de goma garrofín a geles de proteínas sarcoplásmicas, lo que fue adjudicado a que se produciría una interacción entre las proteínas y la goma garrofín.

b) Transición vítrea del sistema

En el modo reversible del MDSC se pudo observar una leve o sutil transición vítrea en la región de desnaturalización proteica. En la Figura 3.19 se muestra el termograma correspondiente al proceso reversible correspondiente a una formulación conteniendo proteínas de leche (L), así como el trazado correspondiente a la derivada primera del flujo calórico reversible que fue empleada para determinar la Tg.

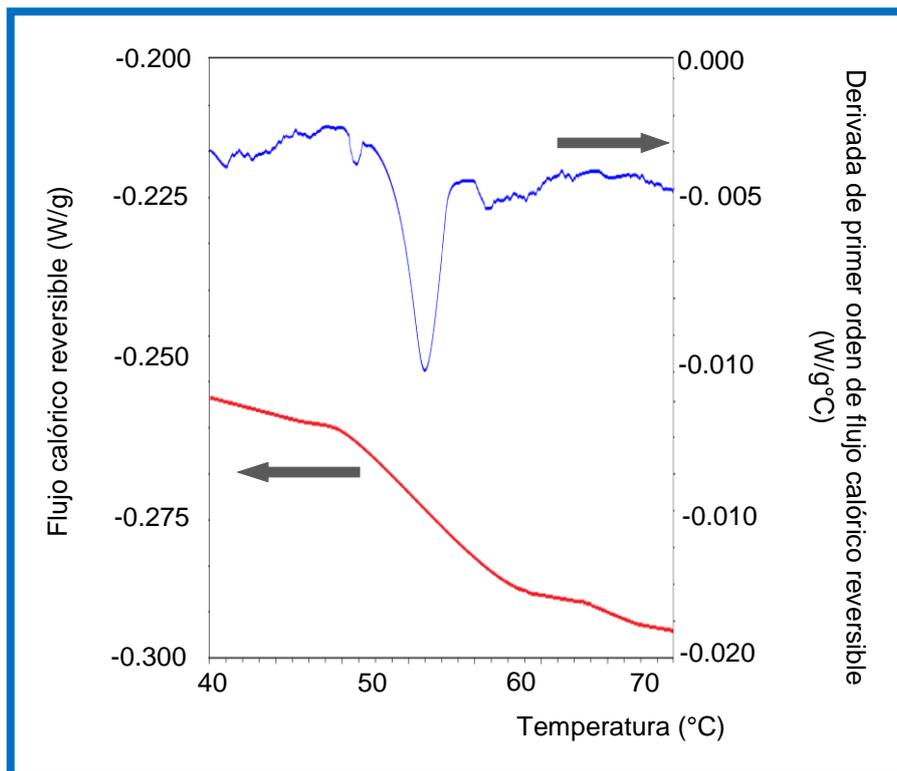


Figura 3.19. Termogramas de la emulsión cárnea conteniendo proteínas de leche (L) en la zona de transición vítrea.

Flujo calórico = —. Derivada primera del flujo calórico = —.

En el estado vítreo amorfo, las moléculas del sistema cárnico forman una red no periódica y no simétrica, presumiblemente, lo que resulta en una viscosidad extremadamente alta y por lo tanto las moléculas son inmovilizadas (Orlien y col., 2004). La incorporación de biopolímeros a sistemas alimentarios produce un incremento de la Tg. Los mecanismos físicos mediante los cuales los biopolímeros actúan no son conocidos con certeza (Akkose y Aktas, 2008).

La mayoría de las formulaciones presentaron una transición vítrea a una temperatura significativamente superior ($P < 0.05$) que las obtenidas para los dos controles (Tabla 3.9). Fernández-Martín y col. (2009) han informado mayores valores de Tg respecto al control, para pastas cárnicas conteniendo aceite de oliva y alga *Himanthalia elongata* ("spaghetti de mar"). Esto también coincide por lo informado por Kurozawa y col. (2009) quienes trabajaron con la incorporación de goma arábiga o maltodextrina a carne de pollo deshidratada. Encontraron que a menor disponibilidad de agua del sistema, los valores de Tg se vieron incrementados.

Tabla 3.9. Temperaturas de transición vítrea (Tg) de las distintas formulaciones analizadas.*

| Formulación** | Tg (°C) |
|---------------|---------------------------|
| WPC | 52.7 ^{cd} ± 0.02 |
| WPCMod | 52.3 ^{cd} ± 0.2 |
| L | 53.4 ^{bc} ± 0.03 |
| CH | 53.2 ^{bc} ± 0.02 |
| HPMC | 51.7 ^{de} ± 0.3 |
| MC | 53.3 ^{bc} ± 0.02 |
| XL | 56.2 ^a ± 0.7 |
| Carr | 54.3 ^b ± 0.07 |
| CA | 51.1 ^e ± 0.08 |
| CG | 50.8 ^e ± 0.02 |

* Supraíndices distintos indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

**Código de las distintas formulaciones: WPC = proteínas de suero de leche; WPCMod = proteínas de suero de leche tratado térmicamente; L = proteínas de leche, CH = clara de huevo, Carr = (2:1) κ:ι – carragenanos, HPMC = hidroxipropilmetilcelulosa, MC = metilcelulosa, XL = combinación (2:1) de gomas xántica y garrofín, CG = control con grasa, CA = control con aceite.

Los diferentes biopolímeros incorporados disminuyeron la movilidad del agua en los sistemas, lo que produjo cambios en la temperatura de transición vítrea (Tabla 3.9) y en las temperaturas de los picos I y II. Se encontró una correlación positiva entre la Tg y el

contenido de agua no congelada (Figura 3.20, $R^2 = 0.81$. $P < 0.05$); es decir, que cuanto menor era la cantidad de agua que se encontraba disponible para actuar como plastificante por estar "inmovilizada" por los biopolímeros agregados (mayor contenido de agua no congelada), la T_g resultaba superior. La fracción de agua no congelada es aquella que se encuentra formando las interacciones más fuertes con la matriz del gel cárnico. El incremento de la proporción de esta fracción puede explicar la menor movilidad molecular del sistema. Por lo tanto un mayor contenido de agua no congelada requerirá de mayor cantidad de energía para lograr incrementar la movilidad molecular. Esto puede relacionarse con una mayor temperatura de transición vítrea.

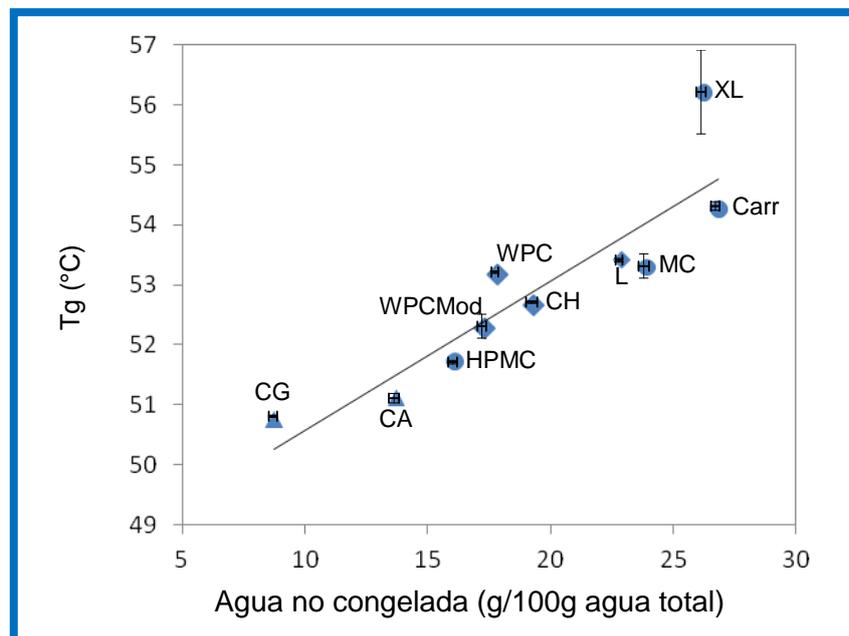


Figura 3.20. Efecto del contenido de agua no congelada en la temperatura de transición vítrea (T_g) de las emulsiones cárnicas. Los símbolos corresponden a formulaciones con:

- ◆ proteínas no cárnicas, ● hidrocoloides, ▲ controles CG y CA.

Finalmente del análisis simultáneo de las Figuras 3.14, 3.17, 3.18 y 3.20 se podría establecer un orden de los aditivos por su capacidad de interaccionar e inmovilizar el agua en el sistema cárnico estudiado. Este orden sería: $XL \approx Carr > MC > L > CH \approx WPC > WPCMod > HPMC \approx CA > CG$.

c) Comportamiento reológico durante el tratamiento térmico

Los ensayos oscilatorios dinámicos con barrido de temperatura se utilizaron para observar el comportamiento de los sistemas durante su calentamiento, simulando una

cocción “in situ”, si bien, debido a la imposibilidad técnica de equipo, a velocidades de calentamiento inferiores a las reales.

A modo de ejemplo se presenta un termo-reograma de la formulación XL. Donde puede observarse la evolución de los módulos de almacenamiento y pérdida así como la tangente de pérdida. El módulo elástico o de almacenamiento (G') fue siempre mayor que el módulo viscoso o de pérdida (G''). La tangente de pérdida ($\tan \delta = G''/G'$) fue inicialmente inferior a 0.25, mostrando un comportamiento predominantemente elástico (Figura 3.21), característico de los geles débiles (Ross-Murphy, 1984).

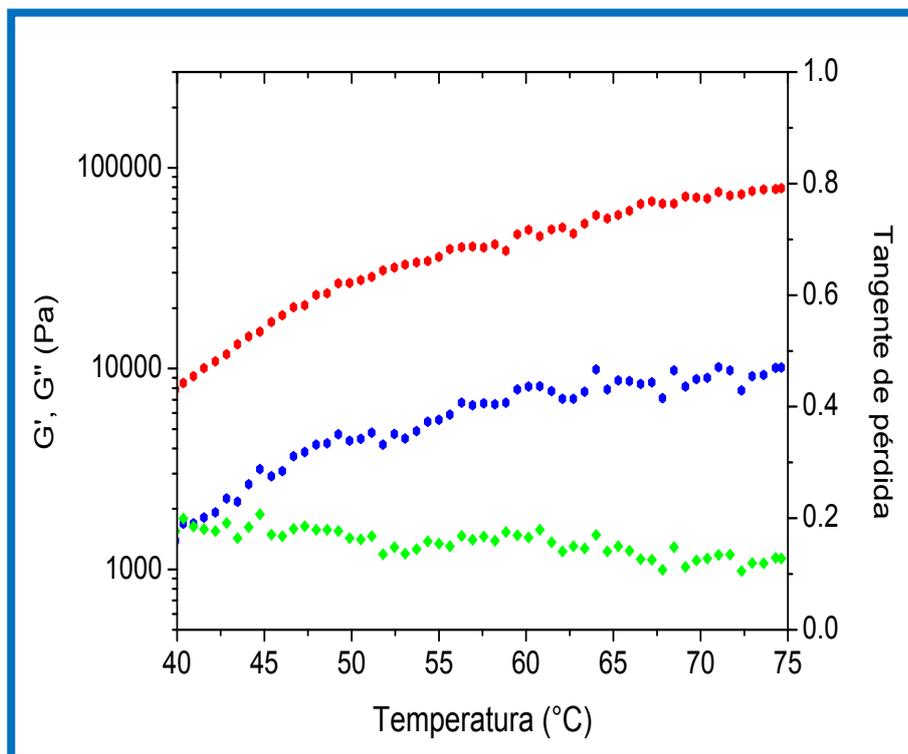


Figura 3.21. Espectro mecánico completo de la formulación XL.

Códigos: ■ módulo elástico, G' ; ■ módulo viscoso, G'' ; ■ Tangente de pérdida.

En este tipo de producto, los cambios macroscópicos observados debido al tratamiento térmico están relacionados con el efecto de la temperatura sobre los constituyentes de la emulsión cárnica (Carp y Pilosof, 2007). Las curvas muestran un comportamiento típico de gelación térmica de sistemas cárnica, donde la mayor parte de los cambios están asociados a la desnaturalización de la miosina (Tornberg, 2005; Westphalen y col., 2005). Durante el calentamiento de las emulsiones cárnica, se producen varias reacciones tales como gelificación de proteínas e interacciones entre los constituyentes de emulsión (Ferris y col., 2009). Existen varios modelos que explican la formación de la estructura de un gel cárnica. Uno de los modelos más usado propone que los mecanismos de

gelificación se ven afectados por muchos componentes y se clasificaría a estos sistemas cárnicos como geles mixtos, que son aquellos en los que las macromoléculas gelificantes forman de manera independiente dos o más redes tridimensionales sin interacciones entre los polímeros. Por lo tanto, la formación de geles mixtos en emulsiones cárnicas requeriría gelificación independiente dentro de las diferentes fracciones de proteínas del músculo, o la adición de un agente gelificante no cárneo (Foegeding, 1988; Hoogenkamp, 2011).

Al incrementarse la temperatura, el proceso de ruptura y formación de nuevos enlaces, produjo cambios estructurales que afectaron a las propiedades reológicas de la matriz; aumentó el módulo elástico (G') y se observó la disminución de $\tan \delta$ hasta valores inferiores a 0.1. Este comportamiento fue similar al reportado por Çakır y Foegeding (2011) y Savadkoobi y col. (2013) que indicaron la transición de una red débil a fuerte mediante el desarrollo de una red completa, lográndose un refuerzo progresivo del gel mediante la adición de más moléculas o alteraciones dentro de la red, a medida que se elevaba la temperatura.

El aumento del módulo elástico observado en estas muestras se debe principalmente a la formación-fortalecimiento de las interacciones hidrofóbicas y sulfhidrilo-disulfuro entre proteínas vecinas con poca contribución de puentes hidrógeno u otros enlaces polares (Montejano y col., 1984; Ferris y col., 2009).

La elevada rigidez de los geles cárnicos emulsionados es un indicativo del efecto de refuerzo que produce la fase dispersa (aceite). En términos moleculares, este refuerzo se puede atribuir al entrecruzamiento de las proteínas en las capas adsorbidas alrededor de las gotas, no sólo con proteínas desnaturalizadas, sino también con las proteínas agregadas en la fase acuosa. En otros términos, se puede decir que el capa viscoelástica de proteínas en la interfaz aceite/agua contribuye a soportar la importante carga para el material (Aguilera, 1993; Dickinson, 2012).

Los termogramas obtenidos mostraron distintos comportamientos según la formulación estudiada. Los controles CG y CA junto con la formulación con el HPMC mostraron los menores valores del módulo elástico en todo el rango de temperatura. El similar comportamiento reológico de los dos controles puede explicarse por el rango de temperaturas estudiado. Entre 30°C y 40°C ocurre la fusión de la grasa contenida en CG, de esta manera su aporte al comportamiento reológica durante la cocción (a partir de los 40°C evaluados) será similar al del aceite en CA, ya que ambas fases grasas se encuentran en estado líquido. El agregado de HPMC no afectó apreciablemente el comportamiento termo-reológico respecto de los controles CG y CA como puede verse en la Figura 3.22. En dicha Figura se muestran únicamente las curvas de G' y $\tan \delta$ ya que la

evolución de G'' se puede inferir de ambas propiedades, y a su vez es el parámetro que menos refleja los cambios transcurridos en el proceso de gelación.

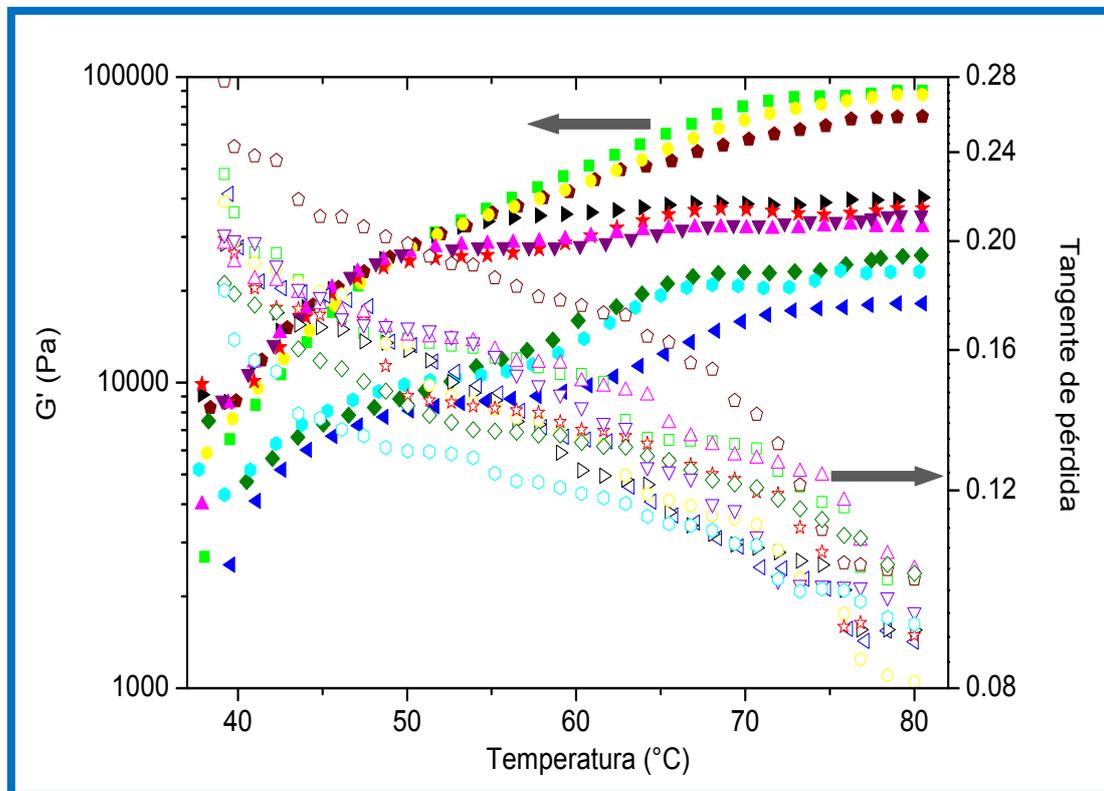


Figura 3.22. Curvas de gelación (G' , símbolos llenos) y tangente de pérdida (símbolos huecos). Símbolos: WPC = $\blacktriangleright\blacktriangleleft$, WPCMod = $\star\star$, L = $\blacklozenge\blacklozenge$, CH = $\blacktriangledown\blacktriangledown$, Carr = $\blacksquare\blacksquare$, HPMC = $\bullet\circ$, MC = $\blacktriangle\triangle$, XL = $\bullet\circ$, CG = $\blacklozenge\blacklozenge$, CA = $\blacktriangleleft\blacktriangleleft$.

El resto de los aditivos (Carr, XL, L, WPC, CH, MC y WPCMod) mostraron un comportamiento similar durante el tratamiento térmico hasta los 50-55°C llegando a valores de G' del orden de los 20000 Pa. Luego se pueden distinguir dos tendencias. Los termogramas de las pastas cárnicas con agregado de WPC, WPCMod, CH y MC no presentaron modificaciones sustanciales al valor de G' logrado hasta los 50-55°C. Sin embargo, para los termogramas del grupo de Car, XL y L se observó un aumento del carácter elástico llegando a valores de G' superiores a 70000 Pa. Esto puede atribuirse a diversos factores. La presencia de caseínas en la formulación con L (proteínas totales de leche) puede explicar el incremento del módulo elástico de estos sistemas respecto de las que contienen suero lácteo (WPC o WPCMod), por la mayor capacidad de gelificación de las caseínas respecto a las otras proteínas lácteas, ya que contienen un alto número de residuos hidrófobos (Dalgleish, 1998) que pueden formar agregados incrementando el carácter elástico de estos sistemas.

Los elevados valores del módulo de almacenamiento de XL y Carr serían consecuencia de una separación de fases. Çakır y Foegeding (2011) reportaron este efecto en geles de κ-carragenano y WPC, donde los carragenanos no contribuyen directamente a la formación de la red del gel a altas temperaturas, ya que se encuentran en la forma de ovillo desplegado (“random coil”), produciéndose una separación de fases entre el κ-carragenano disperso y grandes agregados proteicos. Esto produce un aumento de la concentración local de proteína en la fase continua, aumentando el módulo de almacenamiento en comparación con la de la proteína por sí sola.

La Tabla 3.10 muestra la temperatura de transición estimada por termo-reología y el promedio de los valores máximos de módulo elástico obtenidos a 80°C. Para determinar la temperatura de transición del módulo elástico se evaluó el cambio de pendiente de G' vs T. Para ello se buscó la intersección de las rectas resultantes de la proyección del módulo elástico en las zonas anterior y posterior a la zona de transición.

Tabla 3.10. Parámetros mecánicos y térmicos obtenidos de los ensayos termo-reológicos de las distintas formulaciones.*

| Formulación** | Temperatura de transición del módulo elástico (°C) | Máximo valor del modulo elástico (Pa) a 1Hz y 80°C |
|---------------|--|--|
| WPC | 56.1 ^c ± 0.3 | 29794 ^d ± 9 |
| WPCMod | 57.1 ^b ± 0.2 | 36646 ^c ± 13 |
| L | 56.2 ^c ± 0.3 | 73638 ^b ± 13 |
| CH | 56.5 ^{bc} ± 0.1 | 35074 ^c ± 10 |
| HPMC | 55.9 ^c ± 0.08 | 25677 ^d ± 7 |
| MC | 56.8 ^b ± 0.1 | 32367 ^c ± 9 |
| XL | 58.3 ^a ± 0.2 | 86084 ^a ± 22 |
| Carr | 57.8 ^a ± 0.3 | 88800 ^a ± 21 |
| CA | 56.4 ^{bc} ± 0.09 | 17969 ^e ± 8 |
| CG | 55.9 ^c ± 0.2 | 28028 ^d ± 10 |

*Medias con distinto supraíndices en una misma columna, presentan diferencias significativas (P < 0.05).

**Código de las distintas formulaciones: WPC = proteínas de suero de leche; WPCMod = proteínas de suero de leche tratado térmicamente; L = proteínas de leche, CH = clara de huevo, Carr = (2:1) κ:l – carragenanos, HPMC = hidroxipropilmetilcelulosa, MC = metilcelulosa, XL = combinación (2:1) de gomas xántica y garrofín, CG = control con grasa, CA = control con aceite.

Las temperaturas de desnaturalización de las proteínas, observadas reológicamente por barridos de temperatura aparecieron en el mismo rango (53°C-58°C) que las determinadas por calorimetría diferencial de barrido modulada para el pico I correspondiente a la transición de la fracción más termolábil de la miosina. Se encontró una dependencia lineal entre ambos parámetros (Figura 3.23, $R^2 = 0.81$. $P < 0.05$).

El módulo elástico G' continuó aumentando (levemente para WPCMod, CH, WPC, MC y mucho más para el resto de las formulaciones) durante el período de calentamiento posterior al punto de gelación alcanzando su máximo valor por encima de los 75°C, donde tanto la miosina como la actina se encuentran completamente desnaturalizadas.

Además, es importante destacar el aumento de G' producido por las proteínas del tejido conectivo como el colágeno durante el calentamiento. En estas condiciones, 60-70°C y alto contenido de agua, se produce la contracción longitudinal de las fibras de colágeno hasta una cuarta parte de su longitud original si no tienen restricciones, como en estos sistemas cárnicos (Siripurapu y col., 1987; Tornberg, 2005). El grado de contracción aumenta con la temperatura.

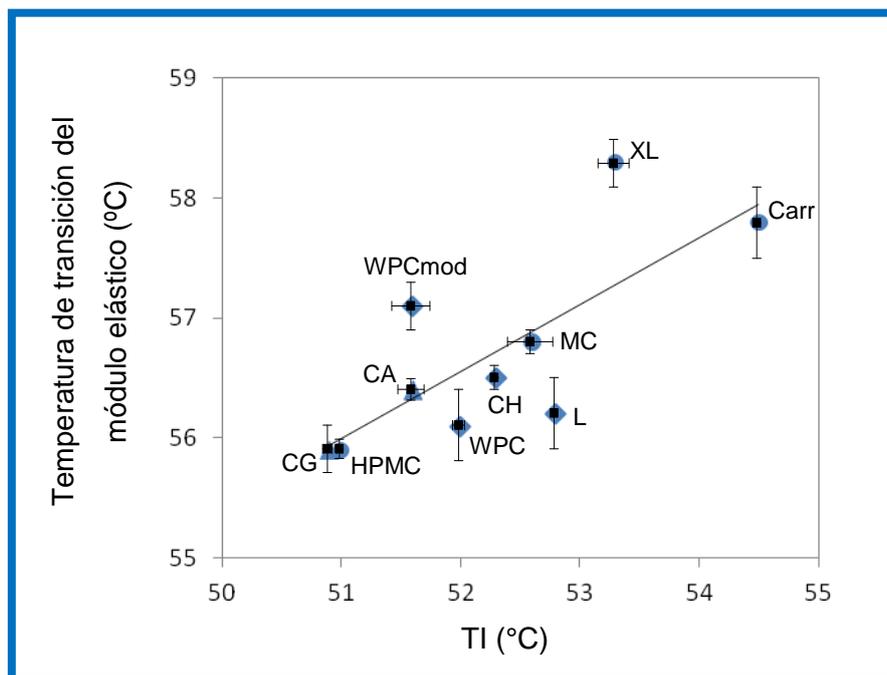


Figura 3.23. Correlación entre la temperatura de desnaturalización del pico I (TI) y la temperatura de transición del módulo elástico. Los símbolos corresponden a formulaciones con: ◆ proteínas no cárnicas, ● hidrocoloides, ▲ controles CG y CA.

Los resultados obtenidos coinciden con lo informado por Tornberg (2005) y Ferris (2009) quienes atribuyeron a la miosina el rol principal en el mecanismo de gelificación de

sistemas cárnicos emulsionados, por lo tanto será la desnaturalización de esta proteína la que modifique sustancialmente las propiedades reológicas del sistema, debido a que es una proteína que se encuentra en una proporción importante y su desnaturalización ocurre a bajas temperaturas. Sin embargo, para la formación completa de la matriz de un gel cárnico resulta indispensable la total desnaturalización proteica, debido a que la fracción proteica de la región II (principalmente actina) contribuye sustancialmente.

En cuanto al efecto de la adición de hidrocoloides y proteínas no cárnicas, las formulaciones conteniendo Carr y XL presentaron una mayor temperatura de transición del módulo elástico que los controles. Esto coincide con los datos analizados mediante la calorimetría diferencial de barrido donde estas formulaciones también mostraron los mayores valores de T_I, T_{II} y T_g, asociados a la menor movilidad del agua.

DeFreitas y col. (1997), encontraron que la adición de 0.5 g/100g κ-carragenano a una solución de proteínas sarcoplásmicas del 5% dio como resultado la formación de una red de gel de carragenanos atrapando físicamente a las proteínas cárnicas. Además Verbeken y col. (2005) encontraron que la adición de κ-carragenanos causó un aumento en el módulo complejo, la dureza, la resistencia del gel y la capacidad de retención de agua en un sistema modelo de gel cárnico. Sin embargo estos autores proponen que el carragenano no interactúa con las proteínas de la carne para participar en la formación de la red sino que la función del mismo es la de ocupar los espacios intersticiales de la red de proteínas, donde se une el agua y puede formar fragmentos de gel tras el enfriamiento.

También se han reportado interacciones entre las cadenas aniónicas de la goma xántica y las proteínas cárnicas.

La goma xántica al estar cargada negativamente puede interactuar con iones divalentes presentes en estos sistemas (p. ej. Ca²⁺ o Fe²⁺) estabilizando la proteínas cárnicas y presentando un importante efecto sinérgico con la adición de goma garrofín (Ramírez y col., 2002).

Por último, como se muestra en la Figura 3.24 se pudieron relacionar los resultados obtenidos por MDSC y termo-reología, obteniendo una buena correlación ($R^2=0.861$) entre la cantidad de agua no congelada y la temperatura de transición del módulo elástico en las muestras.

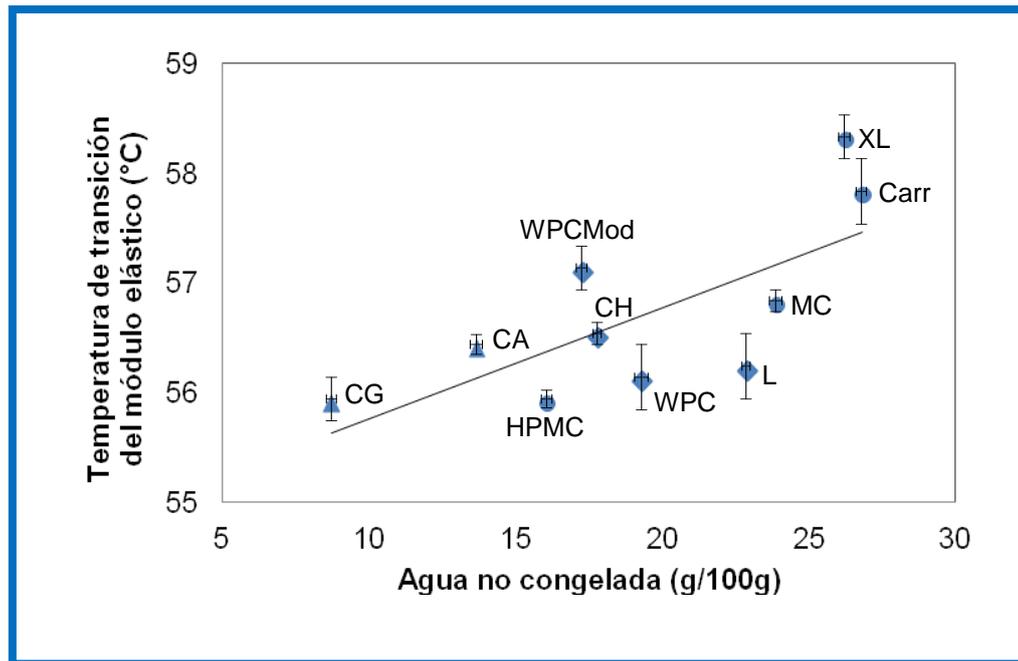


Figura 3.24. Correlación entre los valores de agua no congelada y la temperatura de transición del módulo elástico de las formulaciones estudiadas. Los símbolos corresponden a formulaciones con: ◆ proteínas no cárnicas, ● hidrocoloides, ▲ controles CG y CA.

Estos resultados indicarían que para el desarrollo de la matriz tipo gel cárnico de características elásticas a partir de la pasta cruda, que podría definirse como un sol, es necesario agua libre disponible, para interactuar posiblemente con las cadenas polipeptídicas. Por lo tanto a medida que la cantidad de agua libre disminuye (mayor agua no congelada), es necesario una mayor temperatura para poder desarrollar esta estructura de gel.

3.4.5. Caracterización reológica de las distintas emulsiones cárnicas cocidas estudiadas

Los resultados de los ensayos de cizalla oscilatoria en el rango viscoelástico lineal a 25°C de los productos cocidos, mostraron que este material se comportó en forma de un sólido viscoelástico, con $G' \gg G''$ por cerca de cuatro décadas, y una ligera dependencia del módulo de almacenamiento con la frecuencia. El módulo de pérdida presentó un mínimo a frecuencias intermedias (Figura 3.25).

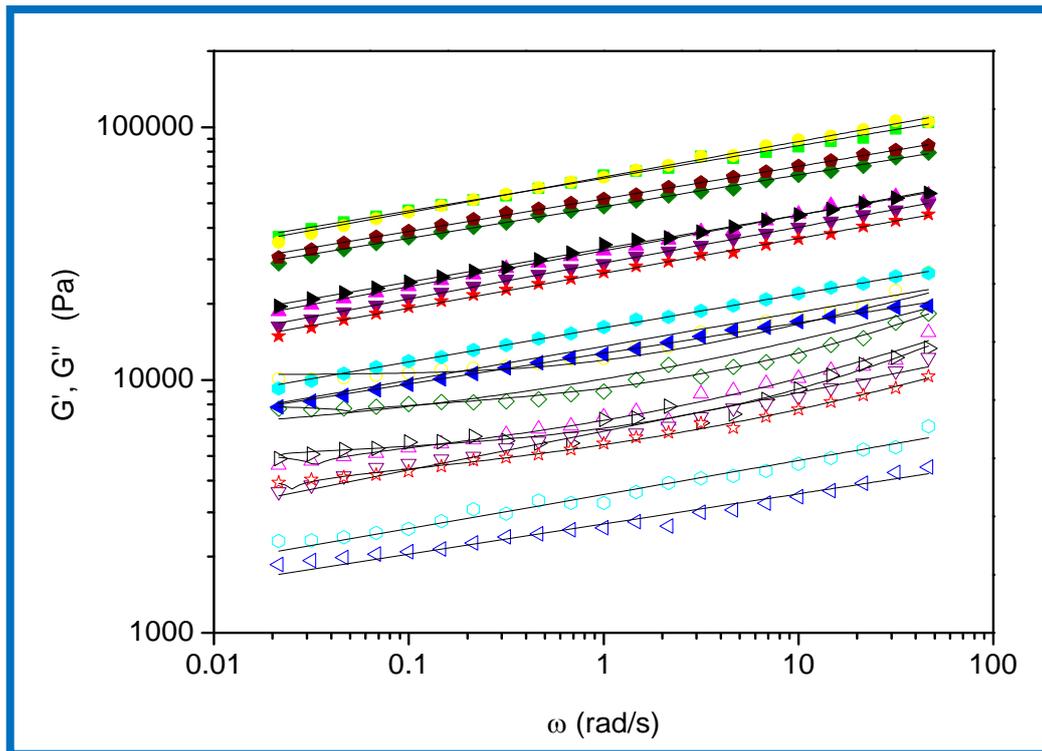


Figura 3.25. Variación de los módulos de almacenamiento (G' , símbolos llenos) y pérdida (G'' , símbolos huecos) con la frecuencia (ω) a 25°C de las distintas formulaciones cocidas. Símbolos: WPC = $\blacktriangleright\blacktriangleleft$, WPCMod = $\star\star$, L = $\blacklozenge\blacklozenge$, CH = $\blacktriangledown\blacktriangledown$, Carr = $\blacksquare\blacksquare$, HPMC = $\bullet\circ$, MC = $\blacktriangle\triangle$, XL = $\bullet\circ$, CG = $\blacklozenge\blacklozenge$, CA = $\blacktriangleleft\blacktriangleleft$. Las líneas (—) corresponden a las predicciones calculadas por el modelo ampliado de BSW.

La tangente de pérdida en la zona del “plateau” (meseta) presentó valores entre 0.08 y 0.25 (datos no mostrados) para las distintas formulaciones, lo que corresponde a un comportamiento tipo gel (Mours y Winter, 2000). La evolución de los módulos de almacenamiento (G') y de pérdida (G'') con la frecuencia resultó variar notablemente con la naturaleza de la macromolécula incorporada en la formulación. La aparición de un mínimo en G'' o de una región plateau en la dependencia de los módulos con la frecuencia ha sido relacionada previamente a la formación de entrecruzamientos físicos entre las moléculas de polímeros (Ferry, 1980).

Las formulaciones que incluían la combinación de carragenanos o gomas xántica-garrofín mostraron los mayores módulos elásticos, lo que refleja la formación de una importante red tridimensional. Estas muestras mostraron mayores características sólidas que la formulación control con grasa (CG). De esta manera el aporte a la componente sólida del sistema por parte de las gomas mencionadas resultó ser superior a la pérdida de estas propiedades originadas por el reemplazo de grasa sólida por el aceite de pescado, que es líquido a la temperatura ensayada. La formulación con proteínas de leche (L) resultó en

un sistema con características reológicas similares al CG; por otro lado, el resto de las formulaciones con proteínas no cárnicas presentaron perfiles menos elásticos, aunque siempre con un perfil menos viscoso que el control con aceite, CA.

Analizando las Figuras 3.22 y 3.25 se puede observar el cambio producido al enfriarse la matriz ya cocida. La formulación con grasa vacuna (CG) mostró un bajo valor de G' al final de la zona de calentamiento, cuando la grasa se encontraba fundida, mientras que los barridos de frecuencia de la emulsión cocida y enfriada a 25°C mostraron un aumento significativo del módulo elástico (de 25570 Pa a 48640 Pa). El G' a 25°C de salchichas con grasa (CG) fue tan alto como el de las formulaciones con carragenanos debido a que la grasa estaba nuevamente solidificada. El resto de las formulaciones (que contenían aceite de pescado) mostraron cambios menos marcados debido al enfriamiento. Además, de la relación esperada entre las propiedades reológicas y la temperatura, los cambios observados pueden atribuirse a la formación de otras interacciones no-covalentes entre proteínas desnaturalizadas durante la etapa de enfriamiento, tales como la gelificación del colágeno.

Los valores más elevados de G' en los experimentos de barrido de frecuencia están asociados a la formación de mayor cantidad de agregados covalentes y no-covalentes. Así, para formulaciones Carr, L y XL, la mayor formación de estos agregados produjo una matriz más cohesiva, lo que se vio reflejado en valores más altos del parámetro cohesividad obtenido mediante el TPA (Tabla 3.5).

3.4.6. Modelado matemático de los datos reológicos

Aunque los productos alimenticios tales como las salchichas son matrices complejas, pueden ser descriptos con cierta aproximación sobre la base de modelos simplificados. Las propiedades mecánicas de las salchichas pueden ser representadas por ciertas funciones de respuesta del material también conocidas como ecuaciones constitutivas o ecuaciones reológicas de estado (Tschoegel, 1997; Andrés y col., 2008; Ranalli y col., 2012). Estas funciones de respuesta pueden ser evaluadas mediante el ajuste de un modelo matemático para experimentos dinámicos oscilatorios obtenidos en el estado de viscoelasticidad lineal. Los módulos G' y G'' contienen toda la información necesaria para el cálculo del espectro de relajación ($H(\lambda)$) que no se puede medir directamente. En el rango de pequeñas deformaciones, se espera que los materiales poliméricos puedan ser caracterizados por un espectro de tiempos de relajación único, $H(\lambda)$.

El modelo de Maxwell simple, descrito en el **Capítulo 1**, constituye la base para obtener un modelo más complejo. Por sí mismo, no puede representar el comportamiento viscoelástico, porque no responde de forma adecuada a las excitaciones producidas tanto

por deformación como por esfuerzo. Un material viscoelástico muestra retardo de la deformación y relajación del esfuerzo, dependiendo de la excitación. El modelo de Maxwell de un solo elemento es capaz de predecir relajación del esfuerzo, pero no retardo de la deformación. Un número "N" de elementos de Maxwell (resorte y amortiguador en serie) conectados en paralelo con un elemento constituido por un resorte, conforma el modelo de Maxwell generalizado tal como se observa en la Figura 3.26.

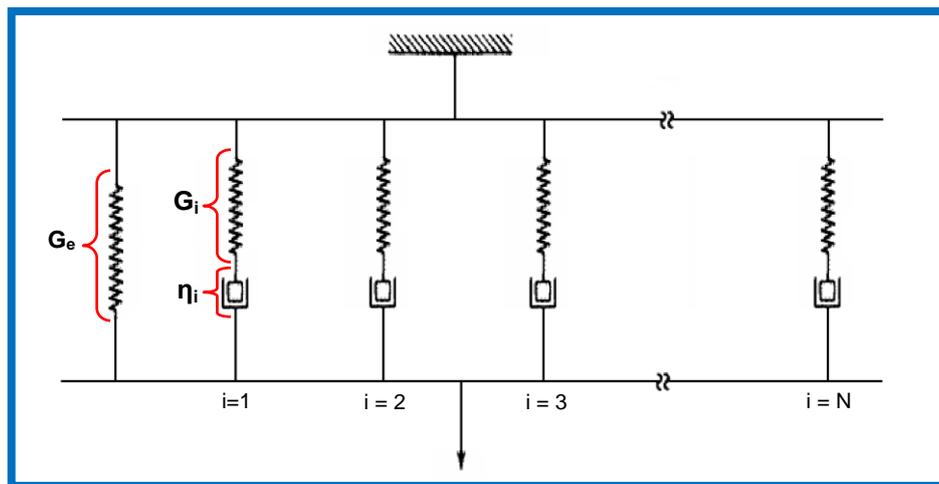


Figura 3.26. Esquema del modelo de Maxwell generalizado.

Generalizando para N elementos la ecuación descrita anteriormente (Ec. 1.15), el módulo de relajación resulta (Ferry, 1980):

$$G(t) = G_e + \sum_{i=1}^N G_i e^{-\frac{t}{\lambda_i}} \quad 3.3$$

Donde:

$G(t)$ representa una superposición de términos exponenciales.

G_e es el módulo de equilibrio que corresponde al elemento elástico compuesto por un resorte.

G_i es el módulo de relajación del i -ésimo elemento de Maxwell.

λ_i es el tiempo de relajación correspondiente a ese elemento.

$G(t)$ tiende a G_e cuando el tiempo de relajación tiende a infinito en el caso de sólidos, y posee valor cero en el caso de líquidos. Por otro lado G_i y η_i se relacionan mediante la siguiente ecuación:

$$\lambda_i = \frac{\eta_i}{G_i} \quad 3.4$$

De esta forma, la relajación viscoelástica puede ser interpretada como una superposición de procesos elementales en los cuales el esfuerzo relaja exponencialmente (Ferry, 1980; Tschoegel, 1997).

Se pueden obtener expresiones generales para las componentes real y compleja del módulo de relajación cuando se aplica una deformación sinusoidal, así para el módulo elástico o de almacenamiento resulta:

$$G'(\omega) = G_e + \sum_{i=1}^N G_i \frac{(\omega \lambda_i)^2}{1 + (\omega \lambda_i)^2} \quad 3.5$$

y para el módulo de pérdidas se tiene:

$$G''(\omega) = \sum_{i=1}^N G_i \frac{\omega \lambda_i}{1 + (\omega \lambda_i)^2} \quad 3.6$$

Si se dispone de un sistema de Maxwell con infinitos elementos en una escala de tiempos infinita, situación inalcanzable prácticamente, se puede definir un espectro continuo de relajación del material en función del tiempo, $H(\lambda)$. Entonces, el módulo de relajación lineal ($G(t)$) se puede calcular a partir de este espectro mediante las relaciones siguientes (Mours y Winter, 2000):

$$G(t) = G_e + \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{H(\lambda)}{\lambda} e^{-\frac{t}{\lambda}} d\lambda \quad 3.7$$

Donde:

$H(\lambda)$ representa la contribución infinitesimal para una variación infinitesimal del tiempo de relajación, y las expresiones para los módulos de almacenamiento y pérdidas son (Mours y Winter, 2000):

$$G' = G_e + \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{H(\lambda)}{\lambda} \frac{(\omega \lambda)^2}{1 + (\omega \lambda)^2} d\lambda \quad 3.8$$

$$G'' = \int_{-\infty}^{+\infty} \frac{H(\lambda)}{\lambda} \frac{(\omega \lambda)}{1 + (\omega \lambda)^2} d\lambda \quad 3.9$$

El disponer del espectro de un material representa una gran ventaja, ya que se puede tener un conocimiento de su comportamiento en un amplio intervalo de tiempo. En su obtención se pueden combinar distintos tipos de ensayos para cubrir este intervalo, ya que todas las funciones viscoelásticas están relacionadas y pueden ser calculadas a partir del mismo.

El espectro de un material caracteriza su comportamiento mecánico representado por las funciones viscoelásticas lineales. El conocimiento del espectro permite el cálculo de unas funciones viscoelásticas a partir de otras, lo que hace versátil su utilización. Por otra parte, el espectro de un material no es una función medible experimentalmente, por lo que se tiene que calcular a partir de valores experimentales de las funciones viscoelásticas lineales, las cuales sí son accesibles experimentalmente (Baumgärtel y col., 1990).

El comportamiento viscoelástico de los geles cárnicos emulsionados estudiados se describió utilizando el modelo ampliado de Baumgärtel, Schausberger y Winter (BSW) (Ec. 3.10) que describe los datos experimentales del barrido de frecuencia (G' y G'') correspondientes a moléculas lineales, largas y flexibles, con una amplia distribución de pesos moleculares. El espectro de relajación tiene la siguiente forma (Baumgärtel y col, 1989):

$$H(\lambda) = G_N^0 \left[A \left(\frac{\lambda}{\lambda_0} \right)^{-n_0} + n_e \left(\frac{\lambda}{\lambda_e} \right)^{n_e} \right] \exp \left[- \left(\frac{\lambda}{\lambda_{\max}} \right)^\beta \right] \quad 3.10$$

para $\lambda \leq \lambda_e$

$H(\lambda) = 0$ para $\lambda > \lambda_e$

Donde:

G_N^0 es el módulo plateau y corresponde a G' cuando la tangente de pérdida es mínima

A es un factor correspondiente a la transición vítrea

λ_e es el tiempo de inicio de la región pseudo-terminal

λ_0 es el tiempo de cruce en la transición vítrea

n_e y n_0 son las pendientes del espectro en la zona de entrecruzamiento y la zona de transición vítrea a altas frecuencias, respectivamente

β se vincula con la distribución de pesos moleculares y controla la nitidez del punto de cruce a la región vítrea del espectro.

Considerando las expresiones involucradas (Ec. 3.8, 3.9, 3.10) el ajuste resulta un problema no lineal que podría linealizarse eligiendo un conjunto N de valores de tiempos de relajación y calculando, mediante algún criterio matemático, los correspondientes coeficientes G_i . Se dispondría entonces de la versión discreta del espectro sustituyendo la integral por una serie.

La inversión de una única ecuación integral del tipo de la Ec. 3.8 para G' (o Ec. 3.9 para G'') se conoce como un problema “mal condicionado”, sin embargo, el mal condicionamiento del sistema prácticamente desaparece cuando se realiza la inversión de las dos integrales interrelacionadas (Mours y Winter, 2000).

El software desarrollado por H.H. Winter y M. Mours (IRIS Development LLC, MA, EE.UU.) contiene un procedimiento de cálculo robusto para la determinación de los parámetros del espectro propuesto, que trabaja con la inversión simultánea de las dos ecuaciones integrales previamente mencionadas (Ec. 3.8 y 3.9). Dicho software se utilizó para predecir, entonces, los parámetros del modelo BSW ampliado (Ec. 3.10), correspondientes a las emulsiones cárnicas gelificadas estudiadas (Winter y Mours, 2006). La Figura 3.24 muestra el excelente ajuste de los módulos de almacenamiento y pérdida predichos mediante el modelo BSW ampliado a los datos experimentales.

El modelo BSW ha sido satisfactoriamente empleado en varias oportunidades para representar el comportamiento de diferentes sistemas poliméricos y emulsionados (Bengochea y col., 2008; Franco y col., 1997; Quintana y col., 2002, Ranalli y col., 2012; Lorenzo y col. 2013). Uno de los parámetros del modelo regresionado, el módulo plateau (G_N^0), refleja la arquitectura molecular de los polímeros. Es proporcional a la cantidad de entrecruzamientos por unidad de volumen e inversamente proporcional al peso molecular medio del segmento molecular entre los entrecruzamientos (Flory, 1953). Los módulos plateau predichos por el modelo BSW ampliado para las diferentes formulaciones ensayadas se muestran en la Tabla 3.10. También se calcularon los G_N^0 directamente a partir de experimentos dinámicos, estimándolos a partir del mínimo en la tangente de pérdida según la metodología descrita por Ferry (1980), Baumgärtel y col. (1992), Larson y col. (2003), y Bais y col. (2005):

$$G_N^0 = [G']_{\tan \delta \rightarrow \min} \quad 3.11$$

En la Tabla 3.11 se puede observar la excelente concordancia de los módulos plateau predichos mediante ambos procedimientos.

Tabla 3.11. Módulos plateau predichos por el modelo BSW ampliado y determinado mediante la Ec. 3.11 directamente a partir de los datos experimentales.*

| Formulación** | Módulo Plateau BSW (Pa) | Módulo Plateau Ec. 3.11 (Pa) |
|---------------|--------------------------|------------------------------|
| WPC | 20220 ^{cd} ± 45 | 20513 ^{de} ± 25 |
| WPCMod | 18370 ^d ± 18 | 18260 ^e ± 10 |
| L | 27700 ^b ± 15 | 26533 ^{cd} ± 16 |
| CH | 20840 ^{cd} ± 22 | 19663 ^e ± 30 |
| HPMC | 14200 ^e ± 12 | 12677 ^f ± 16 |
| MC | 23750 ^c ± 18 | 21255 ^{de} ± 19 |
| XL | 36300 ^a ± 32 | 37543 ^a ± 27 |
| Carr | 30200 ^b ± 14 | 30100 ^{bc} ± 15 |
| CA | 5850 ^f ± 8 | 7728 ^g ± 16 |
| CG | 35770 ^a ± 31 | 33443 ^{ab} ± 20 |

*Medias con distinto supraíndice en una misma columna presentan diferencias significativas ($P < 0.05$).

**Código de las distintas formulaciones: WPC = proteínas de suero de leche; WPCMod = proteínas de suero de leche tratado térmicamente; L = proteínas de leche, CH = clara de huevo, Carr = (2:1) κ:ι – carragenanos, HPMC = hidroxipropilmetilcelulosa, MC = metilcelulosa, XL = combinación (2:1) de gomas xántica y garrofín, CG = control con grasa, CA = control con aceite.

Teniendo en cuenta que las funciones viscoelásticas lineales mostraron una dependencia de la frecuencia cualitativamente similar entre las distintas formulaciones estudiadas, se aplicó un método de superposición empírico. Como factor de normalización “a” se utilizó la inversa del módulo plateau G_N^0 ($a = 1/G_N^0$). Cabe destacar que este procedimiento matemático fue aplicado con éxito por Franco y col. (1997) quienes obtuvieron curvas maestras de los módulos de almacenamiento y pérdida para emulsiones con diversas relaciones aceite/agua y distintos agentes emulsificantes.

En la Figura 3.27 se muestran las curvas maestras dinámicas normalizadas de los módulos de almacenamiento y pérdida. Todos los datos se redujeron a una única curva maestra con una buena aproximación.

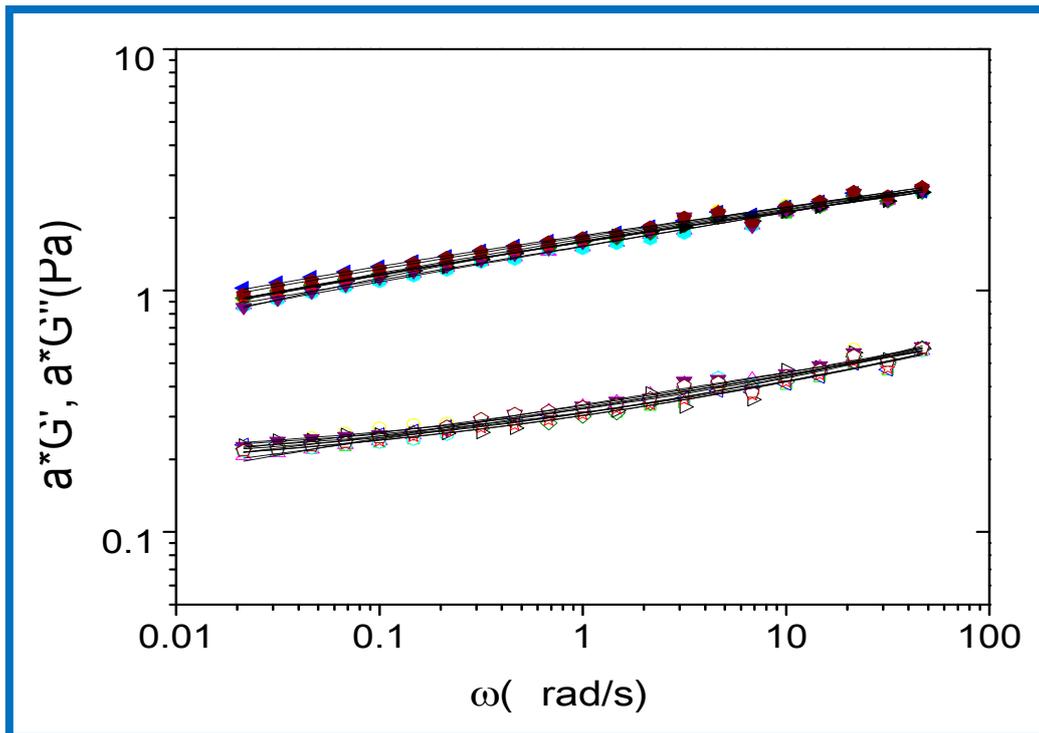


Figura 3.27. Curvas maestras dinámicas normalizadas de los módulos de almacenamiento (G' , símbolos llenos) y pérdida (G'' , símbolos huecos), y la predicción por el modelo ampliado de BSW, donde “ a ” = $1/G_N^0$. Símbolos: WPC = $\blacktriangleright\blacktriangleleft$, WPCMod = $\star\star$, L = $\blacklozenge\blacklozenge$, CH = $\blacktriangledown\blacktriangledown$, Carr = $\blacksquare\blacksquare$, HPMC = $\blacklozenge\blacklozenge$, MC = $\blacktriangle\blacktriangle$, XL = $\bullet\circ$, CG = $\blacklozenge\blacklozenge$, CA = $\blacktriangleleft\blacktriangleright$. Las líneas (—) corresponden a las predicciones calculadas por el modelo ampliado de BSW.

El hecho de que estas curvas maestras se puedan lograr mediante la aplicación de un método empírico de superposición vertical utilizando como factor de corrección el parámetro G_N^0 implica que los diferentes aditivos no modificaron el patrón general de la microestructura del sistema, sino que influyeron principalmente en el nivel de interacciones entre los componentes macromoleculares.

Es importante mencionar que los resultados reológicos vinculados a pequeñas deformaciones podrían estar relacionados con las propiedades texturales de las muestras. La textura es un ensayo que se realiza con grandes deformaciones, fuera del rango de viscoelasticidad lineal. Para los sistemas estudiados se encontró una buena correlación entre el módulo plateau y la dureza tal como se observa en la Figura 3.28 ($R^2 = 0.84$, $P < 0.05$).

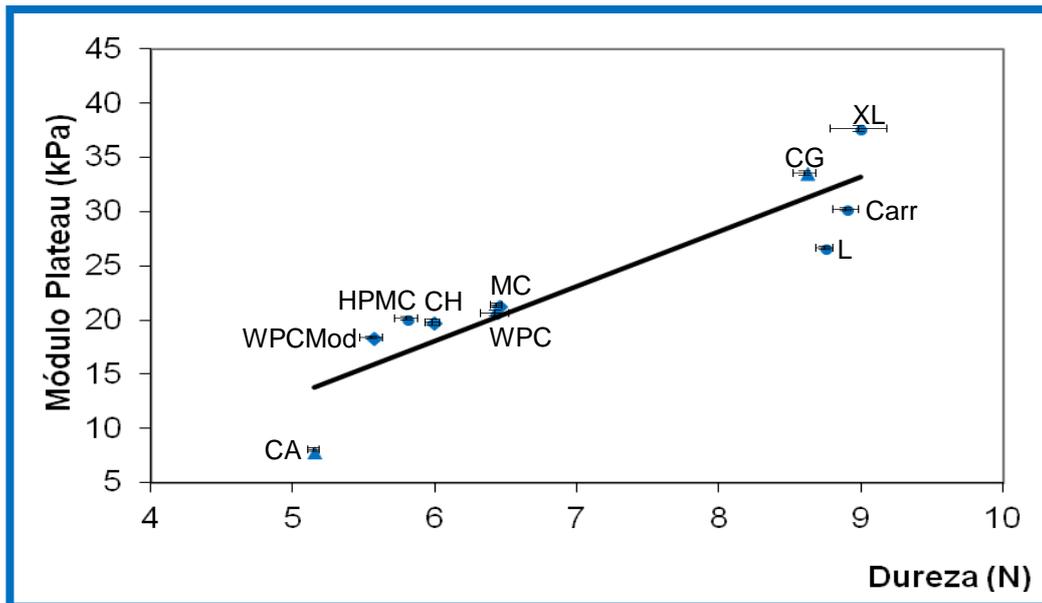


Figura 3.28. Correlación entre la dureza y el módulo plateau (G_N^0) de los distintos sistemas cárnicos cocidos.

Símbolos: ◆ = Proteínas no cárnicas; ● = Hidrocoloides; ▲ = Controles.

Código de las distintas formulaciones: WPC = proteínas de suero de leche; WPCMod = proteínas de suero de leche tratado térmicamente; L = proteínas de leche, CH = clara de huevo, Carr = (2:1) κ :1 – carragenanos, HPMC = hidroxipropilmetilcelulosa, MC = metilcelulosa, XL = combinación (2:1) de gomas xántica y garrofín, CG = control con grasa, CA = control con aceite.

3.5. Conclusiones del Capítulo

- La adición de diferentes proteínas no cárnicas o hidrocoloides en la formulación de salchichas conteniendo 5% de aceite de pescado pre-emulsificado permitió obtener productos con altos rendimientos, similares al control elaborado con grasa vacuna.
- La incorporación de proteínas de leche, carragenanos, o mezcla de gomas xántica-garrofín a las formulaciones con aceite de pescado permitió obtener productos con una dureza, masticabilidad y elasticidad, similar al control con grasa.
- Los diferentes biopolímeros incorporados disminuyeron la movilidad molecular de los sistemas. Esto se vio reflejado en los cambios de la cantidad de agua no congelada, en las temperaturas de transición vítrea y en las temperaturas de pico correspondientes a la desnaturalización proteica estudiadas mediante calorimetría diferencial de barrido modulada (MDSC).

- El comportamiento viscoelástico de emulsiones cárnicas cocidas fue satisfactoriamente modelado usando el modelo de BSW ampliado para predecir el espectro mecánico de relajación en el rango viscoelástico lineal. Los diferentes aditivos no modificaron el patrón microestructural global de los sistemas, sino que influyeron principalmente en el nivel de interacciones entre los componentes macromoleculares.
- Se vincularon los valores de los módulos plateau G_N^0 , que se relacionan con el número de entrecruzamientos de las cadenas poliméricas que conforman el gel cárnico, con el parámetro dureza del ensayo de perfil de textura. De esta manera se vincularon ensayos realizados con pequeñas deformaciones y dentro del rango de viscoelasticidad lineal (RVL) con ensayos fuera del RVL como el análisis del perfil de textura.
- La adición de las gomas κ /i-carragenano, xántica-garrofín, o concentrado de proteínas de leche produjo salchichas de carne vacuna saludables con características fisicoquímicas adecuadas y similares a la formulación conteniendo grasa vacuna.

CAPÍTULO 4

Optimización del contenido de proteínas no cárnicas e hidrocoloides en la formulación de geles cárnicos emulsionados saludables

4.1. Introducción

La mayoría de los hidrocoloides incorporados en la formulación de alimentos pueden actuar como agentes estabilizantes de emulsiones aceite/agua (O/W) pero sólo unos pocos pueden actuar como agentes emulsionantes. Esta última funcionalidad requiere actividad superficial sustancial en la interfase O/W, y por lo tanto la capacidad de facilitar la formación y/o estabilización de las pequeñas gotas de aceite durante y después el proceso de emulsificación (Dickinson, 2003; Dickinson, 2004).

La capacidad de las proteínas para formar y estabilizar emulsiones son parámetros críticos que afectan a la elección de una proteína para su uso en un proceso industrial. Las proteínas pueden reducir la tensión en la interfase O/W y ayudar a prevenir la coalescencia (Cano-Medina y col., 2011). La capacidad para estabilizar la emulsión está relacionada con la matriz de la membrana proteica que rodea la gota de aceite e impide su coalescencia (Jones, 1984).

A su vez, las proteínas globulares se consideran agentes emulsionantes eficaces a concentraciones relativamente bajas (< 1 g/100g), pero tienden a ser más sensibles a las influencias ambientales (por ejemplo, pH, fuerza iónica, procesamiento) en relación con otros tipos de agentes como los hidrocoloides (Stone y col., 2012).

En el desarrollo de productos de contenido lipídico reducido los procesos de sustitución de grasa basados en la incorporación de proteínas parecen ofrecer ventajas sustanciales pero normalmente se requieren mejoras en las características texturales que no pueden ser logradas únicamente con este reemplazo (Keeton, 1994). Sin embargo, el agregado de gomas en combinación con proteínas puede ser adecuado como sustituto de grasa.

Es necesario identificar combinaciones deseables de proteínas-hidrocoloides y estudiar su efecto sobre los parámetros de calidad de un producto como son las salchichas magras formuladas con aceites de origen marino, siendo importante considerar las posibles interacciones que surjan de la combinación de las distintas macromoléculas.

4.1.1. Interacciones entre proteínas no cárnicas e hidrocoloides en sistemas modelo

Cuando se producen interacciones entre macromoléculas actúan fuerzas repulsivas y atractivas entre ellas. De éstas subyacen dos fenómenos opuestos: la incompatibilidad o la formación de complejos (Tolstoguzov, 1990, 1996, 1997, 1998, 2003; Ledward, 1994; Turgeon y col., 2003). En la formación de complejos de proteínas con carga opuesta y polisacáridos aniónicos se pueden originar complejos tanto solubles como insolubles. La neutralización mutua de las cadenas que llevan cargas opuestas disminuye la carga neta y la hidrofobicidad en las zonas de unión obteniéndose una conformación compacta del

complejo, con las zonas de unión ocultas dentro de su interior hidrofóbico (Tolstoguzov, 2003). La neutralización de las cargas de un polisacárido aniónico también puede reducir la rigidez de sus cadenas principales debido a una disminución en las interacciones repulsivas de los grupos de igual carga (Figura 4.1).

La estequiometría de un complejo insoluble tiende a satisfacer la condición de su electroneutralidad, es decir, completa neutralización mutua de los reactivos macromoleculares. Debido a las limitaciones topológicas, las proteínas globulares y las cadenas de polisacáridos aniónicos rígidos no pueden lograr el contacto entre todos sus grupos cargados. Por el contrario, las proteínas con estructura desplegada (tal como gelatina, caseína y proteínas de almacenamiento de semillas desnaturalizadas) tienden a formar un número máximo de contactos con un polisacárido de carga opuesta (Turgeon, 2003).

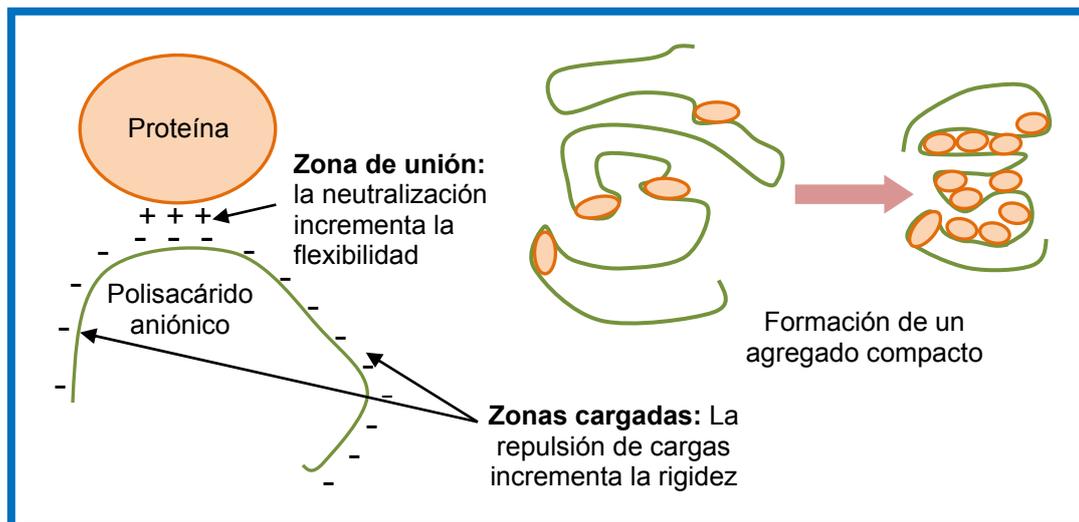


Figura 4.1. Esquema de la interacción y la formación de un complejo entre una proteína globular y un polisacárido aniónico.

Por naturaleza, la separación de fases en sistemas de proteína-polisacárido es un proceso cinético. Surge de las fluctuaciones locales de la concentración de biopolímeros dentro del volumen de la mezcla. Estas fluctuaciones pueden resultar de la mezcla ineficiente de los componentes, de las fluctuaciones de temperatura o interacciones específicas/no-específicas. Los modelos generales convenientemente utilizados para describir la cinética de separación de fases son nucleación-crecimiento (NC) o descomposición espinoidal (DE).

El primer modelo (NC) se caracteriza por fluctuaciones iniciales de concentración cortorango/alta-amplitud, mientras que el modelo de descomposición espinoidal ocurre a

través de las fluctuaciones amplio-rango/pequeña-amplitud (Maughey y col., 2001). La NC generalmente finaliza con pequeñas gotas esféricas dispersas en una fase continua, mientras que la DE exhibe una red interconectada en 3 dimensiones. Las características moleculares de los biopolímeros (peso molecular, conformación, densidad de carga, etc), factores que las afectan (pH, fuerza iónica, calidad del disolvente, etc.), condiciones de mezcla (relación, concentración total, etc.) y procedimientos de mezcla (tratamiento térmico, presión, cizallamiento, etc.) deben ser considerados como los determinantes de factores de incompatibilidad termodinámica (Figura. 3.2).

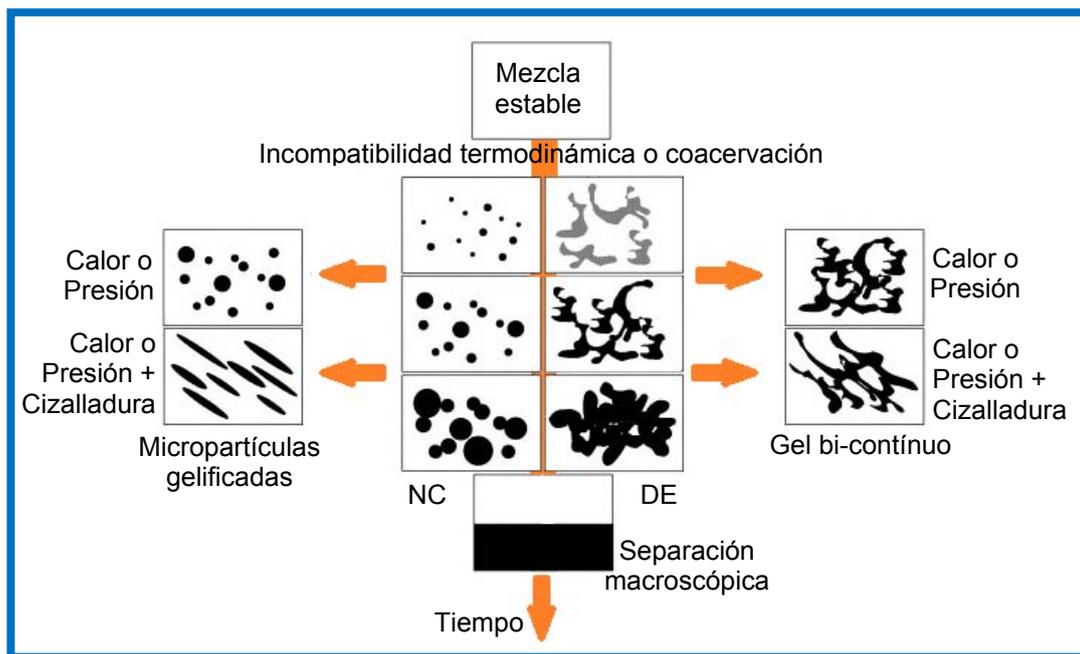


Figura 4.2. Esquema de los diferentes procesos de desestabilización de una mezcla de dos macromoléculas (adaptado de: Turgeon y col., 2003)

4.1.2. Interacciones entre proteínas no cárnicas e hidrocoloides en sistemas cárnicos

Sin embargo, conocer el comportamiento de ciertos pares hidrocoloide-proteína en sistemas modelo no asegura que en la matriz cárnica el resultado sea el mismo, ya que ambas macromoléculas podrían interactuar también con las proteínas miofibrilares o con la fase lipídica. Existe poca información bibliográfica sobre la compatibilidad de fase de las proteínas del músculo con otras proteínas o ingredientes alimentarios o de las consecuencias de estas interrelaciones sobre la calidad de los productos obtenidos

Los productos elaborados con carne finamente picada que contienen grasa, luego de ser sometidos a un tratamiento térmico adecuado, pueden considerarse correctamente como geles multicomponentes o emulsiones gelificadas. Es importante entonces, entender de

qué manera los componentes no cárnicos afectan las propiedades de la matriz miofibrilar gelificada. Algunos estudios sobre este tema muestran que las propiedades mecánicas de un gel compuesto (medidas por pequeñas deformaciones que producen fractura) dependen fuertemente del grado de interacción entre la fase continua proteica (miofibrilar) y la fase dispersa (lípidos, proteínas no cárnicas e hidrocoloides), y de la distribución y volumen de la fase dispersa en la matriz. El gel compuesto relleno (composite) no es el único modelo posible de la distribución de componentes. También pueden existir los sistemas compuestos denominados geles mixtos. En este caso, el componente de relleno (no miofibrilar) puede formar una segunda matriz en el interior de la matriz de proteínas de músculo o puede interactuar directamente con las mismas para formar una matriz sencilla de composición mixta (Fennema, 1996). La gelificación de las proteínas cárnicas es, en gran parte, responsable de la estabilización física y química de la grasa y el agua en los productos cárnicos emulsionados, y por lo tanto, contribuye a sus características deseables de textura y apariencia (Gordon y Barbut, 1992; Pietrasik y Jamoluk, 2003). Sin embargo, los componentes no cárnicos, derivados de una variedad de fuentes vegetales y animales, se utilizan habitualmente en la fabricación de productos cárnicos debido a sus propiedades funcionales, que incluyen la emulsificación, la capacidad de unión de agua y grasa, la mejora de las propiedades texturales y de apariencia.

Se pueden encontrar en la bibliografía diversos estudios donde se aprovechan los efectos de la combinación de distintos hidrocoloides y proteínas en sistemas cárnicos:

- Carragenanos y caseinatos de sodio en geles de proteínas de cerdo, que resultaron con una mayor dureza, masticabilidad y mejor retención de agua (Pietrasik y Jarmoluk, 2003).
- Proteínas de soja y konjac en un sistema modelo de mortadela magra, mejorando el perfil de textura (Chin y col., 1999).
- Carragenanos, almidón de maíz modificado, proteínas de soja y de leche en mortadela y salchichas con carne de pavo, logrando mejorar la textura (Dexter y col., 1993).
- Fibra cítrica y proteínas de soja en salchichas, incrementando la capacidad de retención de agua y la dureza (Cengiz y Gokoglu, 2007).
- Fibra de soja y proteína de plasma en mortadela, que mejoraron las capacidad de retención de agua de la matriz, la dureza y la liberación de aromas (Cofrades y col., 2000).

- Almidón de papa, fibra de avena, maltodextrina y proteínas lácteas en hamburguesas y salchichas, que incrementaron la capacidad de retención de líquidos y la jugosidad (Chevance y col., 2000).
- Suero de leche y almidón de papa en salchichas, que mejoraron la capacidad de retención de agua (Yetim y col., 2006).
- Goma xántica, goma guar y proteínas de suero lácteo en salchichas de pollo, que modificaron la dureza e incrementaron la cohesividad de la matriz (Andrés y col, 2006).

4.2. Objetivos específicos del Capítulo

El objetivo específico de este Capítulo fue seleccionar una proteína no cárnica y un hidrocoloide entre los distintos compuestos estudiados en el **Capítulo 3** para emplearlos combinados en la formulación de salchichas magras adicionadas con aceite de pescado.

Para esto se propuso:

1. Estudiar en sistemas modelo de geles mixtos el efecto de distintas combinaciones hidrocoloide-proteína no cárnica sobre la capacidad de formación de gel y la textura de los mismos, de manera de seleccionar una combinación potencialmente adecuada.
2. Relacionar el efecto de la concentración de la proteína no cárnica e hidrocoloide seleccionados a partir de los resultados en sistemas modelo sobre el rendimiento, pérdidas por centrifugación y textura de geles cárnicos emulsionados formulados con aceite de pescado.
3. Modelar matemáticamente las respuestas obtenidas para las distintas formulaciones siguiendo una metodología de Superficie de Respuesta.
4. Predecir el contenido de la combinación hidrocoloide-proteína no cárnica en el producto emulsionado magro formulado con aceite de pescado que optimice sus parámetros de calidad, logrando asemejarse al producto comercial tradicional, utilizando la metodología de función objetivo.
5. Validar dicha formulación optimizada elaborando el producto, determinando experimentalmente sus parámetros de calidad y comparando los resultados obtenidos con los valores predichos por los modelos matemáticos.

4.3. Materiales y Métodos

4.3.1. Materiales

Los materiales empleados en este **Capítulo** fueron similares a los previamente descriptos en la sección **3.3.1**.

El aceite de origen marino empleado correspondió a un lote de aceite de raya, el cual fue previamente refinado y deodorizado (OmegaSur S.A. Mar del Plata, Argentina) conteniendo 1000 ppm de tocoferoles incorporados por el productor.

Para la elaboración de los geles mixtos se empleó:

- agua destilada,
- clara de huevo en polvo (CH, Tecnovo S.A., Crespo, Entre Ríos, Argentina), con un contenido de 78% de proteínas,
- concentrado de proteínas lácteas (L, Milkaut S.A., Franck, Santa Fé, Argentina), con un contenido de proteínas de 80%,
- concentrados de proteínas de suero de leche modificado térmicamente y sin modificar (WPCmod y WPC, respectivamente, Arla Foods Ingredients S.A., Martinez, Buenos Aires, Argentina) con un contenido de proteínas de 78%.
- metilcelulosa (MC, Droguería Saporiti, Buenos Aires, Argentina),
- carragenanos iota (I) y kappa (κ) usados en una proporción κ :I 2:1 (Adama S.A., Buenos Aires, Argentina),
- mezcla de gomas xántica y garrofin en relación 2:1 (Sigma Aldrich, St. Louis, MO, EE.UU.).

4.3.2. Evaluación de combinaciones hidrocoloide-proteína en sistemas modelo

Con el propósito de encontrar una combinación de hidrocoloides y proteínas no cárnica entre los aditivos evaluados individualmente en el **Capítulo 3**, con potencialidad para ser incorporados simultáneamente en la formulación de salchichas magras con aceite de pescado, se estudió la capacidad de formar geles de diversos pares hidrocoloide-proteína no cárnica, y en caso de obtener un gel, determinar la firmeza de los mismos. Para ello se procedió a preparar geles con diferentes combinaciones de aditivos.

Los pares proteína-hidrocoloide analizados fueron:

- concentrado de proteínas lácteas + carragenanos (L+Carr)
- concentrado de proteínas suero lácteo + carragenanos (WPC+Carr)
- clara de huevo en polvo + carragenanos (CH+Carr)

- clara de huevo en polvo + mezcla xántica-garrofín (CH+XL)
- clara de huevo en polvo - metilcelulosa (CH+MC)

En todos los casos la concentración total (proteína + hidrocoloide) se mantuvo constante e igual a 4 g/100g de solución, variando las concentraciones de hidrocoloides y proteínas entre 0 y 4 g/100g. Se realizaron dispersiones en agua de los biopolímeros y, para asegurar la completa disolución de los componentes, se calentó a 80°C durante 10 min. Posteriormente se colocaron alícuotas de 20 ml en vasos de precipitados. Se dejaron enfriar a 4°C y se obtuvieron geles de 4 cm de diámetro y 1.5 cm de altura que se mantuvieron refrigerados durante 18 h hasta su análisis.

4.3.2.1. Evaluación de la capacidad de formación de gel

Se evaluó la capacidad de formar gel de las combinaciones proteína-hidrocoloide seleccionadas utilizando el método de Coffman y García (1977). Se observaron las muestras inclinando a 45° el recipiente. Las muestras que presentaron fluidez no fueron consideradas para el posterior análisis de textura ya que no se logró la formación de un gel.

4.3.2.2. Textura de geles

Para evaluar la textura de los geles obtenidos se realizó un ensayo de punción empleando un Texturómetro TAXT2i Texture Analyzer (Stable Micro Systems, UK) y una sonda de punción de 3 mm SMSP/3. La velocidad del ensayo fue de 1 mm/s, la máxima distancia de penetración fue de 60%, registrándose la fuerza del gel o “gel strength” como la fuerza necesaria para fracturar el gel expresada en N (Tabilo-Munizaga y col., 2005) y la distancia a la ruptura (DR), como la distancia recorrida por la sonda hasta producirse la ruptura, expresada en mm. Los ensayos se realizaron por cuadruplicado.

4.3.3. Optimización de la formulación de productos cárnicos emulsionados saludables utilizando metodología de superficie de respuesta

En base a los resultados obtenidos en la sección 4.3.2. y en el **Capítulo 3**, se seleccionó, entre los diferentes pares evaluados, una combinación de proteína no cárnica+hidrocoloide que correspondió a carragenanos + proteínas lácteas, y se procedió a realizar una optimización de las concentraciones de ambos componentes en la preparación de salchichas magras con aceite de pescado.

4.3.3.1. Diseño experimental empleado

Se empleó un diseño Box-Wilson central compuesto rotatable (Box y Draper, 1987), comúnmente llamado diseño central compuesto rotatable (DCCR). Este diseño es en realidad una combinación de un diseño factorial con puntos centrales y axiales (Figura 4.3). Los factores empleados fueron dos, el nivel del hidrocoloide y el de proteína no cárnica.

Si la distancia desde el centro del espacio de diseño a un punto factorial es de ± 1 unidad de cada factor, la distancia desde el centro del espacio de diseño a un punto axial es de $\pm \alpha$, con $\alpha > 1$. El valor preciso de α depende de las propiedades deseadas para el diseño y del número de factores implicados. El diseño central compuesto se puede hacer rotatable estableciendo los valores de los puntos axiales como $\alpha = (2^k)^{1/4}$. El valor de α para un diseño de dos factores es $\alpha = (4)^{1/4} = \sqrt{2} = \pm 1.414$.

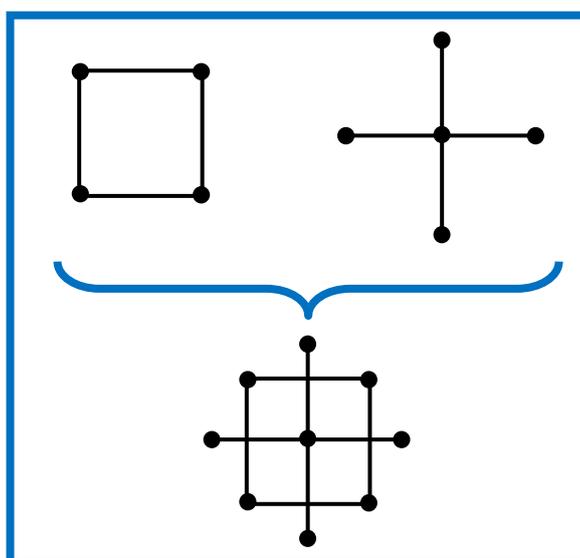


Figura 4.3. Combinación de un diseño factorial de dos factores con puntos centrales y axiales.

En este estudio, los niveles de hidrocoloides y proteínas no cárnicas variaron según los resultados previamente obtenidos. En la Tabla 4.1 se indican los niveles codificados que se emplearon en este diseño. La formulación 9 corresponde al centro del diseño (0,0) y se evaluó por triplicado, al inicio, mitad y al final del experimento, por lo que en total se prepararon 11 lotes de productos.

Tabla 4.1. Contenidos porcentuales y codificados de carragenanos y proteínas de leche en las diferentes formulaciones (1 a 9) de salchichas magras con aceite de pescado.

| Formulación | Carragenanos (Carr) | | Proteínas de leche (L) | |
|-------------|---------------------|------------|------------------------|------------|
| | g/100g | Codificado | g/100g | Codificado |
| 1 | 0.117 | -1.000 | 0.293 | -1.000 |
| 2 | 0.117 | -1.000 | 1.707 | 1.000 |
| 3 | 0.683 | 1.000 | 0.293 | -1.000 |
| 4 | 0.683 | 1.000 | 1.707 | 1.000 |
| 5 | 0 | -1.414 | 1.000 | 0 |
| 6 | 0.800 | 1.414 | 1.000 | 0 |
| 7 | 0.400 | 0 | 0 | -1.414 |
| 8 | 0.400 | 0 | 2.000 | 1.414 |
| 9 | 0.400 | 0 | 1.000 | 0 |

A su vez en la Tabla 4.2 se informan los restantes componentes comunes a todas las formulaciones estudiadas en este **Capítulo**.

Tabla 4.2. Ingredientes comunes a todas las formulaciones.

| Componente | g/100g |
|---------------------|--------|
| Carne* | c.s.p. |
| Agua | 25 |
| Aditivos (Carr + L) | ** |
| NaCl | 1.4 |
| TPP | 0.2 |
| Eritorbato de sodio | 0.045 |
| NaNO ₂ | 0.015 |
| Pimienta | 0.2 |
| Nuez moscada | 0.05 |
| Aceite de pescado | 5 |

*c.s.p.: cantidad suficiente para 100g de pasta cruda.

Los aditivos variaron según lo indicado en la **Tabla 4.1.

4.3.3.2. Elaboración de los productos

Para la elaboración de las muestras se siguió el protocolo descrito en **3.3.2**. En este caso, tanto los carragenanos como las proteínas de leche se incorporaron juntos en la emulsión aceite de pescado/agua.

4.3.3.3. Determinación de los parámetros de calidad

Se realizaron las siguientes determinaciones sobre las 11 formulaciones preparadas (9 formulaciones distintas, siendo el punto central, la formulación 9, replicada 3 veces).

- Rendimiento, según lo descrito en 3.3.4.1.
- Pérdidas por centrifugación, según lo descrito en 3.3.4.2.
- Análisis de perfil de textura (TPA), según lo descrito en 3.3.4.3.

4.3.4. Estimación de las superficies de respuesta

La Metodología de Superficie de Respuesta (MSR) es una estrategia de experimentación secuencial y modelado matemático que permite estimar las condiciones óptimas de operación de un proceso y mejorar significativamente su resultado en cuanto a costos, tiempos, eficiencia, productividad, cumplimiento de especificaciones, y mejorar su calidad. Permite que el investigador inspeccione de manera visual, la respuesta promedio para cierta zona de los niveles de los factores de interés y evaluar su sensibilidad a dichos factores.

La MSR puede ayudar en la investigación del efecto de la interacción de varias variables y en la construcción de un modelo matemático que describa con precisión el proceso global (Myers y Montgomery, 2002; Velioglu y col., 2010). Se ha utilizado con eficacia para optimizar formulaciones de una variedad de productos alimenticios tales como salchichas de bajo contenido graso, mortadela y pastas cárnicas o salchichas de cerdo (Carballo y col, 1995; Pietrasik y Li-Chan, 2002; Murphy y col, 2004). Es una poderosa técnica matemática y estadística para probar múltiples variables de un proceso y sus interacciones.

Dado que los factores estudiados presentan niveles cuantitativos, se puede determinar la respuesta (\hat{Y}) con respecto al factor (x) mediante una ecuación, siendo los polinomios de segundo grado ampliamente usados en este tipo de diseño (Cornell, 1981). Por lo tanto, el modelo polinomial usado como aproximación práctica a la función de respuesta verdadera o real correspondió a un polinomio de segundo orden completo, cuyos coeficientes se evaluaron utilizando el software Expert Design (trial version 7.1.6, Stat-Ease Inc., Minneapolis, EE.UU):

$$\hat{Y} = \beta_0 + \beta_{Carr} x_{Carr} + \beta_L x_L + \beta_{CarrL} x_{Carr} x_L + \beta_{CarrCarr} x_{Carr}^2 + \beta_{LL} x_L^2 \quad 4.1$$

Donde:

\hat{Y} es la respuesta predicha de la variable correspondiente (rendimiento, pérdidas por centrifugación, parámetros de TPA, etc.)

x_{Carr} y x_L son los contenidos codificados de las variables independientes (Carr y L, respectivamente) (Tabla 4.1)

β_i son los coeficientes del modelo.

Para cada respuesta se utilizó una metodología de eliminación tipo “paso a paso hacia atrás” (stepwise backward) para determinar los términos significativos de la Ec. 4.1. Los parámetros calculados fueron considerados significativos cuando las probabilidades calculadas resultaron menores que 0.05.

Luego de regresionar cada modelo predictivo, se llevó a cabo un análisis de residuos para validar las suposiciones usadas. La adecuación del modelo fue verificada utilizando un test de falta de ajuste o “lack of fit”. Se calculó además el coeficiente “precisión adecuada” (Adequate Precision) que mide la relación entre la señal y el ruido, y es deseable que su valor sea mayor que 4, por lo que en cada caso también se informa el valor obtenido. Luego de ajustar los modelos, se llevó a cabo un análisis de los residuos para validar las hipótesis en los ANAVA.

4.3.5. Metodología de optimización

Se utilizó una optimización multirespuesta para predecir la formulación óptima, empleando una metodología de “función objetivo o conveniencia”, d. Esta metodología se basa en el concepto de que la calidad de un producto o proceso tiene múltiples características, manteniéndose todas ellas dentro de los límites “deseados”. Con este método se determinan las condiciones operativas que proveen los valores de respuesta “más deseable” (Myers y Montgomery, 2002).

Para cada respuesta $\hat{Y}_j(x)$, la función de conveniencia $d_j(Y_j)$, asigna números entre 0 y 1 a los posibles valores de $\hat{Y}_j(x)$, con $d_j(Y_j) = 0$ que representa un valor completamente indeseable y $d_j(Y_j) = 1$ un valor de respuesta completamente deseable o ideal. En general, la conveniencia de cada respuesta debe ser mayor que cero como condición necesaria para establecer la conveniencia total de un sistema. En el intervalo [0,1] la conveniencia puede tener, según el caso, una variación lineal o no lineal, dependiendo de las condiciones propias del producto o proceso, que deberá ser previamente definida.

Dependiendo de si la respuesta particular predicha $\hat{Y}_j(x)$ va a ser maximizada, minimizada o asignado un valor objetivo en un rango determinado, se pueden emplear diferentes funciones objetivo $d_j(Y_j)$ (Derringer y Suich, 1980). La Ec. 4.2 se empleó para

definir el valor óptimo como el máximo de una respuesta; se utilizó la Ec. 4.3 para encontrar un mínimo de una respuesta y la Ec. 4.4 para encontrar un valor objetivo dentro de un rango deseado para una respuesta.

$$d_j = \begin{cases} 0 & ; & Y_{jMin} \geq \hat{Y}_j \\ \frac{(\hat{Y}_j - Y_{jMin})}{(Y_{jMax} - Y_{jMin})} & ; & Y_{jMin} < \hat{Y}_j < Y_{jMax} \\ 1 & ; & \hat{Y}_j = Y_{jMax} \end{cases} \quad 4.2$$

$$d_j = \begin{cases} 1 & ; & Y_{jMin} = \hat{Y}_j \\ \frac{(\hat{Y}_j - Y_{jMax})}{(Y_{jMin} - Y_{jMax})} & ; & Y_{jMin} < \hat{Y}_j < Y_{jMax} \\ 0 & ; & \hat{Y}_j \geq Y_{jMax} \end{cases} \quad 4.3$$

$$d_j = \begin{cases} 0 & ; & Y_{jMin} > \hat{Y}_j \\ \frac{(\hat{Y}_j - Y_{jMin})}{(Y_{jObj} - Y_{jMin})} & ; & Y_{jMin} \leq \hat{Y}_j \leq Y_{jObj} \\ \frac{(\hat{Y}_j - Y_{jMax})}{(Y_{jObj} - Y_{jMax})} & ; & Y_{jObj} \leq \hat{Y}_j \leq Y_{jMax} \\ 0 & ; & \hat{Y}_j > Y_{jMax} \end{cases} \quad 4.4$$

Donde:

\hat{Y}_j = respuesta particular predicha por el modelo

Y_{jMax} = valor máximo aceptado para la respuesta \hat{Y}_j

Y_{jMin} = valor mínimo aceptado para la respuesta \hat{Y}_j

Y_{jobj} = valor deseado para la respuesta \hat{Y}_j

Hay varias formas en las cuales se pueden combinar las conveniencias individuales d_j , una de ellas podría ser la media aritmética. Sin embargo, en la realidad existe una premisa básica: si una característica es tan pobre que no es conveniente el uso del producto, tal producto no debe ser aceptado. La reacción del consumidor a un producto está basada en gran medida en las características menos deseables de dicho producto debido a que son un foco de problemas potenciales (Harrington, 1965). Es por esto que el modelo matemático empleado es la media geométrica de los valores de conveniencia individuales (Harrington, 1965; Derriger y Suich, 1980) para obtener un valor de conveniencia global D:

$$D = \sqrt[n]{d_1 * d_2 * \dots * d_n} \quad 4.5$$

El valor de D (Ec. 4.5) es el más alto en condiciones donde la combinación de los diferentes criterios a nivel global es óptima y será nulo si al menos uno de los atributos resulta completamente indeseable.

En el presente trabajo, entonces, una vez que se calcularon las ecuaciones predictivas de aquellas variables respuesta que fueron afectadas significativamente por el contenido de carragenanos y/o proteínas de leche en el producto, se calcularon las funciones objetivo individuales y la función conveniencia global. Al aplicar esta metodología, se buscó maximizar el rendimiento y minimizar las pérdidas por centrifugación así como alcanzar valores de dureza y elasticidad similares a los que arrojó una muestra comercial con 20 g/100g de grasa.

4.4. Resultados y Discusión

4.4.1. Formación de geles mixtos y selección del par proteína-hidrocoloide a incorporar en la emulsión cárnica

En la selección de los pares proteína no cárnica-hidrocoloide a estudiar en sistema modelo se consideró que en el Capítulo anterior la incorporación de proteínas de leche (L), carragenanos (Carr), o mezcla de gomas xántica-garrofín (XL) a la formulación de los productos incrementó la dureza a valores similares al control con grasa (CG). Asimismo, con el agregado de proteínas de suero lácteo (WPC), proteínas de leche, clara de huevo en polvo (CH), carragenanos o mezcla de gomas xántica-garrofín se obtuvieron

rendimientos similares al control con grasa (CG), mientras que las pérdidas por centrifugación se vieron disminuidas con el agregado de los hidrocoloides Carr, MC o XL. Si bien las posibles combinaciones entre proteínas de leche (L), WPC y clara de huevo en polvo con los hidrocoloides Carr, MC y XL son nueve, no se incluyeron en esta etapa del estudio las combinaciones de L o WPC con XL y MC, por haberse encontrado en la bibliografía datos de incompatibilidad o interacciones negativas. Así, Syrbe y col. (1981) informaron incompatibilidades entre las proteínas lácteas con metilcelulosa (MC) y goma xántica en emulsiones aceite en agua. En el primer caso se describió un proceso de floculación por formación de puentes de MC, mientras que para la interacción goma xántica-proteínas lácteas se informó un proceso de cremado acelerado. También se ha sugerido un mecanismo de depleción-floculación para las interacciones entre proteínas lácteas y los galactomananos como la goma garrofin en emulsiones aceite/agua (Sittikijyothin, 2010).

La textura es un atributo de calidad que está fuertemente relacionado con las propiedades mecánicas y estructurales de los alimentos. La estructura de los geles está conformada por porciones pequeñas de sólidos dispersados en proporciones relativamente grandes de líquido, y se caracteriza por su propiedad de rigidez mecánica o su capacidad de soportar un esfuerzo cortante en reposo. Los geles tienen la notable capacidad de comportarse como un sólido mientras que conservan muchas de las características propias de los fluidos (Mulvihill y Kinsella, 1987; Tabilo-Munizaga y col., 2005).

Tradicionalmente, las mediciones de una sólo propiedad tal como la fuerza del gel se han utilizado por los proveedores y los usuarios para caracterizar distintos sistemas gelificados. Sin embargo, estas mediciones a menudo basadas en pruebas de ruptura, no son totalmente representativas del comportamiento mecánico general de los geles (Mulvihill y Kinsella, 1987; Tabilo-Munizaga y col., 2005). Por eso resulta importante estudiar otros parámetros como la distancia a la ruptura del gel o el módulo elástico. De esta forma se obtienen más parámetros para analizar y comparar distintas muestras.

Las distintas combinaciones de hidrocoloides con las proteínas no cárnicas evaluadas produjeron una amplia variedad de geles, excepto en los casos donde la concentración de carragenanos fue nula (0 g/100g), ya que las proteínas lácteas no gelificaron en las condiciones estudiadas.

La Figura 4.4 muestra, a modo de ejemplo, los perfiles obtenidos del ensayo de punción realizado para cada combinación proteína:hidrocoloide que gelificó, en relación 35:65.

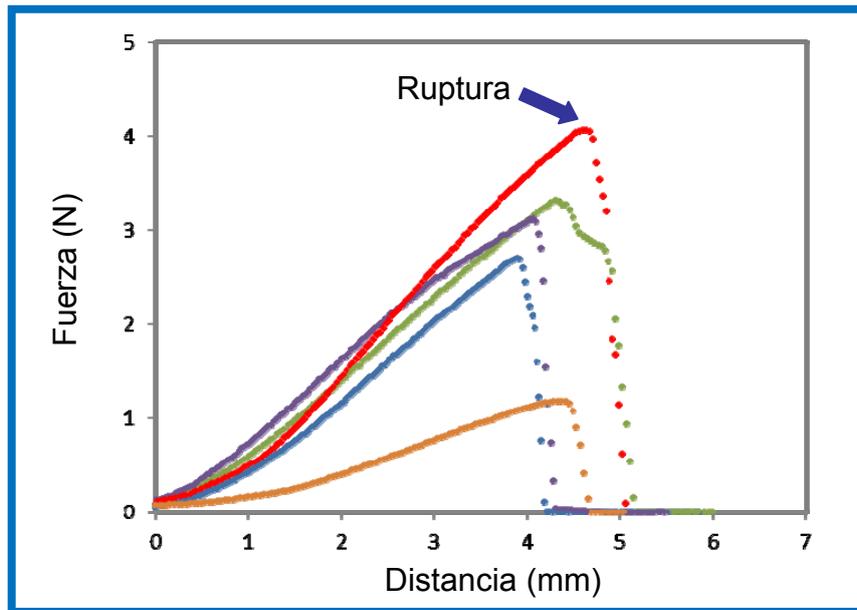


Figura 4.4. Ensayo de punción realizado sobre los distintos geles obtenidos.

Códigos: ● WPC+Carr ● L+Carr ● CH+Carr ● CH+XL ● CH+MC

Del análisis de estos perfiles se evaluaron los parámetros fuerza de ruptura y distancia a la ruptura en función del contenido de las macromoléculas presentes en los geles. En la Figura 4.5 se presentan los valores de fuerza de ruptura para los distintos geles estudiados. En el eje de abscisas se indica la proporción en base seca del hidrocoloide presente en el gel mixto. Como se indicó en 4.3.2, los geles se prepararon con una concentración total de sólidos constante (4 g/100g gel), por lo que los niveles de proteínas pueden inferirse por diferencia.

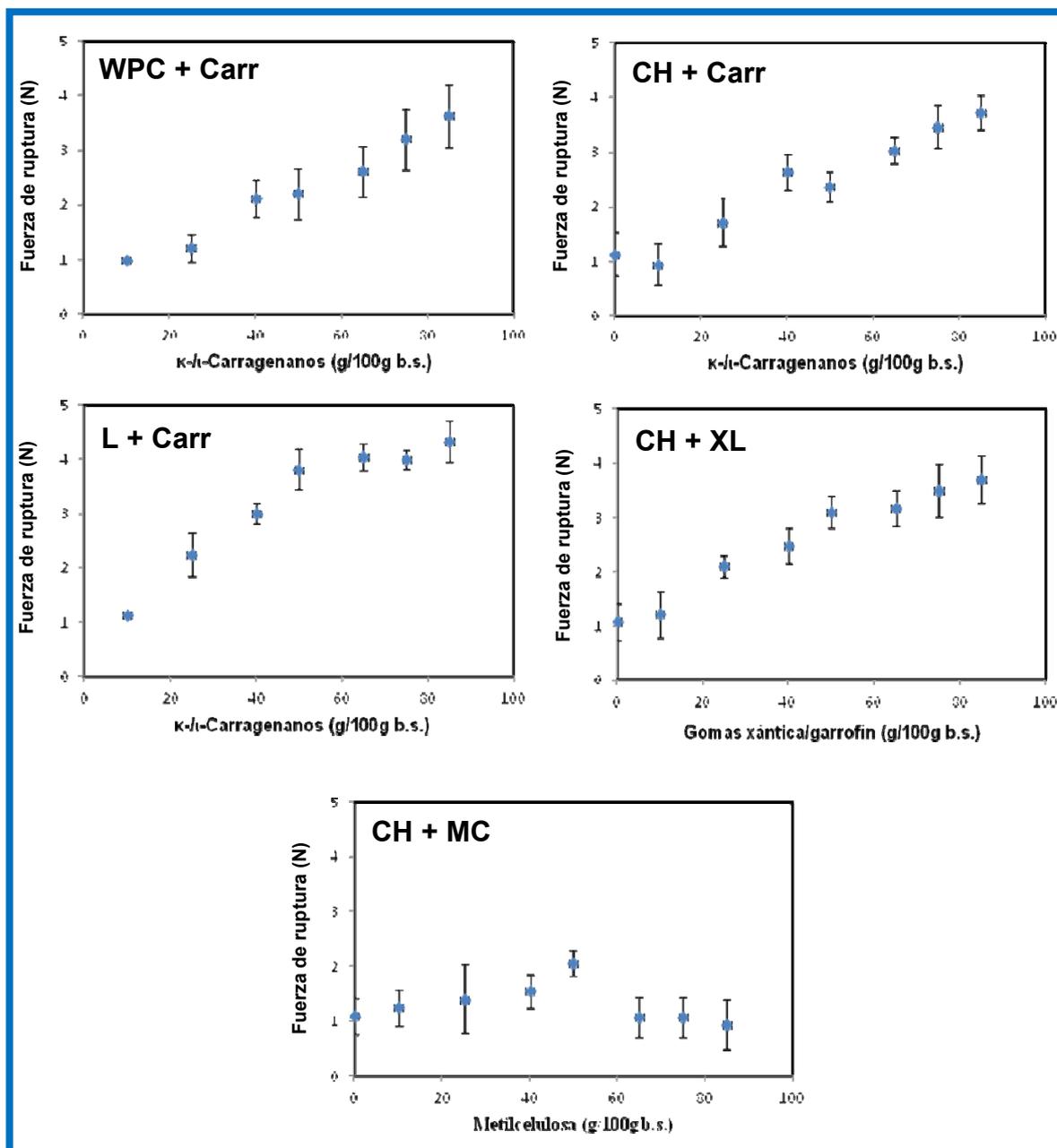


Figura 4.5. Fuerza de ruptura de los gels mixtos en función de la proporción de hidrocoloideos.

Se encontró una importante dependencia lineal de la fuerza de ruptura del gel con la concentración de hidrocoloideos para las combinaciones WPC+Carr, CH+Carr, CH+XL (Coeficiente de correlación de Pearson = 0.87, 0.86 y 0.84, respectivamente). En el caso de la combinación L+Carr se distinguieron dos zonas, la primera zona, de 0 a 50 g/100g (b.s.) de carragenano, donde se incrementó la fuerza de ruptura del gel con la concentración de carragenano, y la segunda, donde al aumentar la concentración de Carr por encima de 50 g/100g b.s. se produjo una disminución en la pendiente, siendo menor

la influencia de la presencia de Carr en la fuerza del gel.

Por otro lado, la combinación de clara de huevo y metilcelulosa (CH+MC) arrojó valores de fuerza de ruptura significativamente inferiores al resto de las formulaciones en todo el espectro de combinaciones de CH+MC estudiado. Además presentó una zona intermedia con mayores valores de fuerza de gel

La distancia a la ruptura del gel se relaciona con la integridad estructural del mismo (Luo y col., 2001), por lo que se usó este parámetro para complementar la información proporcionada por el valor de fuerza de ruptura. En la Figura 4.6 se muestran los valores de distancia de penetración a la ruptura de los geles estudiados. En el eje de abscisas se indica la composición en base seca del hidocoloide presente en el gel mixto, pudiendo observarse distintos comportamientos para las muestras ensayadas.

En todos los rangos de concentraciones estudiados del par L+Carr, los geles formados presentaron valores uniformes de distancia a la ruptura, de entre 4 y 5 mm. Para los geles de WPC+Carr este parámetro presentó valores uniformes en todo el rango evaluado, siendo similar a L+Carr, observándose una ligera tendencia a disminuir con valores de Carr superiores a 50g/100g b.s. En el caso de mezclas de hidocoloides y clara de huevo en polvo (CH+Carr, CH+XL y CH+MC) se observó una dependencia directamente proporcional de la distancia de penetración en la ruptura con el contenido del hidocoloide, para concentraciones bajas del mismo (hasta aproximadamente 25g/100g b.s.), es decir, a altos contenidos de clara de huevo en polvo. Estos resultados concuerdan con Park (1994) quien reportó que la adición de clara de huevo en polvo a geles de surimi resultó en una marcada rigidez en los mismos, caracterizados por bajos valores de distancia a la ruptura. Finalmente, para contenidos de gomas superiores a un 50g/100g b.s., la distancia a la ruptura de los tres sistemas con CH resultó independiente de la concentración.

Por todo lo anteriormente analizado, los sistemas conteniendo proteínas de leche y carragenanos (L+Carr) formaron los geles que presentaron la mayor fuerza a la ruptura, así como una elevada y uniforme distancia a la ruptura. Esto llevó a seleccionar esta combinación para ser estudiada como aditivo para emulsiones cárnicas magras saludables. Una fuerza de ruptura de gel elevada es deseada dado que se pueden lograr geles con una dureza determinada empleando menos cantidad de agente gelificante, lo que resulta en una ventaja tecnológica. Con un contenido de carragenanos entre 10 y 50 g/100g (b.s.) y consecuentemente un mayor nivel de proteínas de leche, puede observarse la mayor variabilidad del sistema (fuerza de ruptura entre 1.1 N y 3.8 N). Por esto, se eligió esta relación de concentraciones de L y Carr para optimizar las formulaciones de salchichas magras, ya que para obtener mejores modelos regresionales

es deseado tener un amplio cambio en las respuestas variando las concentraciones de los aditivos en un rango pequeño de concentraciones.

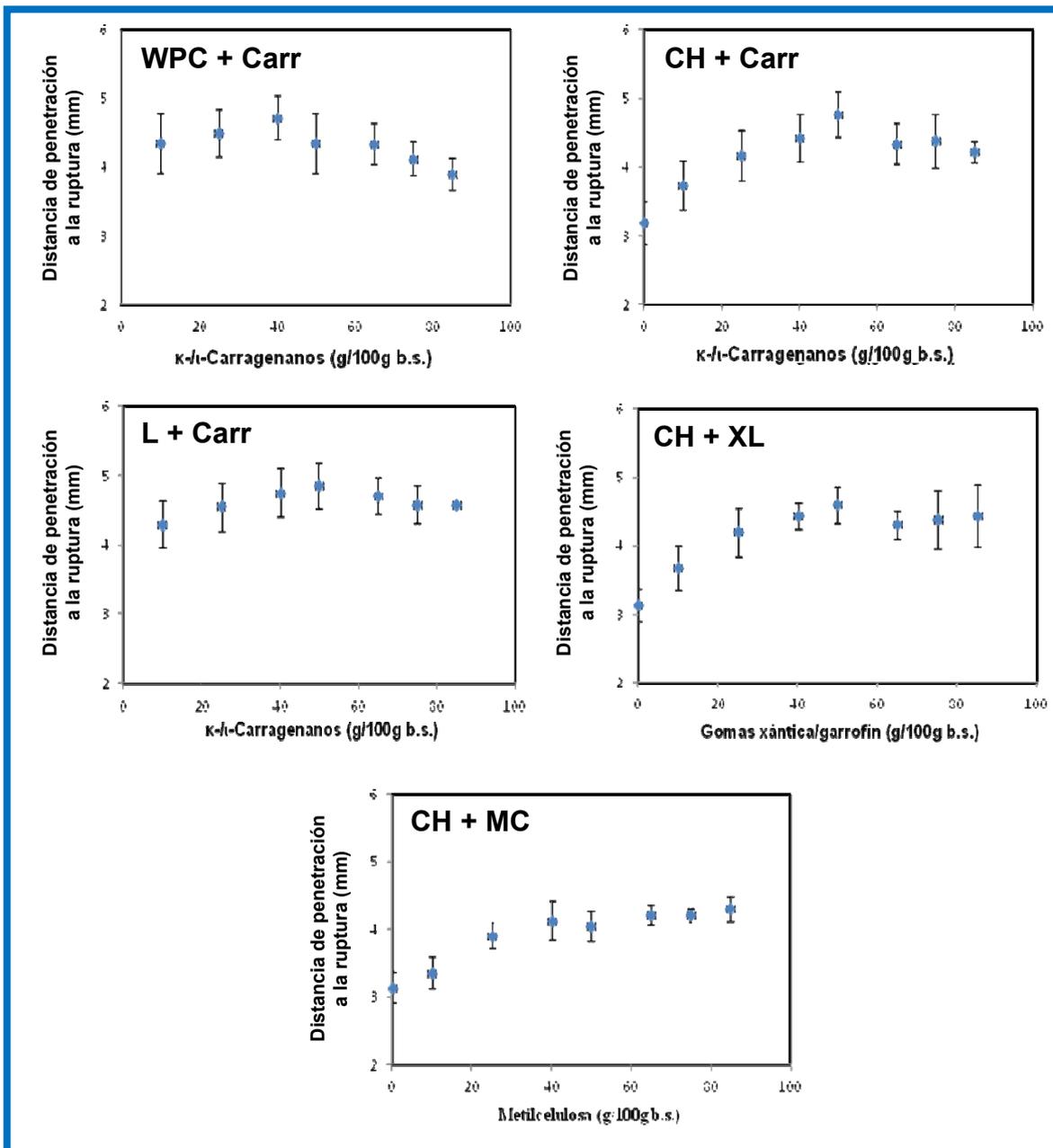


Figura 4.6. Distancia de penetración a la ruptura de los geles mixtos en función de la concentración de hidrocoloides.

4.4.2. Optimización de la proporción carragenanos:proteínas de leche para la obtención de emulsiones cárnicas magras con aceite de pescado

Considerando los resultados previamente obtenidos en este **Capítulo** se seleccionó el par mezcla de κ -I-carragenanos con proteínas de leche (Carr+L) como la mejor combinación para ser incorporada a la formulación base (Tabla 4.2) de salchichas

magras con aceite de pescado pre-emulsificado. Los rangos de concentraciones de estos componentes se establecieron de la siguiente manera y se informan en la Tabla 4.1; el rango de estos componentes fue:

- Carr = 0 – 0.8 g/100g
- L = 0 – 2 g/100g

El rango correspondiente a carragenanos se mantuvo más acotado dado que según lo explicado en 4.4.1. la fuerza de ruptura del gel se mantenía constante con altas concentraciones de dichos hidrocoloides (Figura 4.5).

4.4.2.1 Propiedades de interacción matriz-agua

El rendimiento depende, en estos sistemas cárnicos, de la capacidad de la matriz de proteínas miofibrilares de inmovilizar tanto la grasa como el agua. Sin embargo, en las emulsiones cárnicas con un contenido de grasa muy bajo, la capacidad de gelificación y capacidad de retención de agua de los componentes no cárnicos pueden jugar un papel importante en la formación de la emulsión, en la determinación de su estabilidad térmica y durante el almacenamiento de los productos (Su y col., 2008).

Los resultados obtenidos para el rendimiento y la pérdida por centrifugación (PC) de las formulaciones estudiadas se muestran en la Tabla 4.3.

Tabla 4.3. Rendimiento y pérdidas por centrifugación obtenidos de las diversas formulaciones ensayadas con diferentes niveles de carragenanos y proteínas lácteas.

| Formulación | Rendimiento (g/100g de producto) | Pérdidas por centrifugación (g/100g de producto) |
|-------------|-------------------------------------|---|
| 1 | 97.8 ^c ± 0.04 | 9.50 ^a ± 0.16 |
| 2 | 96.6 ^d ± 0.2 | 8.34 ^{abc} ± 0.08 |
| 3 | 99.0 ^a ± 0.07 | 4.23 ^{de} ± 0.2 |
| 4 | 98.5 ^{ab} ± 0.1 | 3.22 ^e ± 0.06 |
| 5 | 96.8 ^d ± 0.15 | 8.87 ^{ab} ± 0.14 |
| 6 | 98.9 ^{ab} ± 0.07 | 2.98 ^e ± 0.2 |
| 7 | 97.9 ^c ± 0.15 | 7.21 ^{bcd} ± 0.1 |
| 8 | 98.5 ^{ab} ± 0.2 | 6.20 ^{cd} ± 0.07 |
| 9 | 98.3 ^{bc} ± 0.07 | 5.92 ^d ± 0.04 |

*Medias con distintos supraíndices en una misma columna, presentan diferencias significativas (P < 0.05).

En todos los casos los rendimientos fueron superiores a 96 g/100g de producto cocido, lo que demuestra una estabilidad térmica adecuada de todas las formulaciones. También presentaron buena retención de agua de la matriz, produciéndose bajas cantidades de líquido liberado por centrifugación (< 10 g/100g). Estos resultados concuerdan con lo informado por otros autores. Así, Hughes y col. (1997) encontraron que la adición de 1 g/100 g de una combinación de κ - y λ -carragenanos redujo las pérdidas de líquido durante el proceso de cocción y mejoró la capacidad de retención de agua de la emulsión cárnica para la elaboración de salchichas con 5, 12 y 30 g de grasa/100g. Dexter y col. (1993), Pietrasik y Duda (2000), y Pietrasik (2003) informaron resultados similares de rendimiento y capacidad de retención de agua de pastas cárnicas con la adición de carragenanos. García-García y Totosaus (2008) encontraron una correlación positiva entre la capacidad de retención de agua y la cantidad incorporada de κ -carragenano (0.245 g/100g – 1.5 g/100g) de salchichas de bajo contenido de grasa y sodio; mientras que la incorporación de 0.41 g/100g de ι -carragenano a pastas cárnicas mejoró la estabilidad de emulsión y capacidad de retención de agua, posiblemente debido a la formación de un complejo más estable con proteínas de la carne desnaturalizadas durante el calentamiento (Lin y Mei, 2000). Los carragenanos interactúan con grupos polares de las proteínas pudiendo integrarse a la estructura del gel proteico, lo que puede llegar a fortalecer la estructura tridimensional del gel. Además, las cadenas negativamente cargadas de los carragenanos (grupos $-\text{SO}_3^-$) favorece la formación de enlaces de puentes de hidrógeno con el agua libre (Li y Jiang, 2004). Sin embargo, en algunos casos, la adición de carragenanos tuvo un efecto muy limitado sobre la capacidad de retención de agua de geles cárnicos (Bernal y col., 1987; Foegeding y Ramsey, 1986; Barbut y Mittal, 1992).

Por otra parte Jones y Mandigo (1982) propusieron un modelo de película interfacial que puede explicar el efecto de las proteínas de leche sobre las propiedades dependientes de la interacción matriz-agua y matriz-lípido. En la región localizada entre la fase grasa dispersa y la matriz proteica, las caseínas presentes en las proteínas de leche pueden adsorberse en la superficie interfacial y estabilizar la emulsión debido a que en su estructura se destacan grupos hidrofóbico e hidrofílicos que las hacen muy anfifílicas (Dickinson, 2003; Golding, 2013). Sin embargo el rango efectivo de su utilización es algo acotado, ya que con una cantidad baja no se lograría cubrir la totalidad de la superficie interfacial. Por otro lado, un elevado nivel de proteínas podría formar una densa red con un alto grado de agregación (fenómeno que ocurre durante la cocción). Este agregado proteico podría ejercer presión sobre las gotas de aceite favoreciendo la coalescencia de

las mismas y que mayor cantidad de lípidos sean “exprimidos” fuera de la matriz proteica (Youssef y Barbut, 2010).

En la Tabla 4.4 se muestran los coeficientes de regresión significativos obtenidos para ambas variables codificadas. Los términos de interacción (Carr x L) no fueron significativos ($P > 0.05$) para ninguna de las dos respuestas analizadas. Por lo tanto para la función de respuesta real se utilizó un polinomio cuadrático sin contemplar la interacción.

Tabla 4.4. Coeficientes de regresión de los modelos predictivos correspondientes a las variables rendimiento y pérdidas por centrifugación, estimados a partir de las concentraciones codificadas y sus desviaciones estándar.

| Coeficientes β | Rendimiento (g/100g de producto) | Pérdidas por centrifugación (g/100g de producto) |
|----------------------|-------------------------------------|---|
| Constante | 98.26 \pm 0.03 | 5.91 \pm 0.25 |
| Carr | 1.07 \pm 0.02 | -3.31 \pm 0.17 |
| L | -0.16 \pm 0.02 | -0.64 \pm 0.17 |
| Carr x Carr | -0.45 \pm 0.04 | 0.02 \pm 0.33 |
| L x L | -0.1 \pm 0.04 | 0.80 \pm 0.33 |
| Falta de ajuste (P) | 0.12 | 0.15 |
| Precisión adecuada | 6.38 | 8.9 |

Los modelos propuestos para ambas variables de respuesta (rendimiento, R y pérdidas por centrifugación, PC) presentaron un elevado grado de adecuación, siendo los niveles de la precisión adecuada (“Adequate Precision”) satisfactorios y los valores del test de falta de ajuste (lack of fit) no significativos (Gan y col., 2007).

Las propiedades de unión matriz-agua se vieron fuertemente afectadas por el nivel de carragenanos (Carr), tal como indican los coeficientes de regresión de los distintos términos, y se muestra gráficamente en las Figuras 4.7a y b. Al aumentar el contenido de carragenanos, se obtuvieron valores más elevados para el rendimiento y más bajos para las pérdidas por centrifugación, por lo que se puede vincular el contenido de carragenanos con una mayor interacción matriz-agua.

En las zonas del diseño con valores extremos (elevados o bajos) de proteínas lácteas (L) se obtuvieron valores ligeramente más bajos de rendimiento (R), observándose el efecto opuesto con niveles intermedios, explicado por el signo opuesto en el término cuadrático L x L. La superficie obtenida para las pérdidas por centrifugación (PC) también refleja

esta tendencia con las proteínas de leche. Los menores valores de este parámetro se sitúan a valores intermedios ($L = 0$) mientras que en los extremos se evidencian mayores valores de pérdida por centrifugación. Esto coincide con lo citado por Dickinson (2003), Youssef y Barbut (2010) y Golding (2013), quienes propusieron modelos de estabilización de las emulsiones con proteínas, informando que la máxima capacidad de estabilización ocurre con un nivel acotado de proteínas.

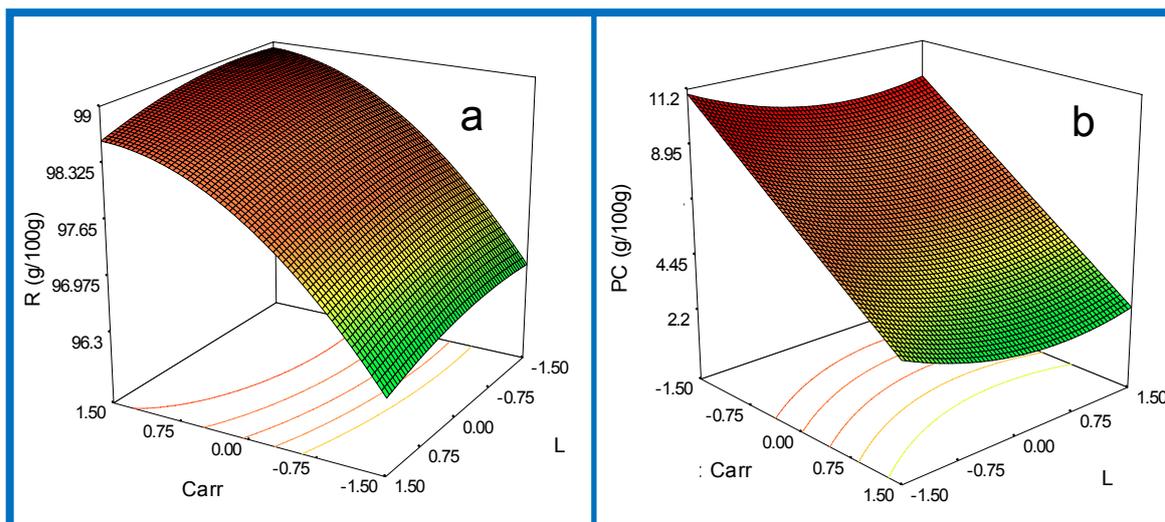


Figura 4.7. Superficies de respuesta correspondientes a: (a) rendimiento, R; (b) pérdidas por centrifugación, PC, en función del contenido codificado de carragenanos (Carr) y concentrado de proteínas de leche (L).

4.4.3. Textura de los productos

En cuanto a los parámetros obtenidos a partir del análisis del perfil de textura (TPA), la cohesividad y la resiliencia, no se vieron afectadas significativamente por los cambios en los niveles de Carr y L ($P > 0.05$), siendo sus valores medios 0.554 ± 0.001 J/J y 0.422 ± 0.002 J/J, respectivamente. Sin embargo la dureza, elasticidad y masticabilidad variaron significativamente con la formulación ($P < 0.05$); valores medios de estos parámetros y sus correspondientes errores estándar se muestran en la Tabla 4.5.

El intervalo de Carr y L estudiado permitió obtener un amplio rango de dureza en las muestras (7.9 - 12.02 N). Esto es sumamente importante en esta etapa, ya que un posible escalado en la producción de salchichas magras con aceite de pescado puede traer aparejado cambios en diversas propiedades fisicoquímicas, como la dureza (como ya se ha comentado), que deben ser corregidos modificando la formulación. En este caso un pequeño cambio en los niveles de Carr o L puede servir para corregir una modificación importante en la dureza del producto obtenido.

Tabla 4.5. Parámetros texturales de las formulaciones ensayadas con diferentes niveles de carragenanos y proteínas lácteas.

| Formulación | Dureza (N) | Elasticidad (J/J) | Masticabilidad (N) |
|-------------|---------------------------|----------------------------|--------------------------|
| 1 | 8.09 ^g ± 0.06 | 0.85 ^h ± 0.002 | 3.73 ^g ± 0.04 |
| 2 | 8.74 ^f ± 0.06 | 0.86 ^g ± 0.004 | 4.09 ^f ± 0.04 |
| 3 | 11.02 ^c ± 0.1 | 0.94 ^c ± 0.003 | 5.81 ^b ± 0.07 |
| 4 | 11.65 ^b ± 0.05 | 0.97 ^a ± 0.001 | 6.48 ^a ± 0.04 |
| 5 | 8.13 ^g ± 0.05 | 0.86 ^g ± 0.002 | 3.79 ^g ± 0.03 |
| 6 | 12.02 ^a ± 0.06 | 0.96 ^b ± 0.001 | 6.53 ^a ± 0.04 |
| 7 | 9.35 ^e ± 0.07 | 0.87 ^f ± 0.001 | 4.47 ^e ± 0.03 |
| 8 | 9.56 ^e ± 0.06 | 0.89 ^e ± 0.0005 | 4.69 ^d ± 0.03 |
| 9 | 10.05 ^d ± 0.06 | 0.91 ^d ± 0.001 | 5.14 ^c ± 0.03 |

*Supraíndices iguales en una misma columna, indican que las medias no difieren significativamente (P < 0.05).

En la Tabla 4.6 se muestran los coeficientes de regresión que resultaron significativos mediante el procedimiento “stepwise”, correspondientes a dureza, elasticidad y masticabilidad. Además los valores de “Precisión adecuada” y el resultado del ensayo de falta de ajuste, que es una medida de las fallas de un modelo para representar datos en el dominio experimental (Varnalis y col., 2004) fueron satisfactorios. Los modelos matemáticos propuestos para todas las variables de respuesta presentaron una muy buena adecuación según puede observarse en los números estadísticos (precisión adecuada y falta de ajuste) de la Tabla 4.6.

Tabla 4.6. Coeficientes de regresión de los modelos propuestos para las variables: dureza, elasticidad y masticabilidad, estimados en función de las concentraciones codificadas, y sus correspondientes desviaciones estándares.

| Coeficientes β | Dureza (N) | Elasticidad (J/J) | Masticabilidad (N) |
|---------------------|--------------|-------------------|--------------------|
| Constante | 10.04 ± 0.13 | 0.91 ± 0.009 | 5.19 ± 0.08 |
| Carr | 2.00 ± 0.09 | 0.06 ± 0.006 | 1.05 ± 0.09 |
| L | 0.28 ± 0.09 | 0.01 ± 0.006 | 0.18 ± 0.09 |
| Carr x Carr | 0.09 ± 0.17 | - | - |
| L x L | -0.53 ± 0.17 | -0.03 ± 0.012 | -0.27 ± 0.1 |
| Falta de ajuste (P) | 0.38 | 0.37 | 0.28 |
| Precisión adecuada | 11.2 | 10.3 | 9.8 |

La variación de las distintas propiedades texturales informadas en la Tabla 4.6, pueden observarse en la Figura 4.8.

Puede verse nuevamente que la cantidad de κ -carragenano agregado a la formulación de salchichas magras tuvo una mayor influencia en los tres parámetros que el nivel de proteínas de leche (mayores coeficientes en la Tabla 4.6).

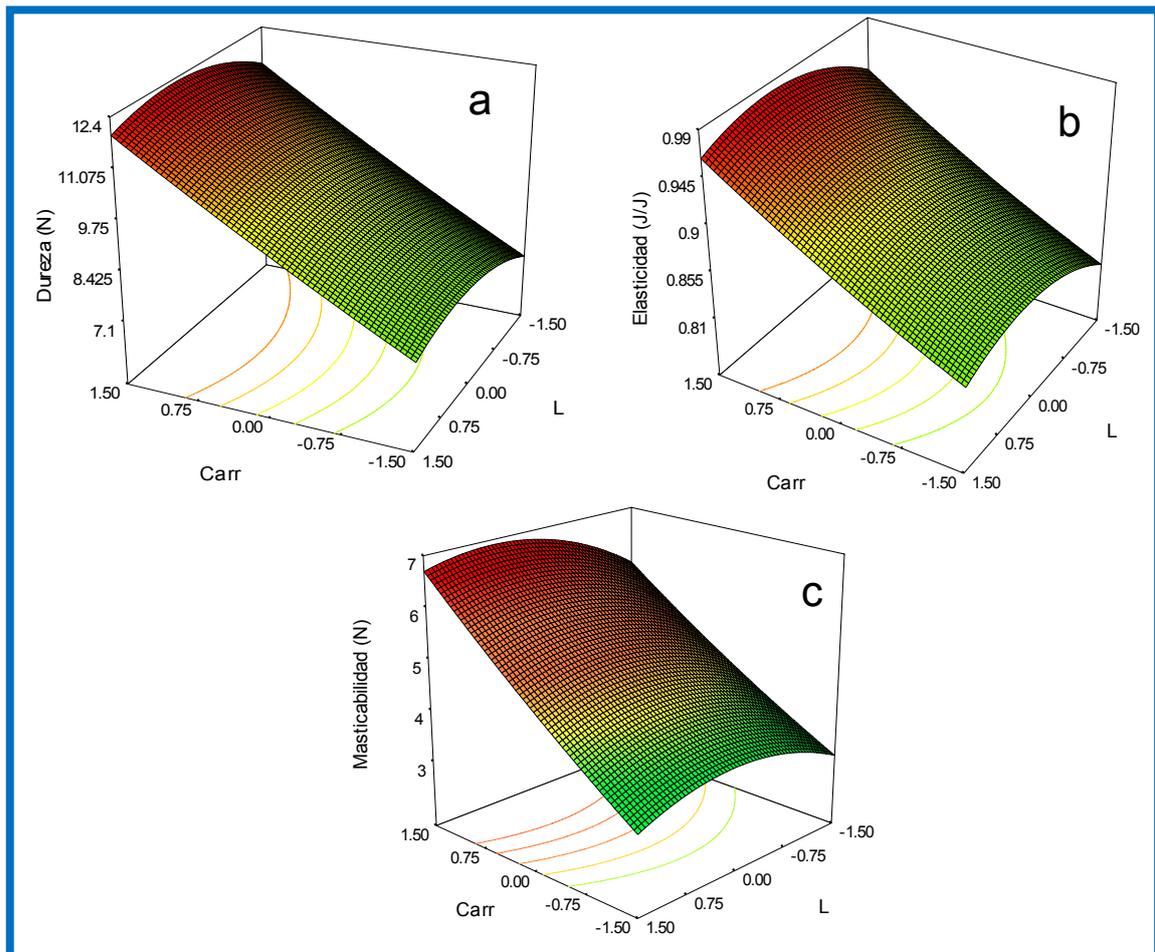


Figura 4.8. Superficies de respuesta correspondientes a: (a) dureza, (b) elasticidad y (c) masticabilidad en función del contenido codificado de carragenanos (Carr) y concentrado de proteínas de leche (L).

Asimismo, estos resultados presentan concordancia con Ayadi y col. (2009) quienes establecieron que la adición κ -carragenanos a salchichas de pavo aumentó la dureza y la capacidad de retención de agua. Por otra parte, Pietrasik (2003) trabajando con pastas cárnicas con κ -carragenano incorporado, obtuvo un incremento en la dureza y fracturabilidad de geles de cárnicos, pero los parámetros elasticidad y la cohesividad no se vieron modificados.

En cuanto al efecto de las proteínas lácteas, los valores más altos de dureza correspondieron a los niveles intermedios (valores codificados de L cercanos a 0) debido al coeficiente β_{LL} negativo (Tabla 4.6). Youssef y Barbut (2009) informaron que las proteínas de leche afectaron la elasticidad de geles cárnicos con una tendencia parabólica similar a la encontrada en este estudio. También Hongsprabhas y Barbut (1997) encontraron una tendencia similar con la adición de proteínas de suero lácteo a pastas de carne de pollo determinando la fuerza de penetración.

4.4.4. Optimización de la formulación

Una vez establecidas las ecuaciones predictivas individuales mediante el hallazgo de los coeficientes adecuados (Tablas 4.4 y 4.6), se definieron cuatro funciones objetivo para las variables que fueron afectadas significativamente por los cambios en la formulación: rendimiento, pérdidas por centrifugación, dureza y elasticidad. El parámetro masticabilidad no se incluyó en este procedimiento, ya que es una función lineal de la dureza, elasticidad, y cohesividad, por lo que presentó un comportamiento similar a la dureza y resultaría redundante considerarlo.

La Tabla 4.7 muestra los criterios de optimización empleados para cada respuesta. El rendimiento fue maximizado, las pérdidas por centrifugación fueron minimizadas, y los rangos de los parámetros texturales dureza y elasticidad fueron establecidos para lograr valores similares a los de un producto comercial con un contenido de grasa de cerdo de 20 g/100g.

Tabla 4.7. Criterios empleados para obtener las funciones de conveniencia individual.

| Variables de respuestas | Criterio de optimización |
|--------------------------------------|--------------------------|
| Rendimiento (g/100g) | Máximo |
| Pérdidas por centrifugación (g/100g) | Mínimo |
| Elasticidad (J/J) | 0.845 – 0.973 |
| Dureza (N) | 8 -10 |

Para obtener los niveles de carragenanos y proteínas de leche que resulten óptimos, es decir, que permitan obtener un producto que satisfaga de manera simultánea los cuatro criterios establecidos en la Tabla 4.7, se realizó el siguiente procedimiento.

Primero se obtuvieron los modelos polinómicos de cada variable. Luego mediante la optimización en base a estos criterios se encontró que la combinación óptima de aditivos

a incorporar a las salchichas magras con aceite de pescado pre-emulsionado correspondió a:

- mezcla 2:1 κ:I-carragenanos = 0.593 g/100g
- concentrado de proteínas de leche = 0.320 g/100g

Esta optimización presentó un valor de conveniencia global $D = 0.794$. Este valor se encuentra cercano a la unidad y es un indicador de cuán próxima se halla la formulación optimizada de cumplir de forma simultánea con todos los criterios establecidos.

4.4.5. Validación del modelo

Una vez determinada la formulación óptima, se la empleó para elaborar salchichas de bajo contenido lipídico conteniendo aceite de pescado, y se analizaron todas las variables de respuesta de este producto. Los valores experimentales promedio de cada respuesta y los predichos por los modelos no difirieron estadísticamente ($P > 0.05$). Ambos conjuntos de valores se presentan en la Tabla 4.8 junto con los valores de conveniencia individual d_j obtenidos.

Tabla 4.8. Valores predichos y experimentales del rendimiento, pérdidas por centrifugación, dureza, elasticidad y masticabilidad, obtenidos para la formulación con 0.593 g/100g de κ:I-carragenanos y 0.320 g/100g de proteínas de leche; se incluyen las funciones de conveniencia individual (d_j) de cada factor.

| Parámetros | Valor Predicho | d_j | Validación experimental | |
|--------------------------------------|----------------|-------|-------------------------|--|
| | | | Valor medio | Intervalo de confianza ($\alpha = 0.05$) |
| Rendimiento (g/100g) | 98.74 | 0.873 | 99.1 | 98.7-99.5 |
| Pérdidas por centrifugación (g/100g) | 5.12 | 0.646 | 7.54 | 4.91-10.17 |
| Dureza (N) | 10.59 | 0.703 | 10.31 | 10.03-10.59 |
| Elasticidad (J/J) | 0.922 | 1.000 | 0.925 | 0.900-0.950 |
| Masticabilidad (N) | 5.84 | -- | 5.36 | 4.86-5.86 |

Por lo tanto, se puede concluir que el procedimiento matemático elegido predijo adecuadamente los atributos de calidad estudiados; por otra parte, el producto que contenía 5 g/100g de aceite de pescado, 0.593 g/100g de la mezcla κ:I-carragenanos, y 0.320 g/100g de proteínas lácteas presentó características texturales similares a un

producto comercial con 20 g/100g de grasa, con un excelente rendimiento y bajas pérdidas or centrifugación.

4.5. Conclusiones del Capítulo

- Se pudo evaluar de manera efectiva y sencilla la capacidad de formación de geles mixtos de distintas combinaciones de hidrocoloides y proteínas no cárnicas. La combinación de carragenanos y proteínas lácteas presentó los valores más elevados de fuerza de gel y una deformación constante en un amplio rango, por lo que fue seleccionada para aplicarla en las formulaciones de salchichas magras.
- La metodología de superficie de respuesta permitió el modelado matemático de los principales parámetros de calidad de salchichas magras conteniendo aceite de pescado, como una función del contenido de proteínas de leche y carragenanos agregados en la formulación.
- Las respuestas de interés fueron el rendimiento, las pérdidas por centrifugación, dureza, elasticidad y masticabilidad. Estos atributos fueron más afectados por los cambios en el contenido de mezcla 2:1 κ:ι-carragenanos que por la concentración de las proteínas de leche de la formulación.
- Se aplicó la metodología de función objetivo para encontrar la combinación óptima de carragenanos y proteínas de leche a incorporar en la formulación del producto y las respuestas predichas fueron validadas experimentalmente.
- Utilizando la formulación conteniendo la relación óptima de carragenanos y proteínas lácteas se obtuvo un producto de bajo contenido lipídico con características similares a uno tradicional pero de superior calidad nutricional, como consecuencia de la sustitución de la grasa por aceite de origen marino.

CAPÍTULO 5

Efecto del almacenamiento sobre parámetros de calidad físicoquímicos, microbiológicos y oxidativos de geles cárnicos emulsionados con aceite de pescado y fitoesteroles

5.1. Introducción

5.1.1. Estabilidad de productos cárnicos enriquecidos en lípidos insaturados

Debido a la elevada susceptibilidad a la oxidación de los ácidos grasos poli-insaturados, se hace sumamente necesario incorporar antioxidantes para controlar la rancidez e incrementar la estabilidad minimizando los procesos de deterioro en los productos que los contienen (Decker, 2010). La oxidación lipídica de los alimentos causa pérdidas nutricionales y desarrollo de colores, aromas y sabores desagradables (Ulu, 2004), y por ello el rechazo por parte de los consumidores y la reducción de la vida útil del producto. El empleo de antioxidantes estabiliza los lípidos de los productos cárnicos, evitan la alteración del perfil de ácidos grasos y es una manera efectiva de demorar la oxidación (Lee y col., 2006a,b).

5.1.1.1. Proceso de oxidación

La oxidación de los lípidos se produce mediante varias reacciones. En los alimentos los lípidos pueden oxidarse por medio de mecanismos enzimáticos y no enzimáticos (también llamados químicos). La oxidación enzimática no afecta a estos productos debido al tratamiento térmico que produce una inactivación de las enzimas. La oxidación no enzimática es un proceso no espontáneo, primero se deben formar radicales libres de los sustratos lipídicos. Se cree que la auto-oxidación (oxidación en presencia de oxígeno molecular) es la principal reacción implicada en el deterioro de los lípidos. Tienen lugar por mecanismos de radicales libres; se caracterizan por (Fennema, 1996):

- Una marcada inhibición por especies químicas que interfieren con otras reacciones de radicales libres.
- Están catalizadas por la luz y por sustancias capaces de producir radicales libres.
- Alta producción de hidroperóxidos, ROOH.
- Rendimiento cuánticos superiores a la unidad cuando las reacciones de oxidación se inician por la luz.
- El periodo de inducción es mayor cuando se inician con un sustrato puro.

La oxidación, después que se inicia, se transforma en una reacción en cadena de difícil control, aumentando su velocidad muy rápidamente en un corto espacio de tiempo. Las moléculas ya oxidadas no pueden retornar a su estado original. Por lo tanto, este proceso no se puede revertir, pero se puede retardar con el uso de antioxidantes.

5.1.1.2. Mecanismo de auto-oxidación lipídica

El mecanismo de la auto-oxidación se explica a partir de tres etapas: Iniciación, Propagación y Terminación (Figura 5.1):

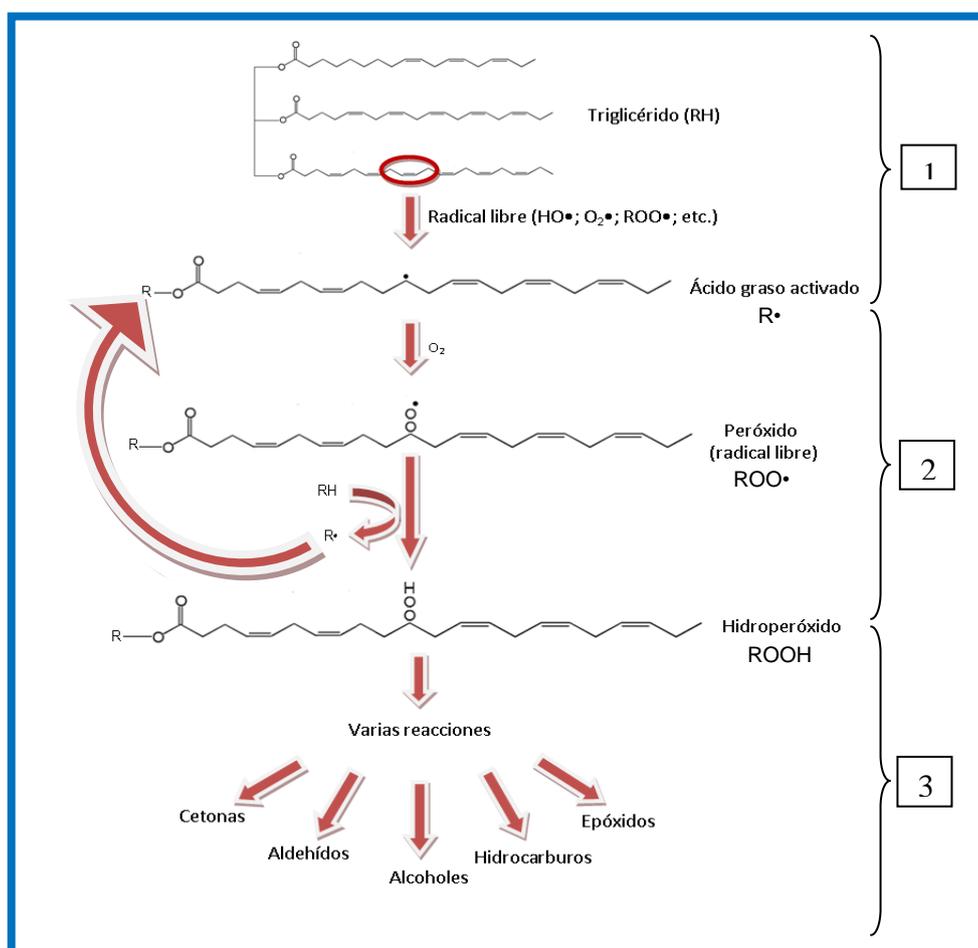


Figura 5.1. Esquema de las tres etapas de la oxidación lipídica: Iniciación (1), propagación (2) y terminación (3).

En la iniciación (1) ocurre la formación del primer radical libre debido a la inestabilidad de algunas moléculas orgánicas y a la actividad de uno o más factores catalizadores. El radical libre se forma, por ejemplo, con la ruptura de una unión de un átomo de hidrógeno de una molécula de un ácido graso. Los factores que más influyen en la formación de radicales libres y que catalizan el proceso de oxidación son: presencia de iones metálicos en el producto, calor o luz, enzimas, medio alcalino, moléculas con insaturaciones y disponibilidad de oxígeno para reaccionar, entre otros.

Después de esta etapa inicial, empieza la propagación (2), con el radical libre siendo atacado por una molécula de oxígeno, formando un peróxido, que todavía continúa siendo radical libre. Este peróxido ataca a una nueva molécula de ácido graso, que

también pierde un átomo de hidrógeno, formando un hidroperóxido y además un nuevo radical libre, iniciando el proceso en cadena. Si el oxígeno disponible fuera suficiente y ningún antioxidante estuviera presente en el producto, esta etapa continuará degradando el producto.

La terminación (3) es la etapa siguiente. Los peróxidos se combinan, formando moléculas más estables y los hidroperóxidos forman otras diversas moléculas con funciones ácidas, aldehídicas, alcohólicas, cetónicas, etc. En esta etapa, todo el material es degradado irreversiblemente, llevando a la descomposición total del producto, generando olor rancio y cambio de color, demostrando la oxidación.

Aunque existen varios factores que influyen en la oxidación de lípidos, el grado de insaturación de los ácidos grasos presentes es un factor determinante de la velocidad de oxidación; por ejemplo, a 100°C, las velocidades relativas de oxidación de los ácidos esteárico (C18:0), oleico (C18:1), linoleico (C18:2) y, linolénico (C18:3) son 1:100:1000-1500:2000-3500, respectivamente (Frankel, 2005). Los ácidos grasos saturados sólo se oxidan a temperaturas superiores a 60°C, mientras que los poli-insaturados lo hacen incluso durante el almacenamiento de los alimentos en estado congelado. Los productos cárnicos cocidos son más susceptibles a la oxidación lipídica durante el almacenamiento que el producto almacenado crudo. Esto se debe a que las operaciones de calentamiento alteran el balance prooxidante/antioxidante propio de la matriz del alimento porque se mezclan catalizadores de oxidación con lípidos, promoviendo la oxidación de la mioglobina, liberando el hierro de las proteínas e inactivando enzimas antioxidantes (Lee y col., 2006b).

El desagradable olor rancio es el resultado de la formación de varias moléculas volátiles, algunas de las cuales poseen sabor desagradable y potencial toxicidad. Para que este proceso se paralice, se emplean los agentes antioxidantes, que pueden actuar en diversas etapas retrasando o impidiendo la auto-oxidación lipídica.

5.1.1.3. Antioxidantes utilizados en alimentos y su mecanismo de acción

Para elaborar productos alimenticios de alta calidad, estables, la solución más eficaz es la adición de antioxidantes, de origen natural o sintético. La implementación de compuestos antioxidantes está reglamentada en el Código Alimentario Argentino. Fija además, para cada una de estas sustancias o sus mezclas, las dosis máximas permitidas, variables en cada caso, entre 100 y 200 ppm, salvo en tocoferoles naturales o sintéticos los que se pueden agregar en concentración que no exceda la necesaria para lograr el efecto deseado (CAA, 2010).

5.1.1.3.1. Antioxidantes sintéticos

Los antioxidantes sintéticos son ampliamente utilizados en la industria de los alimentos. Algunos ejemplos son el butilhidroxitolueno (BHT), butilhidroxianisol (BHA), galato de propilo y ter-butilhidroquinona (TBHQ) (Figura 5.2). Estos compuestos tienen la desventaja de ser muy volátiles y se ha reportado en numerosos estudios que pueden tener relación con el desarrollo de tumores y otros efectos nocivos (IARC, 1986; Gharavi y El-Kadi, 2005; Amadasi y col., 2009; NIH, 2013). Debido a esto, en la actualidad existe una importante presión de los consumidores que incentiva la elaboración de productos que provengan de fuentes naturales y que sean producidos por tecnologías no contaminantes (Valenzuela y Nieto, 1995; Damechki y col., 2001).

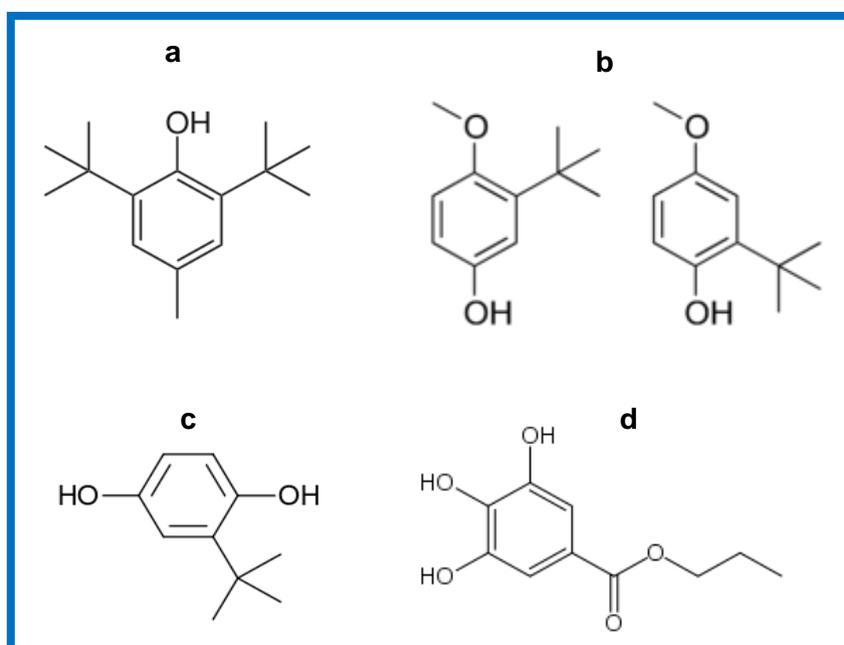


Figura 5.2. Estructura química de los antioxidantes sintéticos: a) BHT, b) BHA, c) TBHQ y d) Galato de propilo

Lee y col. (2006b) controlaron la oxidación en productos cárnicos (hamburguesas de pavo y salchichas frescas de cerdo) conteniendo ácidos grasos poli-insaturados n-3 mediante una combinación de extracto de romero (0.2 g/100g) como secuestrante de radicales libres, citrato de sodio (0.5 g/100g) como quelante de metales y eritorbato de sodio (1 g/kg producto) como reductor. En estudios sobre hamburguesas de carne bovina, con o sin incorporación de AGPI n-3, evaluaron diferentes combinaciones de quelantes (tripolifosfato de sodio, citrato de sodio), reductores (eritorbato de sodio) y secuestrante de radicales (BHA, mezcla de tocoferoles y extracto de romero) encontrando los mejores resultados con la combinación citrato, eritorbato y romero (Lee y col., 2005).

Meindert Pelsler y col. (2007) elaboraron salchichas fermentadas con sustitución parcial de grasa de cerdo por aceite de lino y canola pre-emulsificada o con aceites de lino y pescado encapsulados, logrando productos aceptables, más saludables, aunque la vida útil de los productos que contenían aceite de lino o aceite de pescado encapsulado resultaron menores debido al aumento de la oxidación lipídica.

Los alimentos adicionados de antioxidantes naturales pueden ser considerados como alimentos funcionales ya que proveerían de una mejor condición de salud al consumidor (Valenzuela y col., 2003). Sin embargo la inclusión de antioxidantes naturales no asegura dicho beneficio debido a que el mecanismo de acción en la matriz alimentaria no es necesariamente igual en el organismo.

5.1.1.3.2. Antioxidantes naturales

Los antioxidantes sintéticos son los más populares y ampliamente utilizados, sin embargo, como se discutió previamente existe una preocupación respecto a la seguridad de estos para la salud. Esta situación ha estimulado la investigación de sustancias de origen natural con actividad antioxidante. Pocas de estas sustancias naturales han demostrado ser igual de efectivas como antioxidantes cuando se les compara con los productos sintéticos en las mismas condiciones experimentales.

Los antioxidantes naturales son, en general, compuestos polifenólicos que se encuentran comúnmente en hierbas, especias y otros materiales de origen vegetal. Algunos antioxidantes naturales utilizados en alimentos son los tocoferoles y los extractos de algunas especias como el extracto de romero, orégano, semillas de uva, té, ajo, entre otros. Los componentes más conocidos de los alimentos con actividades antioxidantes son las vitaminas A, C y E, el β -caroteno, algunos flavonoides, el selenio mineral y, últimamente, el licopeno.

Tocoferoles

Las mezclas de tocoferoles naturales son muy utilizadas por la industria de los alimentos. Están compuestas por D- α , D- β , D- γ y D- δ tocoferol (Figura 5.3) y pueden ayudar al mantenimiento de la vida útil de los productos.

Los tocoferoles pueden actuar como antioxidantes naturales interfiriendo en la etapa de propagación en cadena de radicales libres, actuando como donores de hidrógeno (“chain breaking” donor, CB-D) o como aceptores de radicales libres (“chain breaking” acceptor, CB-A). Este segundo mecanismo incluye el “quenching” del oxígeno singulete (Frankel, 2005). En el mecanismo CB-D, los tocoferoles compiten efectivamente con los ácidos grasos insaturados (RH) por el radical peroxilo (ROO•) transfiriendo un átomo de

hidrógeno al ROO• para producir ROOH el cual es más estable (Frankel, 1991). Este hecho reduce la formación de radicales lipídicos (R•) que ocurren cuando el RH reacciona con el ROO•; esta competencia disminuye la velocidad de propagación de la autooxidación. En el caso de los tocoferoles, cuando ocurre la transferencia de un hidrógeno resulta en la formación de una semiquinona intermedia la cual se convierte en tocoferilquinona como producto final estable.

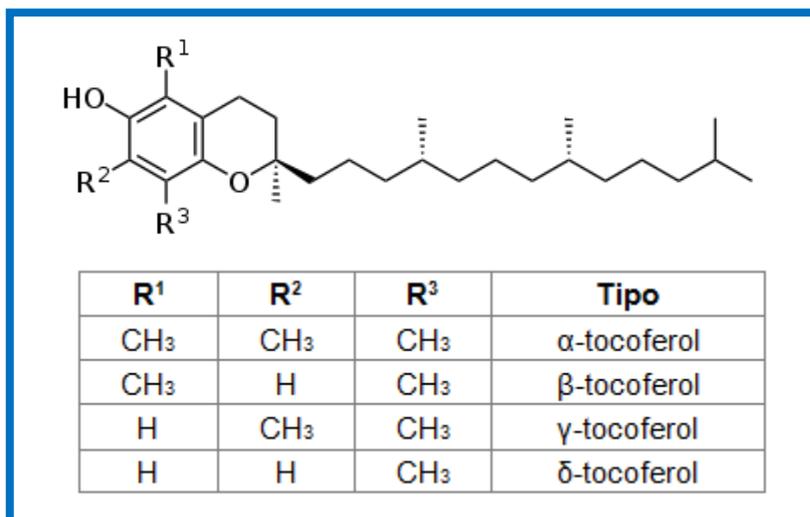


Figura 5.3. Estructura química de los distintos tipos de tocoferoles

Los tocoferoles también pueden actuar sobre el oxígeno singulete (¹O₂) como medio de control de la oxidación. La capacidad de los tocoferoles de atrapar al ¹O₂ ocurre a través de dos mecanismos primarios: (i) mediante el “quenching” del ¹O₂ y (ii) reaccionando en forma irreversible con el ¹O₂ para formar una variedad de productos, principalmente hidroperoxidienona (Clough y col., 1979).

Por otra parte, los tocoferoles por sí mismos son rápidamente degradados en presencia del oxígeno molecular y de radicales libres en los alimentos, perdiendo su actividad antioxidante o convirtiéndose en sustancias prooxidantes (Jung y Min, 1990).

La concentración de tocoferoles influye sobre la actividad antioxidante, siendo generalmente mayor a bajas concentraciones y menor o pro-oxidante en tenores elevados (Jung y Min, 1990). En general “*in vitro*” se ha observado el siguiente orden de actividad antioxidante decreciente: δ- > γ- > β- > α- tocoferol (Devittori y col., 2000). Sin embargo, la potencia antioxidante de los tocoferoles puede verse afectada por diferentes factores tales como la concentración, la temperatura, la polaridad, la viscosidad y el pH del medio en el que se encuentran. La actividad antioxidante en orden inverso al enunciado anteriormente ha sido observada a bajas temperaturas (White y Xing, 1997).

Los tocoferoles pueden actuar como agentes antioxidantes o prooxidantes dependiendo de las concentraciones y del sustrato en cuestión. En aceite de soja, el α -tocoferol en altas concentraciones actúa como un agente prooxidante produciendo un incremento de los niveles de hidroperóxidos y de dienos conjugados (Jung y Min, 1990), aunque incrementa su habilidad para inhibir la formación de hexanal (Frankel, 2005).

5.1.2. Alternativas para mejorar la calidad nutricional del producto

Existen diferentes posibilidades para mejorar la calidad nutricional de la fracción lipídica de las distintas categorías de carnes procesadas. En productos picados donde se incrementa el contenido de grasas insaturadas pueden adicionarse diferentes aditivos con una “percepción saludable” del consumidor, como aceites especiales (discutido anteriormente) y fitoesteroles, siendo significativo también para el mercado la reducción de sal (sodio) (Vandendriessche, 2008).

Fitoesteroles

Los fitoesteroles o esteroides vegetales se encuentran presentes en pequeñas cantidades en algunos alimentos como el aceite de girasol y la soja. Son estructural y funcionalmente similares al colesterol animal (Figura 5.4). Se encuentran formando parte de la membrana de las células vegetales, con una función análoga al colesterol en las membranas celulares animales. Como aditivo, se presenta en la forma de un polvo blanco con un suave olor característico, insoluble en agua y soluble en alcoholes.

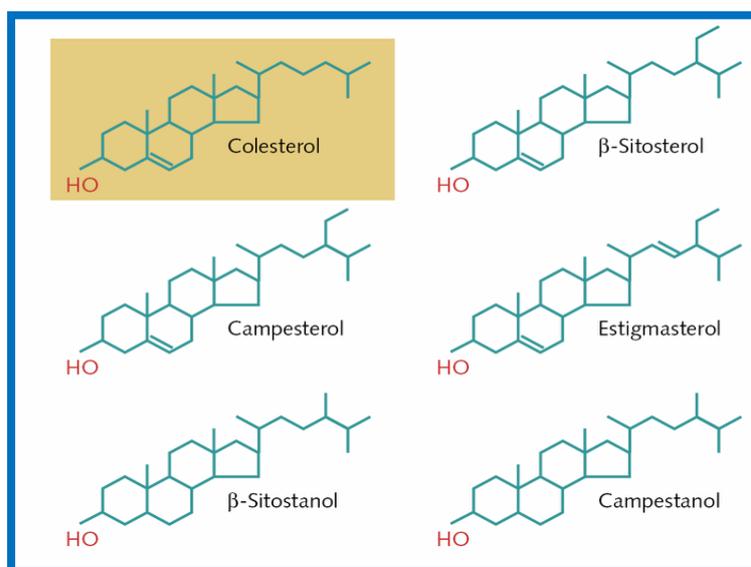


Figura 5.4. Estructura química de algunos fitoesteroles y fitoestanoles en comparación con el colesterol.

Los esteroides vegetales son miembros de la familia de los triterpenos, su estructura es similar a la del colesterol, pero incluye un grupo metilo o etilo en el C-24. Dentro del grupo de los esteroides vegetales encontramos dos categorías o subgrupos, los esteroides, con un doble enlace en posición 5, y los estanoles que no cuentan con dicho doble enlace. Cabe destacar que dado que normalmente los estanoles son mucho menos abundantes que los esteroides, cuando se habla en términos generales de esteroides vegetales se suele hacer referencia a estos últimos.

En 1950 se realizó la primera observación de que el consumo habitual de fitoesteroides como componentes de la dieta ejercía un marcado efecto hipocolesterolémico. La evidencia experimental de este efecto es contundente y está avalada por abundante literatura científica en trabajos realizados en ratas y en humanos (Heinemann y col., 1986; Heinemann y col., 1991; Jones y col., 1997). Otros trabajos han demostrado que el consumo de margarinas enriquecidas con β -sitosterol, campesterol y estigmasterol (Jones y col., 1998) o con el derivado hidrogenado sitostanol, administradas a individuos moderadamente hipercolesterolémicos (220-240 mg/dL colesterol), producen reducciones del colesterol total circulante de un 10 g/100g en promedio y de un 8 g/100g en el colesterol-LDL, sin afectar el contenido de colesterol-HDL y el nivel de triglicéridos (Hallikainen, y Uusitupa, 1999; Ostlund, 2007). El consumo promedio de fitoesteroides en estos estudios fue de 1.5-2.2 g/día y el de sitostanol de 2.0 g/día.

A su vez, se ha estudiado de manera muy extensa la seguridad de los fitoesteroides/estanoles; la agencia Food and Drug Administration de EE.UU. (FDA, 2005) los ha incluido bajo la denominación GRAS (Generally Recognized As Safe), lo que implica que son reconocidos como seguros para ser incorporados en los alimentos.

Finalmente, de Jong y col., (2008) y el Scientific Committee on Foods of the Commission of European Communities (2002) informaron que la adición de fitoesteroides resulta segura hasta un nivel que no exceda un consumo de 3 g/día.

El efecto hipocolesterolémico de los fitoesteroides y de los fitoestanoles se podría atribuir a tres acciones metabólicas (Valenzuela y Ronco, 2004) como se esquematiza en la Figura 5.5:

- 1- Inhibirían la absorción intestinal de colesterol por competencia en la incorporación del colesterol a las micelas mixtas.
- 2- Disminuirían la esterificación del colesterol en los enterocitos al inhibir la actividad de la enzima acilCoA-colesterol-acil transferasa.
- 3- Estimularían el eflujo de colesterol desde los enterocitos hacia el lumen intestinal al aumentar la actividad y la expresión de un transportador de tipo ABC.

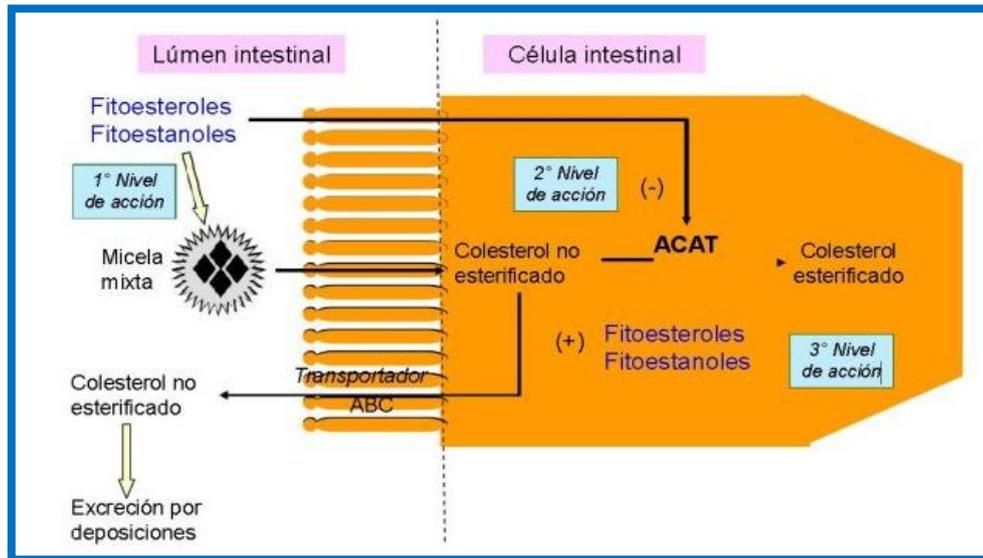


Figura 5.5. Niveles de acción de los fitoesteroles en la absorción, esterificación y eflujo del colesterol.

La acción conjunta de los esteroides y/o estanoles sobre estos mecanismos produce una disminución del colesterol total plasmático y del colesterol-LDL, sin modificar los niveles del colesterol-HDL. Los fitoesteroides y fitoestanoles constituyen un modelo muy adecuado para el desarrollo de alimentos funcionales. Actualmente en diferentes países se comercializan leches, jugos, yogurt y margarinas que contienen ya sea fitoesteroides y/o fitoestanoles.

La incorporación de fitoesteroides en las salchichas magras con aceite de pescado podría contribuir a la disminución del colesterol del consumidor, lo que implicaría una potencial mejora de su salud y la posibilidad de categorizar al producto como alimento funcional.

5.1.3. Calidad durante el almacenamiento

Los alimentos cárnicos bajos en grasa son perecederos, y en algunos casos, más que los productos regulares por su mayor contenido de agua (Jiménez-Colmenero, 2000). Por lo que es esencial comprender su comportamiento en condiciones normales de distribución hasta llegar al consumidor. Además de proporcionar ventajas en relación con una variedad de factores de calidad, puede ayudar a garantizar que se elaboren de forma segura.

Se han estudiado un número importante de características que influyen en el almacenamiento de acuerdo con el tipo de producto cárnico de bajo contenido graso. Estas características se refieren a las propiedades de unión de agua, propiedades sensoriales, medición instrumental del color, análisis de textura, proliferación

microbiológica, y oxidación lipídica (TBARS), todos en relación con diferentes variables tales como el agua y la grasa añadida, condiciones de envasado (película empleada y nivel de vacío), presencia de ciertos ingredientes (por ejemplo, carragenanos, tocoferoles, proteínas de leche) o condiciones de almacenamiento (refrigerado o congelado) (Cayré y col., 2005).

5.2. Objetivos específicos del Capítulo

Durante el almacenamiento al vacío refrigerado de emulsiones cárnicas pueden producirse modificaciones en sus parámetros de calidad (pérdida de peso, textura, color, desarrollo microbiano y calidad sanitaria) que pueden limitar su vida útil. En el caso de geles emulsionados cárnicos magros formulados con aceite de pescado es importante considerar también el posible deterioro por oxidación lipídica. Por lo tanto, utilizando la formulación predicha en el **Capítulo 4**, se propuso:

1. Estudiar el efecto de la incorporación de antioxidantes naturales o sintéticos (tocoferoles a dos niveles y butilhidroxianisol, BHA) sobre la estabilidad oxidativa del producto almacenado en condiciones de vacío y refrigerado a 4°C durante 45 días, y comparando los resultados con una formulación control sin antioxidante.
2. Evaluar el desarrollo microbiano y presencia o ausencia de patógenos para asegurar la calidad microbiológica de los productos durante su almacenamiento.
3. Analizar la estabilidad de los restantes parámetros de calidad de los embutidos, ya que de producirse alteraciones se podrían ver reflejada en la aceptabilidad de los consumidores.

5.3. Materiales y Métodos

5.3.1. Materiales

Para la formulación de las salchichas utilizadas en los ensayos de almacenamiento se empleará: carne vacuna (músculos *adductor femoris* y *semimembranosus*). El aceite de origen marino empleado correspondió a un lote de aceite de raya sin antioxidante incorporado, el cual fue previamente refinado y deodorizado (OmegaSur S.A. Mar del Plata, Argentina). Además se utilizó NaCl, concentrado de proteínas de leche (Milkaut S.A., Santa Fé, Argentina), κ -carragenanos en proporción 2:1 (ADAMA S.A., Buenos Aires, Argentina), mezcla de fitoesteroles naturales (composición en Tabla 5.1, AOM, Advanced Organic Materials SA, Pilar Argentina), mezcla de tocoferoles naturales (composición en Tabla 5.2, Tocomix 70, Advanced Organic Materials, Pilar, Argentina), y

butilhidroxianisol (BHA, Fagron S.A., España). Se empleó colorante natural, ácido carmínico (Naturis S.A., Buenos Aires, Argentina).

Tabla 5.1 Composición de la mezcla de fitoesteroles empleada

| Fitoesterol | g/100g |
|---------------------|--------|
| Campesterol | 22.77 |
| Stigmasterol | 25.29 |
| β -Sitosterol | 40.62 |
| Otros esteroles | 3.00 |
| Esteroles totales | 91.68 |

Tabla 5.2. Composición de la mezcla de tocoferoles empleada

| Tocoferol | g/100g |
|------------------------|--------|
| D- α -Tocoferol | 10.22 |
| D- β -Tocoferol | 19.33 |
| D- γ -Tocoferol | 23.12 |
| D- δ -Tocoferol | 18.36 |
| Tocoferoles totales | 71.03 |

5.3.2. Diseño experimental

Sobre la base de la formulación optimizada en el **Capítulo** anterior se trabajó sobre formulaciones según Tabla 5.3 y se estudió el efecto de la incorporación de los siguientes antioxidantes disueltos en el aceite:

- Mezcla de tocoferoles naturales: 2.5 mg/100g de producto crudo (equivalente a 0.05g/100g de aceite).
- Mezcla de tocoferoles naturales: 5 mg/100g de producto crudo (equivalente a 0.1g/100g de aceite).
- Butilhidroxianisol (BHA): 0.5 mg/100g de producto crudo (equivalente a 0.01g/100g de aceite), límite máximo establecido por el CAA, Art.323bis.
- Control sin antioxidante.

Tabla 5.3. Composición porcentual de las formulaciones de salchichas magras.

| Componente | g/100g |
|-------------------------|--------|
| Carne | 66.66 |
| NaCl | 1.4 |
| Agua destilada | 25 |
| Aceite de pescado* | 5 |
| Proteínas lácteas (L) | 0.32 |
| κ:ι-Carragenanos (Carr) | 0.593 |
| Glutamato monosódico | 0.02 |
| Fitoesteroles | 0.5 |
| TPP | 0.2 |
| Pimienta | 0.2 |
| Nuez moscada | 0.05 |
| Eritorbato de sodio | 0.045 |
| NaNO ₂ | 0.015 |
| Colorante carmín | 0.0032 |

*conteniendo o no el antioxidante disuelto según diseño

5.3.3. Elaboración de los productos

Para la elaboración de las muestras se siguió el protocolo descrito en 3.3.2., excepto que para procesar la materia prima se utilizó un equipo Atma MP8601 de 600 W (Atma, Buenos Aires, Argentina). En este caso, tanto los carragenanos como las proteínas de leche se incorporaron juntos en la emulsión aceite de pescado/agua, empleando los valores obtenidos mediante la optimización de la formulación en 4.4.4.

El aceite a emplear fue dividido en cuatro lotes, tres lotes fueron adicionados con la respectiva cantidad de antioxidante correspondiente al nivel a evaluar, previamente descrito en 5.3.2. El cuarto lote se mantuvo sin antioxidante, como control. Se almacenaron en botellas plásticas opacas insuflando nitrógeno para reemplazar el aire residual, a -20°C, hasta su utilización (dentro de la misma semana) para la producción de salchichas magras con aceite de pescado.

5.3.4. Almacenamiento de los productos

Una vez elaboradas, las salchichas fueron envasadas bajo vacío de a dos unidades en bolsas Cryovac BB4L (Sealed Air Co., Buenos Aires, Argentina; PO₂: 35 cm³ m⁻² día⁻¹ bar⁻¹ a 23°C) y almacenadas a 4°C durante un período máximo de 45 días, el cual se

corresponde con el tiempo de almacenamiento de un producto tradicional, comercial, elaborado con grasa vacuna. A distintos tiempos de almacenamiento se tomaron muestras para realizar los diferentes ensayos.

5.3.5. Parámetros de calidad durante el almacenamiento

5.3.5.1. Exudado

Para cada formulación se determinó la cantidad de líquido exudado por duplicado, tomando dos envases independientes almacenados al vacío a 4°C, a distintos tiempos. Las salchichas fueron retiradas del envase, secadas cuidadosamente con papel absorbente para eliminar el líquido que pueda haber quedado en la superficie de las mismas y pesadas (m_t). El peso inicial de las muestras fue tomado al comienzo del almacenamiento refrigerado (m_0). El exudado a los diferentes tiempos de almacenamiento se calculó como la pérdida de peso (%) respecto al peso inicial, m_0 :

$$E = \left(\frac{m_0 - m_t}{m_0} \right) \times 100 \quad \text{Ec. 5.1}$$

Donde:

E = líquido exudado en g/100g de salchichas.

m_0 = masa de la muestra al inicio del almacenamiento (g)

m_t = masa de la muestra al tiempo "t" del almacenamiento (g)

5.3.5.2. Análisis de perfil de textura

El análisis de perfil de textura (TPA) de los productos obtenidos se efectuó según el procedimiento descrito en 3.3.4.3.

5.3.5.2. Color

Las determinaciones de los parámetros cromáticos se realizaron según los descrito en 3.3.4.4.

5.3.5.3. Determinación de pH

La determinación del pH de las muestras se efectuó con un electrodo de punta para muestras sólidas, con referencia Ag/AgCl (Phoenix 557-3512, EE.UU) conectado a un pHmetro (EC30, Hacht, Loveland, CO). Las determinaciones se realizaron por triplicado.

5.3.5.4. Ensayos microbiológicos

Se realizaron recuentos microbianos durante el almacenamiento refrigerado a 4°C de los productos. De esta manera se pudo evaluar la evolución de su carga microbiana.

A su vez al finalizar el almacenamiento se efectuaron ensayos microbiológicos con el objetivo de evaluar la aptitud sanitaria de los productos, relacionada al proceso de elaboración y almacenamiento de las salchichas bajas en grasa con aceite de pescado.

5.3.5.4.1. Recuentos microbianos

Durante el almacenamiento refrigerado de los productos se realizaron los recuentos microbianos empleando la técnica de recuento en placa y trabajando en flujo laminar.

La dilución inicial se realizó, por duplicado, mediante homogeneización en condiciones estériles en homogenizador Stomacher (West Sussex, Reino Unido) de 20 g de muestra con 180 mL de agua peptona 0.1 g/100ml por 60 seg a velocidad normal.

Se realizaron apropiadas diluciones seriadas de las diferentes muestras en tubos con agua peptona 0.1 g/100ml, sembrándose en profundidad, 1mL de las diluciones correspondientes en placas de los siguientes medios, por duplicado:

- “Plate Count Agar” (PCA, Oxoid, Hampshire, Reino Unido): incubando a 30°C durante 48 hs para recuento de microorganismos totales mesófilos y a 4°C durante 5 días para el recuento de microorganismos totales psicrótrofos.
- Agar Cloranfenicol, Extracto de levadura, Glucosa (YGC, Merck KGaA, Darmstadt, Alemania): para recuento de hongos y levaduras, incubando a 25 - 30°C durante 5 días.
- Agar de Man Rogosa and Sharpe (M.R.S) (Oxoid, Hampshire, Reino Unido): para recuento de *Lactobacillus spp.*, incubación a 30°C, durante 48 hs.
- Agar Bilis Rojo Violeta Glucosa (ABRV, Merck KGaA, Darmstadt, Alemania): para recuento de Enterobacteriaceae, incubación a 37°C, durante 48 hs.

Los recuentos obtenidos en los diferentes medios de cultivo fueron expresados como log UFC/g de producto para los diferentes grupos de microorganismos analizados.

5.3.5.4.2. Calidad sanitaria

Para asegurar la calidad sanitaria de los productos se evaluaron al final de su almacenamiento refrigerado los siguientes microorganismos:

- Coliformes totales, utilizando en método del número más probable (NMP) según AOAC 46016 (1984), con campanas de Durham.

- Clostridium sulfito-reductores, utilizando agar triptona-sulfito-neomicina (TSN) (Biokar Diagnostics, Pantin Cedex, Francia), incubando a 37°C durante 48 horas en condiciones de anaerobiosis.

5.3.5.5. Oxidación lipídica

El aceite de pescado es altamente susceptible a la oxidación lipídica debido a su alto contenido en AGPI, y sumado a la elevada susceptibilidad de este tipo de productos cárneos, resulta necesario evaluar si la incorporación de antioxidantes (tipo y nivel) es eficiente para prevenir su deterioro.

La cuantificación de la oxidación lipídica depende del método instrumental utilizado para su medición. En los productos cárnicos se recomiendan evaluar resultados basados en pruebas sensoriales, sin embargo, esta técnica es costosa y consume mucho tiempo. La selección de la metodología de detección de sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) se basa en resultados de Yang y col. (2000) que informaron de una correlación altamente significativa entre estas sustancias (TBARS) y las determinaciones sensoriales.

Para la determinación de la oxidación lipídica en los productos se cuantificaron entonces las TBARS (Tironi, y col., 2007, Andrés y col. 2012). La reacción se basa en la extracción con ácido tricloroacético de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBA) como el malonaldehído (MDA) u otros compuestos similares y la posterior formación de un aducto de color rosado entre el ácido 2-tiobarbitúrico y el malonaldehído (Figura 5.6).

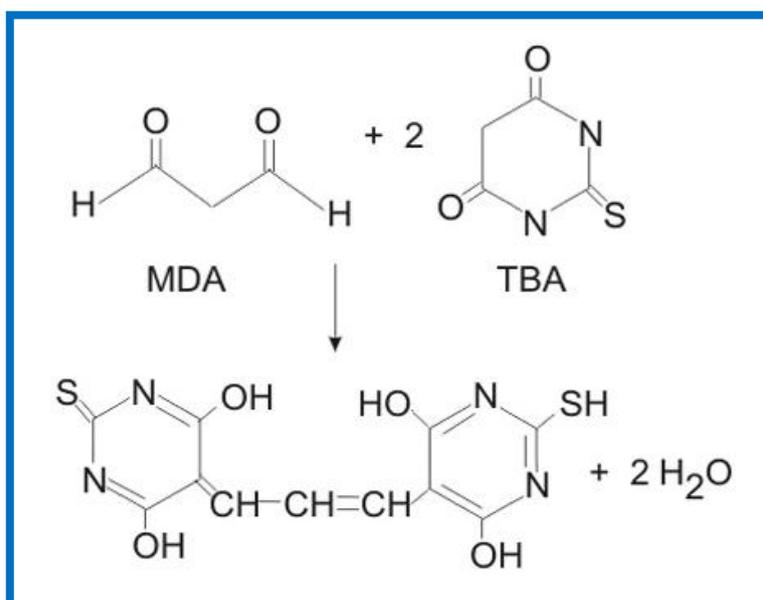


Figura 5.6. Reacción entre el MDA y el TBA en el ensayo de cuantificación de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico

Este análisis se realizó por cuadruplicado sobre 2 g de cada muestra tomada a diferentes tiempos durante el almacenamiento refrigerado. Para precipitar las proteínas y solubilizar las TBARS presentes en la muestra se usó ácido tricloroacético (TCA) 12 g/100g y se mantuvo con agitación constante en baño de agua-hielo durante 30 minutos. Luego se filtró por papel. Se tomaron 2 ml de filtrado y se colocaron en un tubo con 2 ml de reactivo TBA 0.5 g/100g (preparado en agua el día de uso y sonicado 30 minutos para facilitar su solubilización), dejando reaccionar en baño termostático a 70°C durante 30 minutos. Luego, se enfrió bajo canilla y se midió la absorbancia a 532 nm (A_{532}) en un espectrofotómetro Hach DR-2800 (Hach Company, EE.UU.). Para ajustar el valor de $A_{532} = 0$ se realizó un blanco conteniendo 2ml de la solución de TCA y 2ml de la solución de TBA. Las TBARS se expresaron como mg de malonaldehído (MDA)/kg producto, según la Ec. 5.2:

$$\text{N}^\circ \text{TBARS} = \frac{M \times V_a \times V_e \times 1000 \times A_{532}}{E \times L \times m} \quad 5.2$$

Donde:

M = masa molecular del malonaldehído (72g)

V_a = volumen alícuota (2 mL)

V_e = volumen extracto (15 mL)

E = coeficiente de extinción molar del complejo coloreado ($1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$).

L = camino óptico (1.3 cm)

m = masa de muestra.

5.3.5.6. Determinación del perfil de ácidos grasos

Se determinó el perfil de ácidos grasos de la muestras control sin antioxidante y la formulación con tocoferoles 0.1g/100g, a tiempo inicial y final del almacenamiento, para evaluar los cambios producidos. Los picos detectados fueron identificados e integrados para cuantificar los distintos ácidos grasos empleando el software propio del equipo.

5.3.5.6.1. Extracción de la fase lipídica

La extracción de lípidos de los productos se realizó mediante el método de Folch (Folch y col., 1957). Se homogenizaron 15 - 20 g de muestra cocida y procesada con 60 - 70 mL de mezcla cloroformo:metanol 2:1 con agitación constante durante 1 hora en baño de agua-hielo. Se filtró por papel sobre una ampolla de decantación, lavando el filtro y su contenido con la mezcla de solventes. Sobre el filtrado se agregaron 25 mL de agua destilada, se homogeneizó y se dejó en reposo hasta que se produjo la separación de

fases. La fase clorofórmica (inferior) se transfirió a un balón y se separó el cloroformo en rotavapor a 40°C a baja presión. La fracción lipídica obtenida se utilizó para determinar el perfil de ácidos grasos.

5.3.5.6.2. Perfil de ácidos grasos

La esterificación de los ácidos grasos se realizó siguiendo la norma ISO 5509:2000. La fase grasa extraída en frío (0.1 g) fue disuelta en hexano grado HPLC y se agregó 0.3 mL de KOH en metanol. Se agitó vigorosamente durante 2 minutos y se dejó reposar para que precipitaran los jabones potásicos. Se agregó NaCl en solución sobresaturada y se agitó vigorosamente. Este procedimiento transforma los ácidos grasos en sus derivados más volátiles, los ésteres metílicos de ácidos grasos, condición necesaria para su posterior análisis por cromatografía gaseosa.

La composición en ácidos grasos fue obtenida por cromatografía gaseosa acoplada a un detector masa, en el Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero (INIDEP, Mar del Plata). Se utilizó una columna capilar Omegawax 320 (30 m/0.32 mm id/ 0.25 µm) en un cromatógrafo Shimadzu 2010 con detector masa. El perfil de ácidos grasos de cada una de las muestras se obtuvo por comparación de los tiempos de retención relativos de cada uno de ellos respecto de estándares comerciales (Supelco 37 Component FAME Mix, Cat. No.18919-1 AMP, Sigma Aldrich) analizados previamente en la misma columna.

5.3.5.7. Análisis estadístico

Los análisis de varianza se llevaron a cabo por separado para las variables dependientes exudado, textura (dureza, cohesividad, adhesividad, elasticidad, masticabilidad, resiliencia), parámetros de color (L^* , a^* y b^*), pH, recuentos microbianos, y valores de TBARS. Se utilizó el ensayo de LSD (least significant differences) para estudiar las comparaciones pareadas de medias. Las diferencias entre medias y ensayos F se consideraron significativas cuando las probabilidades estimadas fueron inferiores a 0.05 ($P < 0.05$). Todos los procedimientos estadísticos se llevaron a cabo mediante el software SYSTAT (SYSTAT, Inc., Evanston, IL). Los resultados experimentales se informaron como valores medio \pm el error estándar de la media.

5.4. Resultados y Discusión

5.4.1. Exudado

Las propiedades de unión matriz-agua pueden ser más importante que las propiedades de unión de matriz-lípido en productos cárnicos reformulados (Jimenez-Colmenero, 2000). El agua añadida no debe perderse durante el tratamiento térmico y enfriamiento. Las pérdidas o exudado (en el envasado al vacío o de otro modo) pueden ser un problema grave, ya que no sólo imparte un aspecto desagradable al producto, sino que también puede estimular el crecimiento de microorganismos con la consiguiente reducción de su vida útil (Reagan, 1983; López-López, 2009).

En la Figura 5.7, se muestran los valores de exudado de las formulaciones almacenadas.

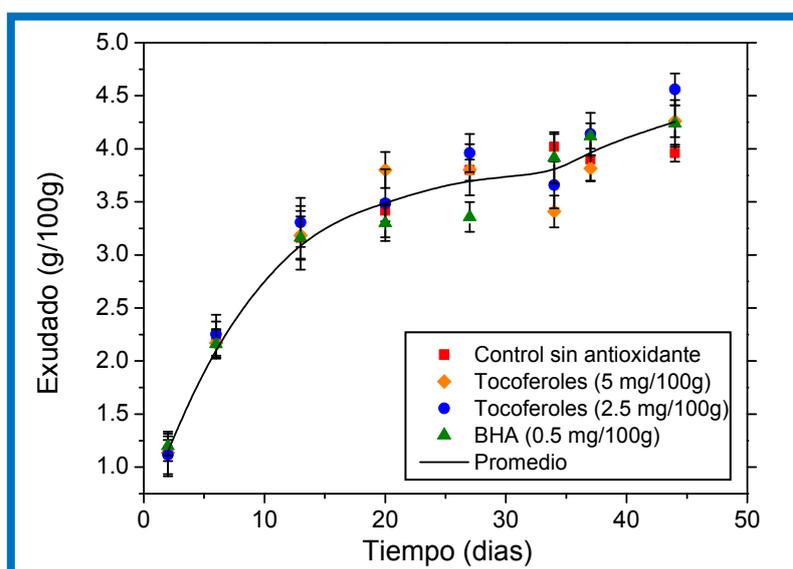


Figura 5.7. Exudado (g/100g) en función del tiempo de almacenamiento de salchichas conteniendo aceite de pescado y diferentes antioxidantes agregados.

Como puede observarse, no se vieron diferencias significativas ($P < 0.05$) en los valores de exudado para los distintos tratamientos estudiados. Los niveles medios para las cuatro formulaciones variaron de 1.15 a 4.26 g/100g entre el inicio y fin del almacenamiento, respectivamente. Estos valores resultan aceptables y similares a la información reportada por otros autores para salchichas magras (Bloukas y Paneras, 1993 y 1994; Candogan y Kolsarici, 2003 y Andrés y col., 2009). Los bajos valores de exudado observados estarían asociados a una alta retención de líquido por la matriz a lo largo del almacenamiento y no fueron modificados con el agregado de antioxidantes al producto.

5.4.2. Perfil de textura

Resulta de importancia conocer el perfil de textura de los productos almacenados para poder evaluar los posibles cambios que se produzcan. Estos cambios podrían ser percibidos por los consumidores, lo que impactaría en la aceptación del producto.

No se observaron diferencias en el perfil de textura entre las distintas formulaciones estudiadas ($P > 0.05$). Sin embargo el efecto del tiempo de almacenamiento impactó sobre los perfiles texturales de las muestras.

En las Figuras 5.8, 5.9 y 5.10 se presentan los resultados obtenidos durante el almacenamiento bajo vacío refrigerado, para los parámetros dureza, masticabilidad y resiliencia de las salchichas con aceite de pescado y antioxidantes agregados.

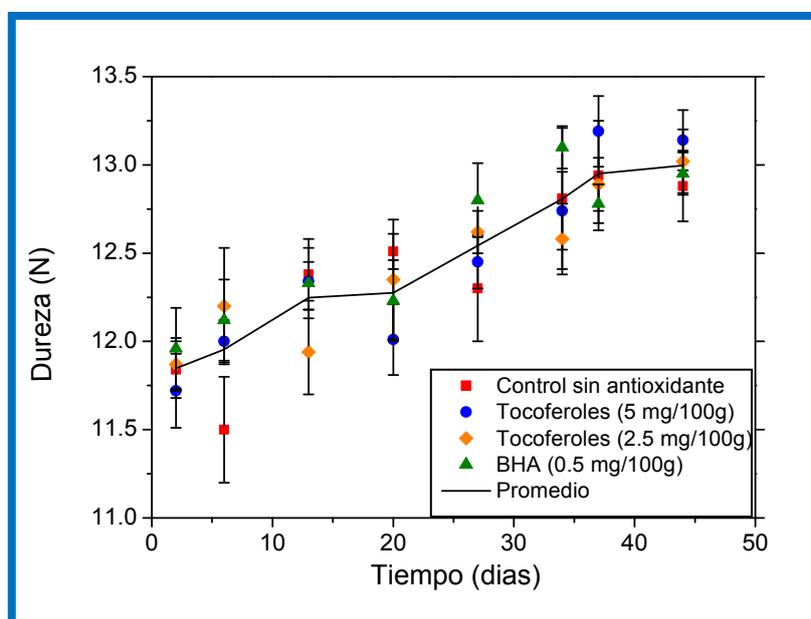


Figura 5.8. Variación de la dureza durante el almacenamiento de salchichas conteniendo aceite de pescado y diferentes antioxidantes agregados.

La dureza de las salchichas magras formuladas con aceite de pescado se vio incrementada significativamente en un 11.1% al cabo de 45 días del almacenamiento refrigerado (Figura 5.8). El aumento excesivo de la dureza y otros parámetros de textura, tales como masticabilidad, puede resultar indeseable ya que tendría un impacto en la aceptabilidad del consumidor. Los valores observados inicialmente son ligeramente superiores a los correspondientes a la formulación optimizada informada en el **Capítulo 4**, que corresponde a la control de este Capítulo, esto puede explicarse por diferencias en la materia prima usada (carne) y en el reemplazo obligado de una procesadora de 720 W

por una de 600 W; pese a ello, la dureza observada en estos productos no es mucho más elevada respecto al producto comercial tradicional (9 - 12 N).

Se han informado de aumentos de dureza durante el almacenamiento refrigerado de diversos productos cárnicos cocidos (Fernández-Ginés y col., 2003; Fernández-López y col., 2004; Estévez y col., 2005 y, Hassaballa y col., 2009). En estos productos el aumento de la dureza se puede vincular a las pérdidas de líquido del sistema. Por ello se analizó la posible correlación entre los resultados obtenidos para la dureza con los de exudado, encontrándose una correlación significativa ($P < 0.05$) entre ambos parámetros (Figura 5.9).

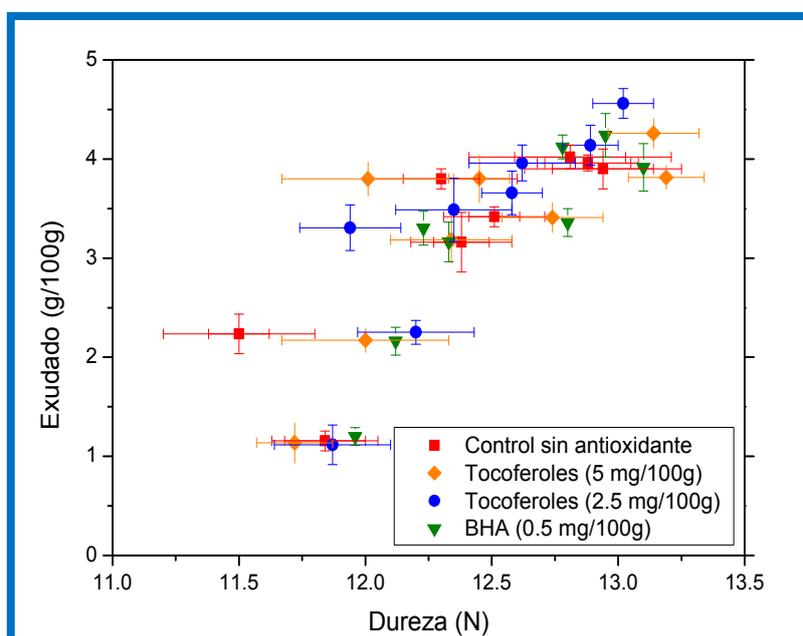


Figura 5.9. Correlación entre la dureza y exudado durante el almacenamiento de salchichas conteniendo aceite de pescado y diferentes antioxidantes agregados.

La masticabilidad presentó una tendencia similar a la dureza (Figura 5.10), eso se explicó porque los parámetros cohesividad y elasticidad no se vieron afectados significativamente durante el almacenamiento. Los valores medios obtenidos para todas las formulaciones estudiadas a lo largo del almacenamiento fueron de 0.873 ± 0.007 para la elasticidad y de 0.573 ± 0.004 para la cohesividad. Por último se destaca una disminución en la resiliencia con el tiempo de almacenamiento (Figura 5.11).

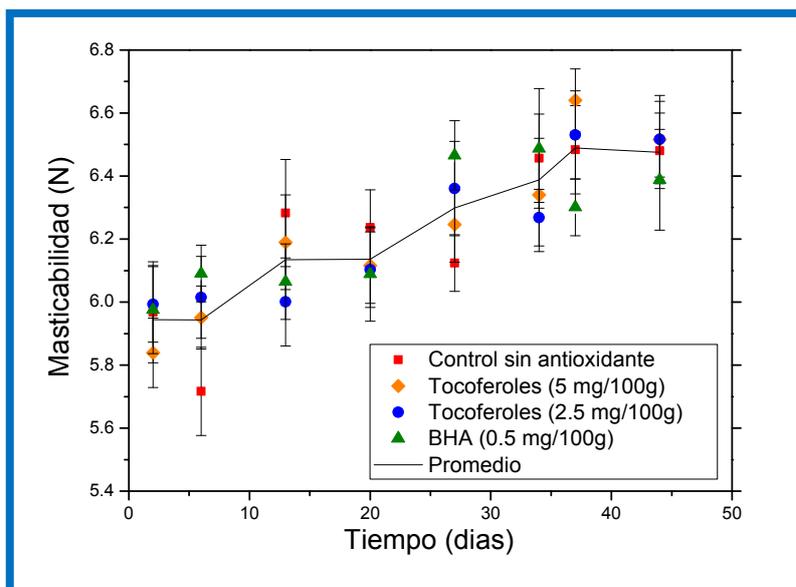


Figura 5.10. Variación de la masticabilidad durante el almacenamiento de salchichas conteniendo aceite de pescado y diferentes antioxidantes agregados.

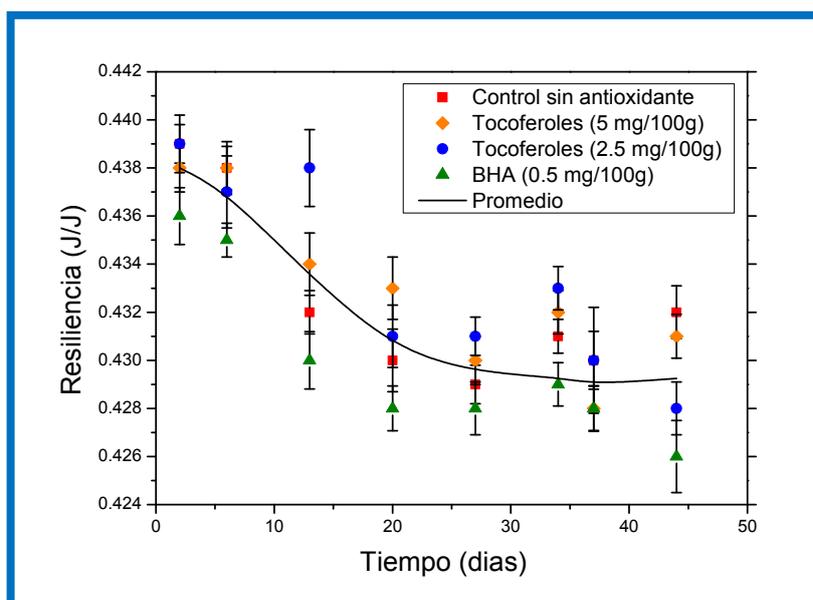


Figura 5.11. Variación de la resiliencia durante el almacenamiento de salchichas conteniendo aceite de pescado y diferentes antioxidantes agregados.

5.4.3. Color

El color de la carne y los productos cárnicos es el principal factor que afecta la aceptabilidad del producto de parte de los consumidores. Del análisis de los parámetros cromáticos para las formulaciones con diferentes antioxidantes y niveles evaluadas pudo comprobarse que no se encontraron diferencias significativas ($P < 0.05$) entre las formulaciones durante el almacenamiento refrigerado.

Sin embargo se observaron pequeñas diferencias significativas en el parámetro luminosidad respecto del tiempo ($P > 0.05$). La evolución del parámetro luminosidad (L^*) se muestra en la Figura 5.12. Puede observarse un descenso de la luminosidad a partir del día 20 de almacenamiento, obteniéndose en todos los casos muestras más oscuras (menor L^*) a los 45 días de almacenamiento refrigerado. Este efecto podría estar asociado a la mayor proporción de sólidos debido al líquido exudado.

Los parámetros a^* y b^* no presentaron cambios durante el almacenamiento, ni entre las formulaciones analizadas. Sus valores medios fueron 15.3 ± 1.2 y 14.3 ± 0.8 , para a^* y b^* , respectivamente.

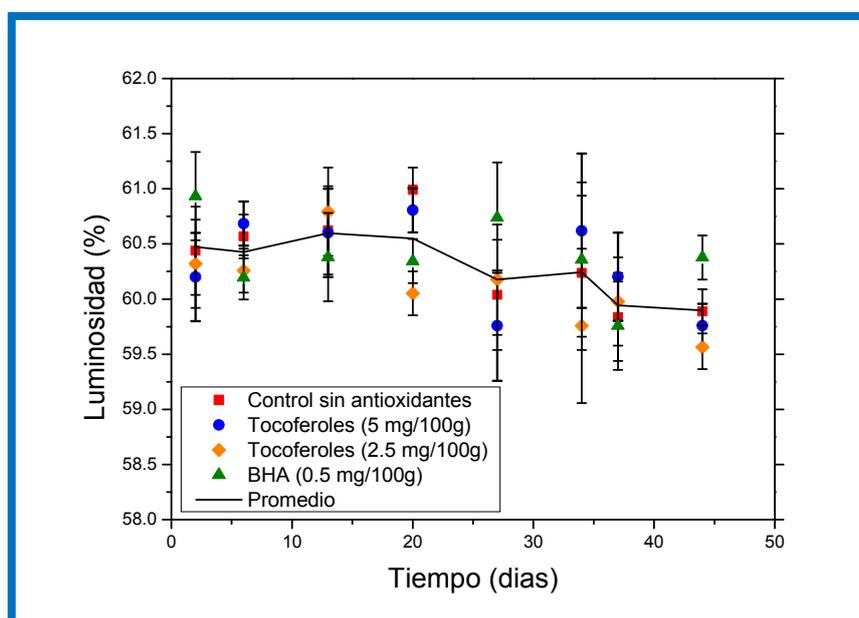


Figura 5.12. Variación en el parámetro de color Luminosidad durante el almacenamiento de salchichas conteniendo aceite de pescado y diferentes antioxidantes agregados.

5.4.4. Ensayos microbiológicos

5.4.4.1. Recuentos microbianos y pH

La calidad y la vida útil de los alimentos cárnicos cocidos se determinan entre otros para muestras de calidad por el crecimiento de microorganismos (Borch y col., 1996). Para el control de la supervivencia microbiana y el crecimiento de microorganismos en los alimentos, se utilizan procedimientos de conservación de alimentos. El envasado al vacío ha demostrado ser muy eficaz en la ampliación de la vida útil de los alimentos perecederos tales como productos cárnicos (Church y Parsons, 1995). En estas condiciones, el suministro de oxígeno será restringido, la fase gaseosa resultante, que está determinada por la velocidad de permeación de gas a través de la película y la tasa

de consumo de oxígeno en el envase, tiene un efecto selectivo sobre la población microbiana (Farber, 1991; Labadie, 1999).

La temperatura es un factor importante en reacciones de deterioro de alimentos, especialmente en el caso deterioro microbiano ya que la tasa de crecimiento específico y la fase de latencia son altamente dependientes de la temperatura (Cayré y col, 2003). Sin embargo, el desarrollo bacteriano en vacío no es solamente influenciado por la temperatura sino por otros factores como la disponibilidad de oxígeno y la actividad de agua, que también pueden determinar las cantidades y el tipo de microorganismos que crecen en los alimentos cárnicos (Labadie, 1999).

En las Figuras 5.13, 5.14 y 5.15 se presentan los resultados obtenidos para los recuentos de microorganismos totales mesófilos, psicrótrofos y bacterias ácido-lácticas realizados sobre salchichas con aceite de pescado y antioxidantes a diferentes tiempos durante el almacenamiento bajo vacío refrigerado.

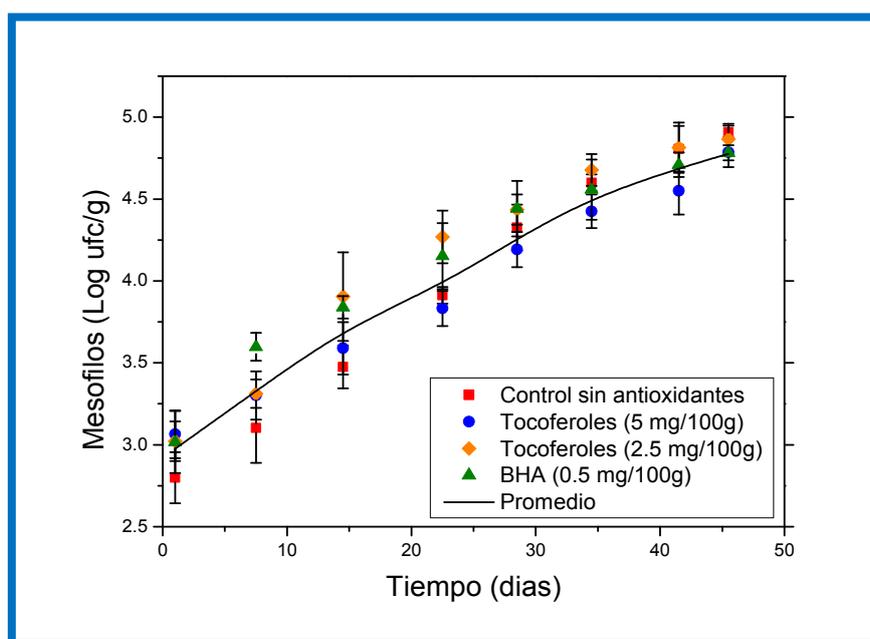


Figura 5.13. Recuento de microorganismos mesófilos de salchichas con aceite de pescado y diferentes antioxidantes agregados durante su almacenamiento bajo vacío refrigerado.

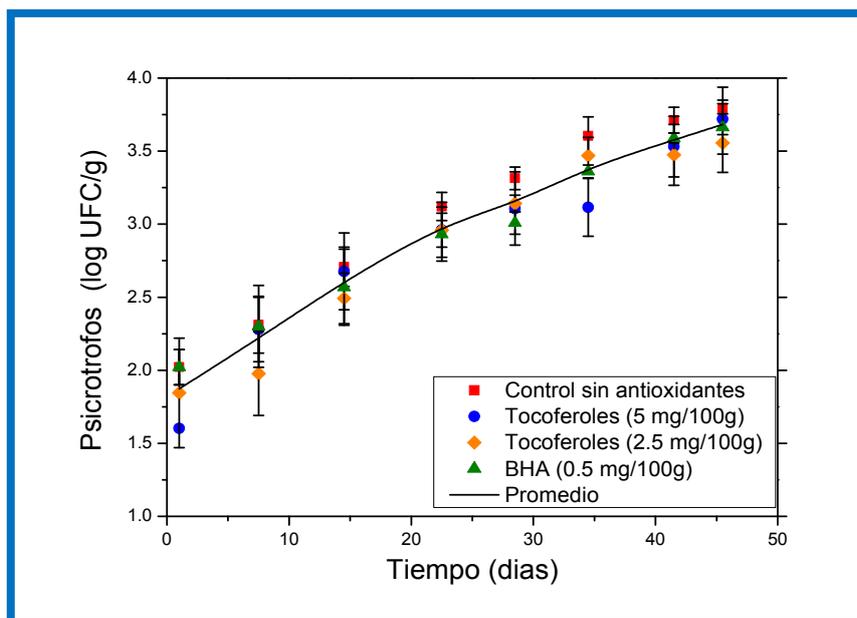


Figura 5.14. Recuento de microorganismos psicrótrofos de salchichas con aceite de pescado y diferentes antioxidantes agregados durante su almacenamiento bajo vacío refrigerado.

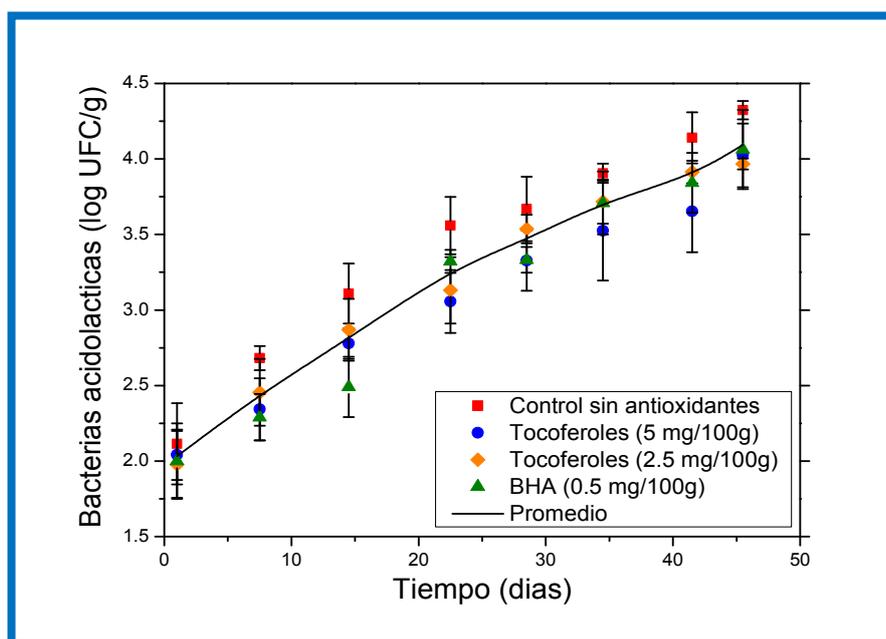


Figura 5.15. Recuento de bacterias ácido-lácticas de salchichas con aceite de pescado y diferentes antioxidantes agregados durante su almacenamiento bajo vacío refrigerado.

En todas las formulaciones se observaron bajos recuentos iniciales de microorganismos totales mesófilos, psicrótrofos y BAL iniciales. Eso reflejó la efectividad del tratamiento térmico de pasteurización al que fueron sometidas las salchichas. Al finalizar el

almacenamiento los niveles de dichos microorganismos resultaron inferiores a 5 log UFC/g, límite establecido por las reglamentaciones vigentes, en el Art 302 del CAA (CAA, 1996) para los microorganismos considerados.

Se desprende del análisis simultáneo de las Figuras 5.13, 5.14 y 5.15 que la flora microbiana predominante son las bacterias ácido-lácticas psicrótrofas. Este fenómeno fue descrito por varios autores (Hansen y Bautista, 2000; Nychas y Drosinos, 2000; Cayré y col., 2005; Andrés y col., 2009), y algunos lo atribuyen a que durante el almacenamiento de los productos cárnicos envasados bajo vacío se restringe el crecimiento de *Pseudomonas spp.* por lo que las BAL, se convierten en el componente principal de la microflora (Cayré y col., 2005).

Las BAL fueron identificadas como los principales microorganismos de deterioro de alimentos cárnicos procesados, como embutidos, envasados al vacío y refrigerados (Korkeala y Björkroth, 1997; Samelis y col., 2000). Su crecimiento y el metabolismo en estos productos depende de factores tales como el pH, la temperatura, la composición de la atmósfera dentro del envase y la disponibilidad de sustrato (Ping-Mei y col., 2008). Este deterioro influye significativamente en la calidad de la carne y productos cárnicos, debido a la acidificación que producen en condiciones anaeróbicas.

En la Figura 5.16 se muestra la evolución del pH de las muestras durante el almacenamiento.

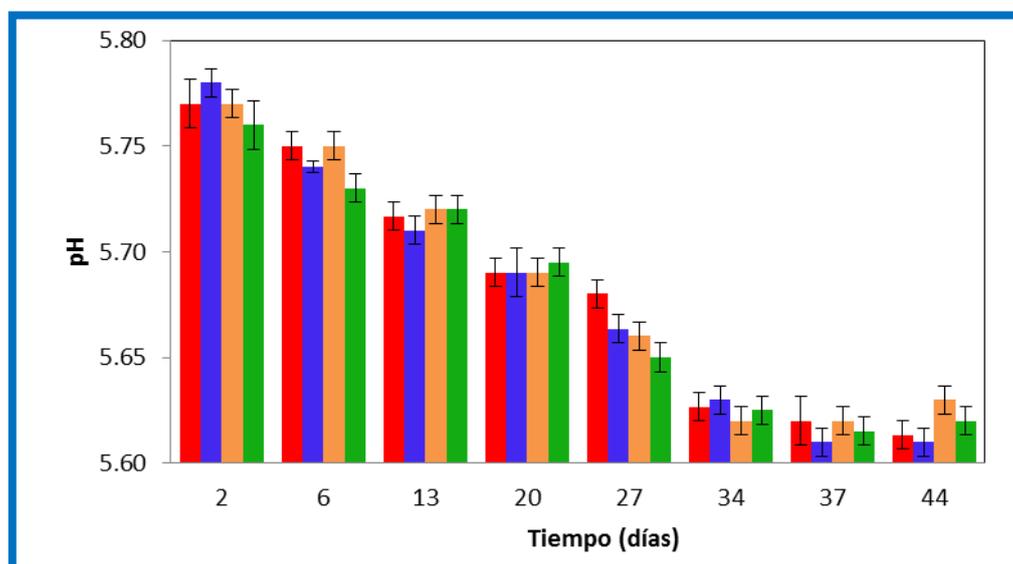


Figura 5.16. Variación de pH de salchichas magras formuladas con aceite de pescado, envasadas al vacío durante el almacenamiento refrigerado.

Códigos: ■ Control, sin antioxidante, ■ Tocopheroles 5 mg/100g, ■ Tocopheroles 2.5 mg/100g, ■ BHA 0.5 mg/100g

Pudo observarse un descenso del pH, de 5.77 a 5.62, entre el comienzo y fin del almacenamiento, asociado al desarrollo de las BAL y relacionado con la producción de ácidos grasos de cadena corta, sin diferencias significativas entre las formulaciones analizadas.

Los recuentos de hongos y levaduras, y de *Enterobacteriaceae* (gran grupo de bacterias anaerobias facultativas comúnmente utilizada como indicador de buenas condiciones higiénicas) resultaron en todos los productos por debajo del límite de detección del método (< 2 log UFC/g).

5.4.4.2. Evaluación de la calidad sanitaria

Los ensayos de calidad sanitaria complementan a los recuentos microbianos y determinan su aptitud para su consumo. De este modo se puede obtener información sobre el proceso de elaboración y almacenamiento de las salchichas magras con aceite de pescado y fitoesteroles.

El CAA contempla un criterio específico para determinaciones microbiológicas en chacinados embutidos cocidos (Art 341). Los límites para cada ensayo descrito son los siguientes:

- Recuento de Clostridium sulfito-reductores: menor a 100 UFC/g.
- Recuento de coliformes totales: menor a 100 UFC/g.

En la Tabla 5.4 se informan los valores encontrados de Clostridium sulfito-reductores y Coliformes totales en los productos elaborados.

Tabla 5.4. Niveles de Clostridium sulfito-reductores y Coliformes totales en salchichas con aceite de pescado y antioxidantes luego de 45 días de almacenamiento bajo vacío refrigerado

| Formulación | Clostridium sulfito-reductores (log UFC/g) | Coliformes totales (NMP/g) |
|---------------------------|---|-------------------------------|
| Control, sin antioxidante | nd | 1.8 ± 0.11 |
| Tocoferoles (0.05 g/100g) | nd | 1.5 ± 0.10 |
| Tocoferoles (0.1 g/100g) | nd | nd |
| BHA (0.01 g/100g) | nd | 1.5 ± 0.10 |

*nd = no detectado

Como se puede observar, los valores determinados de recuentos de Clostridium sulfito-reductores y Coliformes totales cumplen con la normativa vigente establecida por el CAA.

Los recuentos de coliformes en los productos resultaron muy bajos al finalizar el almacenamiento bajo vacío a 4°C debido a un adecuado tratamiento térmico durante su elaboración, que eliminó los coliformes sensibles al calor (Hung and Zayas, 1991; Andrés y col., 2009). A su vez no se detectaron Clostridium sulfito-reductores durante el período de almacenamiento, indicando las condiciones sanitarias seguras de los productos. Esto refleja una buena calidad microbiológica de las salchichas bajas en grasa con aceite de pescado almacenadas durante 45 días al vacío refrigeradas.

5.4.5. Estabilidad lipídica

5.4.5.1. Ensayo de estabilidad oxidativa

El alto grado de insaturación de los ácidos grasos poli-insaturados (AGPI) provenientes del aceite de pescado implica posibles reacciones de oxidación más rápidas respecto a aceites menos con AG menos insaturados (Gurr y col., 2002). Esta gran susceptibilidad de los AGPI a los procesos oxidativos y la consecuente rancidez limitan el uso de este tipo de aceites y hacen necesario el desarrollo de diferentes estrategias y técnicas para protegerlos de la oxidación.

El uso de antioxidantes puede prevenir el deterioro oxidativo de los alimentos enriquecidos con AGPI n-3, sin embargo, antioxidantes similares ejercen efectos diferentes sobre una matriz alimentaria (Jacobsen, 2008). Trabajos previos han demostrado que es posible desarrollar nuevos productos cárnicos ricos en AGPI elaborados con aceites pre-emulsionados y la adición de antioxidantes artificiales para mejorar las propiedades nutricionales de estos productos (Lee y col, 2006a; Muguerza y col., 2004; Valencia y col., 2006b; Valencia y col., 2007).

Generalmente no hay problemas específicos que hayan sido reportados en conexión con la estabilidad oxidativa en geles cárnicos emulsionados formulados con lípidos saludables provenientes de aceites vegetales. Este hecho ha sido atribuido a una variedad de factores: la presencia de sales de curado como como nitritos, fosfatos y/o ascorbato, que actúan como antioxidantes (Márquez y col., 1989), la presencia natural de diversas sustancias antioxidantes (tocoferoles, compuestos fenólicos) en los aceites vegetales usados (Bloukas y col., 1997; Bishop y col., 1993); y finalmente, la ausencia de fosfolípidos en aceites refinados (Bishop y col., 1993) que se ha relacionado con una mayor estabilidad oxidativa.

Sin embargo, es escasa la información de la estabilidad de productos elaborados con aceites de origen marino, por lo que resulta imprescindible estudiar la estabilidad oxidativa de los productos.

Los resultados obtenidos en la evaluación de la estabilidad oxidativa de salchichas magras formuladas con aceite de pescado empleando distintos antioxidantes durante su almacenamiento bajo vacío, refrigeradas, se muestran en la Figura 5.17.

Es importante remarcar que particularmente en este trabajo de **Tesis**, los niveles de lípidos en las formulaciones estudiadas fueron relativamente bajos (5 g/100g) de modo tal que se limita el máximo valor de TBARS que pueda alcanzarse.

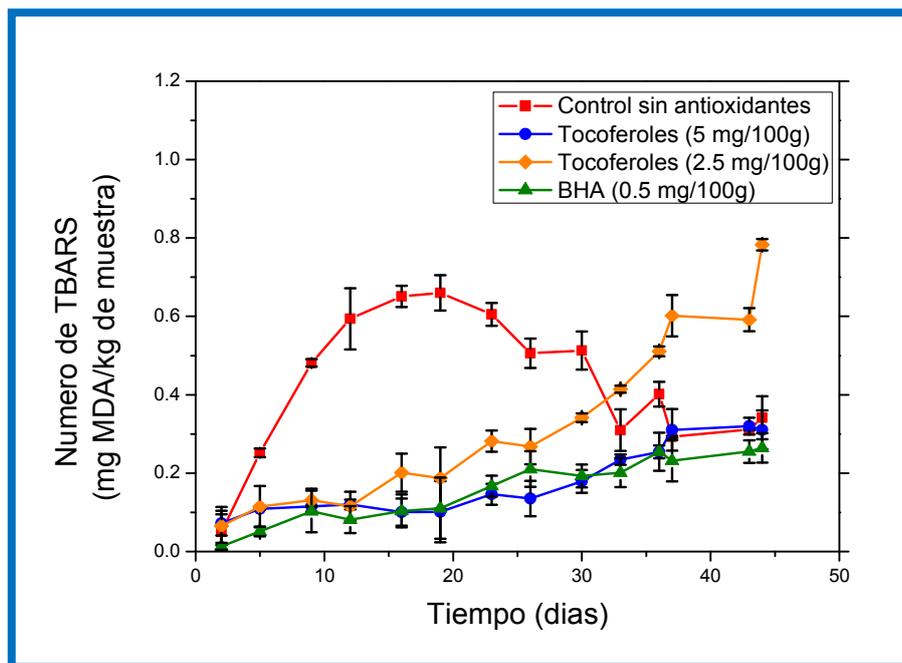


Figura 5.17. Evolución de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) de salchichas magras con aceite de pescado sin o con antioxidantes envasadas bajo vacío durante el almacenamiento refrigerado.

De acuerdo con Shahidi (1992), los valores de TBARS en alimentos cárnicos tienden a aumentar durante el período de almacenamiento, llegar a un valor máximo y luego disminuir debido a una reacción adicional de malonaldehído con grupos amino. Es por esto que es importante realizar un monitoreo de este parámetro a lo largo del tiempo. Este comportamiento fue observado en las muestras control sin antioxidante. Puede verse que las TBARS determinadas se incrementaron significativamente hasta el día 19 de almacenamiento refrigerado, alcanzando el valor máximo (0.66 mg MDA/kg de producto) para luego disminuir. Se ha sugerido que la evolución del número de TBARS está relacionada con la formación de malonaldehído (MDA) como un producto intermedio en la oxidación. En una primera etapa, la tasa de formación del MDA es mayor que la velocidad de desaparición del mismo, y después de este punto ocurre lo contrario.

En la formulación control (sin antioxidante) estudiada, los valores de TBARS alcanzaron su máximo alrededor del día 19, indicando que la velocidad de desaparición superó la velocidad de formación a partir de ese día (Bhattacharya y col., 1988). Del mismo modo, Jamora y Rhee (2002) informaron que el MDA formado durante el almacenamiento de los productos cárnicos podría sufrir reacciones intermoleculares (polimerización) o reacciones con otros constituyentes, especialmente aminoácidos/proteínas y consecuentemente la tasa de desaparición del MDA durante el almacenamiento podría exceder la tasa de producción a través de la oxidación lipídica. Iñiguez de Ciriano y col. (2006), al igual que Bloukas y Paneras (2006) reportaron una similar evolución del número de TBARS en emulsiones O/W con aceite de alga (*Cryptocodinium cohnii*) para ser utilizadas en sistemas cárnicos.

La formulación con 2.5 mg/100g de tocoferoles agregados mostró un incremento del número de TBARS hacia el final del período del almacenamiento, alcanzando valores similares o superiores a los máximos observados en el control. Esto muestra que la cantidad de tocoferoles fue insuficiente para evitar el proceso de oxidación lipídica en el período de almacenamiento considerado.

Finalmente, las formulaciones con BHA o con 5 mg/100g de tocoferoles agregados conteniendo al menos un 63% de no- α tocoferoles, principalmente D- γ /D- β tocoferoles (43.8%) y D- δ tocoferol (19.3%) mostraron un incremento leve del número de TBARS, llegando a valores inferiores a 0.4 mg MDA/kg de producto al final del almacenamiento sin presentar diferencias significativas entre ambos productos ($P > 0.05$). Esto indicaría que estos antioxidantes, en las concentraciones ensayadas, lograrían una buena estabilidad a la oxidación lipídica de los sistemas cárnicos estudiados.

Se han reportado diversos límites de tolerancia fisicoquímica o sensorial del número de TBARS en productos o sistemas cárnicos:

- 1- Campo y col. (2006) informaron que valores a partir de 2 mg MDA/kg no son aceptables debido al deterioro oxidativo en carne vacuna.
- 2- Liu y col. (2006) informaron que los valores de TBARS inferiores a 1.36 mg MDA/kg no promueven sabores desagradables ("off-flavors") detectables en productos cárnicos elaborados mediante una evaluación sensorial con panelistas entrenados.
- 3- Boles y Parrish (1990) indicaron que a partir de 1 mg MDA/kg comienzan a detectarse en paneles entrenados sabores relacionados con productos de la rancidez oxidativa en productos cárnicos, afectándose los parámetros organolépticos. El mismo límite de detección (1 mg MDA/kg) fue propuesto para carne cocida por Igene y col. (1979).

- 4- Por otro lado, Georgantelis y col. (2007) establecieron un límite máximo de 0.6 mg MDA/kg, a partir del cual comienza a detectarse el flavor rancio en productos cárnicos.
- 5- Se ha informado un rango de valores de TBARS de 0.6-2.0 mg MDA/kg como la cantidad mínima detectable para el sabor oxidado en carne picada por panelistas no entrenados (Greene y Cumuze, 1982).
- 6- Lanari y col. (1995) propusieron un límite de 0.50 mg MDA/kg para la aparición de sabores desagrables debido a la rancidez en carne de cerdo.
- 7- Según Valencia y col. (2007), que estudiaron el proceso de oxidación lipídica en embutidos fermentados, no observaron señales de deterioro para valores de TBARS inferiores a 0.20 mg MDA/kg. Estos autores destacaron la importancia del envasado al vacío para inhibir la oxidación de los lípidos.

Por lo tanto, según los resultados obtenidos, las formulaciones con BHA o 5 mg/100g de tocoferoles agregados arrojaron valores de TBARS que se ubicaron en concordancia con los umbrales sugeridos por los diversos estudios citados previamente. Se puede inferir que únicamente el nivel más alto de tocoferoles analizado resulta exitoso para evitar la oxidación lipídica, y entonces es posible su empleo como alternativa al antioxidante sintético (BHA) en este tipo de productos.

En cambio, un menor nivel de tocoferoles (2.5 mg/100g) en la formulación superó los límites de TBARS establecidos entre el inciso 4 y el 7 hacia el final del almacenamiento, evidenciando un incipiente proceso oxidativo a partir del día 34 del almacenamiento y la incapacidad de lograr la estabilidad oxidativa del sistema.

Estos resultados coinciden con lo informado por Kim y Choi (2012) quienes, trabajando en salchichas, utilizaron 670 y 1340 mg de tocoferoles/kg de producto obteniendo una reducción del número de TBARS y una mejor estabilidad del color del producto. También Aksu (2006) informó que la incorporación de 50 y 100 mg de tocoferoles/100g de un producto cárnico embutido cocido produjo una reducción en el índice de peróxidos, la acidez libre y el número de TBARS. Cáceres y col. (2008) reportaron un bajo nivel de oxidación lipídica (0.37 a 0.52 mg TBARS MDA/kg) durante la refrigeración de mortadela elaborada con aceite de pescado y caseinatos. Estos valores resultan similares a los obtenidos en este ensayo.

5.4.5.2. Análisis del perfil de ácidos grasos

En la Figura 5.18 se muestra, a modo de ejemplo, el análisis cromatográfico de los ácidos grasos derivatizados de la fase grasa obtenida a partir de salchichas conteniendo 0.5

mg/100g de BHA al inicio del almacenamiento. Los perfiles de ácidos grasos obtenidos para las formulaciones de salchichas con BHA (0.5 mg/100 g) o tocoferoles (5 mg/100 g) determinadas al inicio y fin (45 días) del almacenamiento se presentan en la Tabla 5.5. También se incluyó el perfil correspondiente al aceite utilizado en las formulaciones, informado por el productor (Omega Sur S.A., Mar del Plata, Argentina) y el de un producto tradicional conteniendo grasa vacuna según USDA (2013).

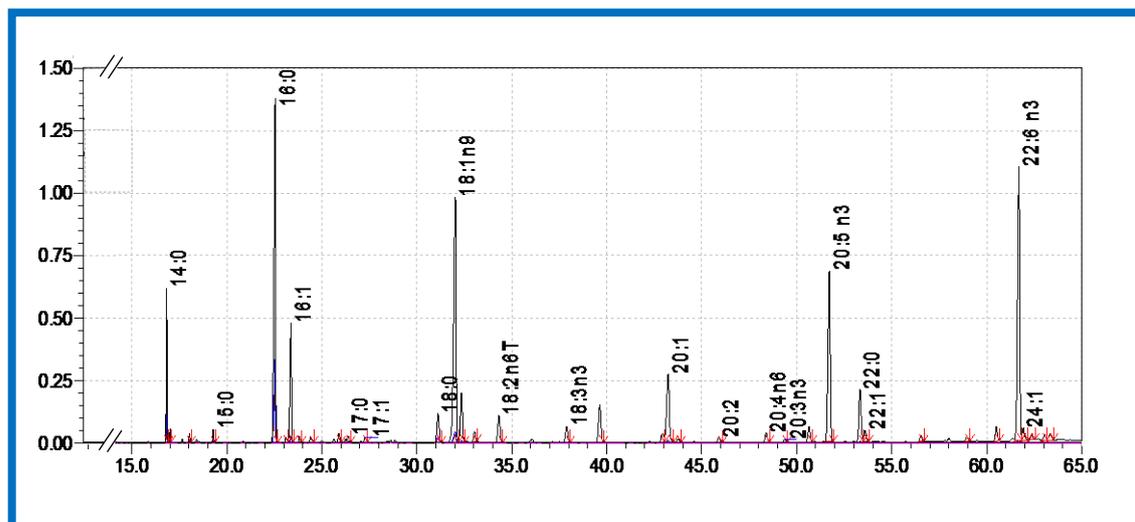


Figura 5.18. Señal de salida de la cromatografía de los ácidos grasos derivatizados de la fase grasa obtenida de salchichas conteniendo BHA al inicio del almacenamiento registrada con un detector de masa.

Puede observarse en la Figura 5.18 un conjunto de picos correspondientes a los distintos ácidos grasos (AG) presentes en la fase grasa del producto desarrollado. Las dos primeras señales más intensas corresponden a los AG 14:0 y 16:0, característicos de la grasa vacuna, pero que también son importantes en el aceite de pescado empleado en la formulación (Tabla 5.5). Por otra parte, se destacan con claridad los picos correspondientes a los AG 18:1n9 (oleico), 20:5n3 (EPA) y 22:6n3 (DHA), evidenciando el alto contenido de AG mono y poli-insaturados presentes en las salchichas, aportado exclusivamente por el aceite de origen marino utilizado. Por lo tanto, el perfil de ácidos grasos obtenido en los productos resulta similar al del aceite empleado en su elaboración. Por comparación del contenido y tipo de ácidos grasos del producto tradicional con los estudiados en este **Capítulo**, puede verse que el empleo de aceites de origen marino permite reducir un 20% del contenido de AGS e incrementar en un 30% el de AGPI, mejorando sensiblemente la calidad nutricional del producto.

Tabla 5.5. Perfil de ácidos grasos de: salchichas conteniendo BHA o tocoferoles (0.5 mg/100g y 5 mg/100g, respectivamente) al inicio y fin del almacenamiento, del aceite (AP) utilizado (según productor) y de un producto tradicional (PT) según USDA (2013).

| Ácido Graso* (g/100g del total de ácidos grasos) | Producto con BHA | | Producto con tocoferoles | | AP | PT |
|---|--------------------|-------------------|--------------------------|--------------------|--------------------|-------------------|
| | Inicial | Final | Inicial | Final | | |
| C 12:0 | nd | nd | nd | nd | nd | 2.70 |
| C 14:0 | 3.8 ^b | 4.2 ^b | 4.0 ^b | 4.0 ^b | 5.9 ^a | 4.4 ^b |
| C 15:0 | 0.4 ^a | 0.5 ^a | 0.4 ^a | 0.4 ^a | 0.4 ^a | nd |
| C 16:0 | 16.9 ^c | 18.1 ^b | 17.0 ^c | 17.2 ^c | 9.5 ^d | 20.6 ^a |
| C 16:1 | 5.2 ^b | 5.5 ^b | 5.2 ^b | 5.2 ^b | 6.1 ^a | 4.8 ^c |
| C 17:0 | 0.3 ^b | 0.3 ^b | 0.3 ^b | 0.3 ^b | 1.7 ^a | nd |
| C 17:1 | 0.2 ^b | 0.2 ^b | 0.2 ^b | 0.2 ^b | 1.1 ^a | 0.2 ^b |
| C 18:0 | 1.8 ^b | 1.8 ^b | 1.8 ^b | 1.9 ^b | 1.1 ^c | 22.1 ^a |
| C 18:1 | 17.1 ^b | 17.2 ^b | 16.6 ^b | 17.1 ^b | 15.8 ^c | 41.1 ^a |
| C 18:2 n-6 | 1.7 ^b | 1.8 ^b | 1.8 ^b | 1.8 ^b | 1.7 ^b | 3.3 ^a |
| C 18:3 n-3 (ALA) | 1.1 ^a | 1.1 ^a | 1.1 ^a | 1.1 ^a | 0.8 ^b | 0.4 ^c |
| C 18:4 n-3 | 2.8 ^a | 2.8 ^a | 2.7 ^a | 2.8 ^a | 2.3 ^b | nd |
| C 20:0 | 2.6 ^a | 2.7 ^a | 2.7 ^a | 2.7 ^a | nd | nd |
| C 20:1 | 5.2 ^a | 5.2 ^a | 5.3 ^a | 5.2 ^a | 5.6 ^a | 0.6 ^b |
| C20:2 | 0.3 ^a | nd | 0.3 ^a | 0.3 ^a | nd | nd |
| C 20:4 n-6 | 0.6 ^a | 0.4 ^b | 0.6 ^a | 0.4 ^b | 0.4 ^a | nd |
| C 20:5 n-3 (EPA) | 10.9 ^a | 9.9 ^b | 10.8 ^a | 9.8 ^b | 12.7 ^a | nd |
| C 22:0 | 3.5 ^a | 3.4 ^a | 3.6 ^a | 3.5 ^a | 3.8 ^a | nd |
| C 22:1 | 0.7 ^a | 0.7 ^a | 0.7 ^a | 0.8 ^a | 0.7 ^a | nd |
| C 22:4 n-6 | 0.4 ^b | 0.3 ^b | 0.4 ^b | 0.4 ^b | 0.6 ^a | nd |
| C 22:5 n-6 | 0.3 ^b | 0.3 ^b | 0.3 ^b | 0.3 ^b | 0.5 ^a | nd |
| C 22:5 n-3 | 0.9 ^a | 0.9 ^a | 0.9 ^a | 0.9 ^a | 0.9 ^a | nd |
| C 22:6 n-3 (DHA) | 17.0 ^b | 16.2 ^c | 16.9 ^b | 16.0 ^c | 18.6 ^a | nd |
| C 24:1 | 0.8 ^a | 0.7 ^a | 0.8 ^a | 0.7 ^a | 0.8 ^a | nd |
| AGS | 29.4 ^b | 31.0 ^b | 29.8 ^b | 30.1 ^b | 22.3 ^c | 49.8 ^a |
| AGMI | 29.2 ^b | 29.6 ^b | 28.8 ^b | 29.3 ^b | 30.2 ^b | 46.7 ^a |
| AGPI | 36.0 ^b | 33.7 ^c | 35.8 ^b | 33.8 ^c | 38.6 ^a | 3.7 ^d |
| n-3 | 32.7 ^b | 30.9 ^c | 32.4 ^b | 30.6 ^c | 35.4 ^a | 0.4 ^d |
| n-6 | 3.0 ^a | 2.8 ^a | 3.1 ^a | 2.9 ^a | 3.2 ^a | 3.3 ^a |
| n-6/n-3 | 0.092 ^a | .091 ^a | .095 ^a | 0.094 ^a | 0.090 ^a | 8.33 ^b |
| Indice de Aterogenicidad | 0.49 ^b | 0.55 ^b | 0.51 ^b | 0.53 ^b | 0.48 ^b | 0.81 ^a |
| Indice de Trombogenicidad | 0.17 ^b | 0.19 ^b | 0.17 ^b | 0.18 ^b | 0.12 ^c | 1.05 ^a |

*Medias en la misma fila (mismo ácido graso) con distinto supraíndice, presentan diferencias significativas (P < 0.05). nd = no detectado.

Los perfiles de ácidos grasos obtenidos de las fases grasas extraídas de los productos elaborados con aceite marino conteniendo BHA o tocoferoles mostraron leves alteraciones durante el almacenamiento refrigerado en condiciones de vacío, como puede observarse en la Tabla 5.5, evidenciando una ligera disminución, probablemente debido

al deterioro oxidativo en los AG C 20:4 n-6, C 20:5 n-3 y C 22:6 n-3; en particular EPA (del 9.2%) y DHA (menor del 5%) fueron los más afectados, disminuyendo en igual proporción para los dos antioxidantes estudiados. Estos ácidos grasos, que por su naturaleza resultan los más sensibles a este deterioro, mantuvieron elevados niveles al finalizar el almacenamiento.

La relación n-6/n-3 en los productos se mantuvo sin alteraciones a lo largo del período de almacenamiento, siendo unas 10 veces menor respecto a la relación observada en un producto tradicional con grasa vacuna. Esto es consecuencia del contenido de AGPI casi diez veces mayor y del menor contenido de AGS, en los productos con aceite marino respecto del tradicional, los cuales están asociados a diversos efectos benéficos para la salud y se encuadra dentro las recomendaciones de la OMS (OMS, 2008).

Estos resultados indican que tanto los tocoferoles como el BHA, en los niveles empleados, resultaron efectivos para evitar el deterioro oxidativo de los productos, coincidiendo con los bajos valores de número de TBARS reportados anteriormente. Por lo que estos antioxidantes resultan efectivos para prevenir las alteraciones oxidativas y asegurar la calidad del producto durante su período de vida útil. Considerando los efectos adversos que presenta la utilización de los antioxidantes sintéticos, el BHA puede ser reemplazado, entonces, por la mezcla de tocoferoles naturales para lograr la protección deseada.

Cabe destacar que en estas formulaciones estudiadas, más de un componente incorporado presenta actividad antioxidante. Así, los polifosfatos pueden quelar metales bivalentes como el Fe^{2+} , evitando su posible catálisis de la autoxidación lipídica, el eritorbato de sodio también presenta actividad antioxidante, y asimismo se ha reportado actividad antioxidante de las proteínas de suero lácteo en productos cárneos (Pennisi Forell y col., 2010). Dado que estos componentes con actividad antioxidante se encuentran en una igual proporción en todas las formulaciones estudiadas, las alteraciones en los perfiles lipídicos observadas en los distintos ensayos se atribuyen a la variación del antioxidante empleado en el aceite.

5.4.5.3. Evaluación del perfil lipídico y su impacto en la salud

Hay suficiente evidencia que indica que el tipo de grasa es más importante que la cantidad total para el riesgo de enfermedad cardiovascular. En este contexto, ecuaciones predictivas, como el índice de aterogenicidad (IA; Ec. 5.3) y de trombogénicidad (IT; Ec. 5.4), han sido utilizadas para estimar el efecto del perfil de ácidos grasos de los alimentos sobre el colesterol plasmático y la concentración lipoproteica (Ayo y col., 2007).

Si bien los perfiles de ácidos grasos obtenidos en los productos estudiados se encuentran dentro de las recomendaciones vigentes que indican elevados niveles de AGPI y bajos niveles de la relación AG n-6/n-3, se calcularon estos dos índices utilizando la composición de ácidos grasos de los productos para complementar la información obtenida y determinar el impacto potencial en la salud de sus consumidores. Se emplearon las siguientes ecuaciones:

$$IA = \frac{[C_{12:0} + 4 \cdot C_{14:0} + C_{16:0}]}{[AGPI_{n-6} + AGPI_{n-6} + AGMI]} \quad 5.3.$$

$$IT = \frac{[C_{12:0} + C_{14:0} + C_{16:0}]}{\left[\frac{1}{2}AGPI_{n-6} + 3 \cdot AGPI_{n-3} + \frac{1}{2}AGMI + \frac{AGPI_{n-3}}{AGPI_{n-6}} \right]} \quad 5.4.$$

Donde: AGMI, AGPI, $AGPI_{n-3}$, $AGPI_{n-6}$ corresponden a los parámetros informados en la Tabla 5.5. $C_{N:i}$ corresponde a los distintos ácidos grasos expresados en g/100g lípidos.

Estos índices, definidos por Ulbricht y Southgate (1991), tienen en cuenta las interacciones entre los diferentes ácidos grasos, permitiendo una evaluación integrada de los lípidos dietarios y su efecto en la salud coronaria. Valores de IA y IT superiores a la unidad (> 1) están asociados a un efecto perjudicial para la salud humana (Subhadra y col., 2006; Bobe, y col., 2004).

Los valores promedio de IA y IT para los productos elaborados con aceite marino fueron 0.52 y 0.18, respectivamente, sensiblemente menores respecto a los valores obtenidos para el producto tradicional elaborado con grasa vacuna. Ladeira y col. (2014) informaron valores similares de estos índices para productos con grasa de origen vacuno.

Asimismo, los índices evaluados no presentaron diferencias significativas con el tiempo de almacenamiento de los productos envasados al vacío y refrigerados, siendo similares para los dos antioxidantes estudiados.

Esto implica que un reemplazo de la grasa vacuna empleada tradicionalmente en la formulación de este tipo de productos por aceite de origen marino adicionada de BHA o tocoferoles, lograría productos que ingeridos tendrían un bajo riesgo de producir enfermedades coronarias.

5.5. Conclusiones del Capítulo

- Los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de los geles emulsionados cárnicos elaborados con aceite de pescado y fitoesteroles fueron adecuados durante todo el período de almacenamiento envasado al vacío a 4°C.
- La incorporación a la formulación de 5 mg/100g de tocoferoles naturales o 0.5 mg/100g de butilhidroxianisol previno la rancidez de los productos durante los 45 días de vida útil, como pudo comprobarse tanto mediante la determinación de los productos de oxidación lipídica (TBARS) como por el escaso cambio en el perfil de ácidos grasos.
- Se reemplazó exitosamente un antioxidante sintético (BHA) por un antioxidante natural (tocoferoles) para controlar la oxidación lipídica en estos productos.
- Los productos obtenidos presentaron un perfil de ácidos grasos con mayor cantidad de poli-insaturados n-3, principalmente EPA y DHA, respecto de un producto tradicional elaborado con grasa vacuna, por lo que se adecua más a las recomendaciones respecto a la ingesta lipídica, con índices de aterogenicidad y trombogenicidad inferiores, reflejando un menor riesgo de enfermedad cardiovascular asociado a su consumo.

CAPÍTULO 6

**Desarrollo de geles emulsionados cárnicos magros con
aceite de pescado y fitoesteroles, de contenido de sodio
reducido**

6.1. Introducción

6.1.1. Funcionalidad de las sales en los productos cárnicos

La sal de mesa (NaCl) ha sido utilizada desde la antigüedad para la conservación de productos cárnicos y es uno de los ingredientes más utilizados en este tipo de productos. En la industria moderna de la carne, la sal se utiliza como saborizante o como potenciador del sabor y también tiene un efecto deseado sobre las propiedades texturales de los productos cárnicos procesados (Desmond, 2006). La sal imparte un número de propiedades funcionales a estos productos: aumenta la hidratación y capacidad de retención de agua de las proteínas y disminuye la actividad acuosa a_w . Esto impacta de manera significativa sobre la vida útil de los productos alimenticios, logrando ejercer un efecto bacteriostático. Además aumenta las propiedades de unión de las proteínas siendo este un factor que influye en la textura y aumentando la viscosidad de las pastas cárnicas, lo que estabiliza a la fase grasa emulsionada.

La capacidad de la carne y de los productos cárnicos para retener agua antes, durante y después del procesado o 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 (Xiong, 1997; Trout 1998).

En la formulación de productos cárnicos donde se incorpora NaCl, las fibras musculares y las proteínas sufren cambios estructurales debido a la interacción electrostática entre las mismas y los iones cloruro y sodio. El efecto de la sal sobre la cantidad de agua retenida en los productos cárnicos 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 (Ruusunen y Puolanne, 2005), y por consecuencia se produce una repulsión entre las proteínas miofibrilares (miofilamentos), lo que resulta en un hinchamiento de las miofibrillas o incluso una solubilización parcial de los filamentos, esto último debido a la repulsiones de moléculas individuales (Hamm, 1972). Los puentes cruzados entre los filamentos (actomiosina y línea Z) no permiten la hinchazón ilimitada de las miofibrillas.

A través de los grupos polares de las cadenas laterales de los aminoácidos (aprox. 76-80%) las proteínas ligan las moléculas de agua. Luego se forman capas sucesivas a ésta, denominada capa monomolecular, con orientaciones similares. Por lo tanto, todas las moléculas de agua son más o menos influenciadas por las fuerzas de atracción causadas por los grupos polares de las proteínas. Por el contrario, las cadenas laterales no polares de los aminoácidos empujan las moléculas polares del agua que originan una estructura arqueada alrededor del grupo no polar. El efecto combinado es que las moléculas de

agua se atraen (grupos polares) y son empujadas (grupos no polares) entre los filamentos.

La cantidad de agua ligada está determinada por la carga neta de las proteínas causando repulsión entre las mismas, lo que aumenta la unión y por el número y la fuerza de los puentes que limitan la unión de moléculas de agua (Ruusunen y Puolanne, 2005).

Offer y Knight (1988) propusieron una hipótesis distinta a la mencionada previamente. Estos autores afirman que no se produce una repulsión entre los filamentos sino entre las moléculas de filamentos de miosina, causando una desestructuración de la red.

Además el efecto del NaCl sobre las miofibrillas depende de la concentración. Se pueden distinguir dos efectos opuestos: “salting-in” y “salting-out”. En la Figura 6.1, se esquematiza el efecto de la fuerza iónica sobre la solubilidad de las proteínas.

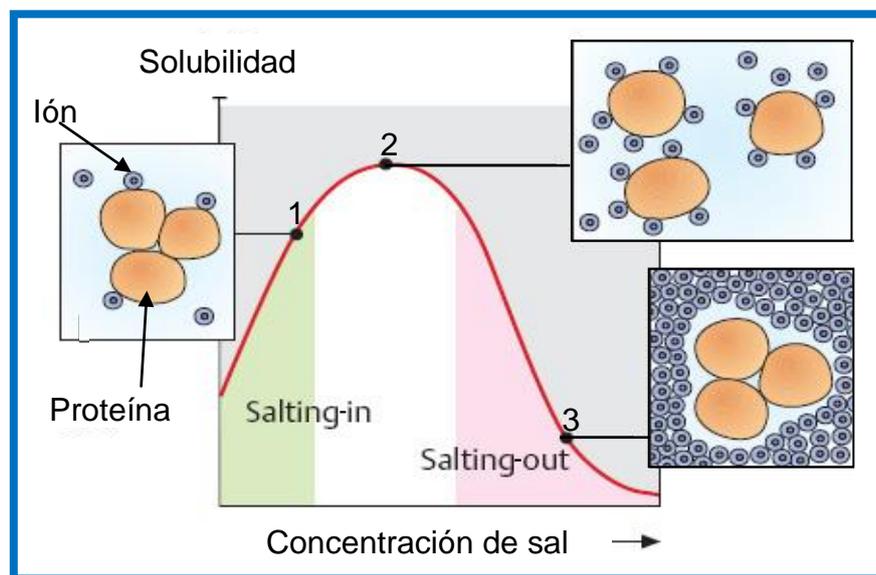


Figura 6.1. Efecto de la concentración de sal sobre la solubilidad de las proteínas.

A bajas concentraciones de NaCl (1) se produce el hinchamiento de las miofibrillas causada por la repulsión entre los filamentos, la despolimerización de los miofilamentos, en especial de los filamentos gruesos y la disociación de la actina de la miosina o actomiosina en la estructura miofibrilar, conduciendo a la solubilización de miosina, actina y el complejo actomiosina y otras miofibrillas constituyentes. En estos niveles poco salinos, la solubilidad de las proteínas aumenta al incrementar la concentración de sales. Este efecto se conoce como “salting-in” y se explica mediante las leyes de Debye-Hückel. Al aumentar la fuerza iónica del medio (2), los iones rodean a las proteínas, interaccionando con sus grupos ionizables, evitando así que se establezcan interacciones atractivas entre las cadenas laterales o extremos cargados de las proteínas, evitando así

la aglomeración de las proteínas. A valores muy elevados de concentración de iones en el medio (3), las proteínas se solvatan mucho menos eficientemente, ya que se produce una “competencia” por el agua entre los iones y las proteínas. Este efecto favorece las interacciones proteína-proteína frente a las interacciones proteína-agua, ocurriendo la precipitación según aumente la fuerza iónica del medio (“salting-out”).

Así, Xiong y col. (2000) atribuyeron el incremento del agua ligada y la hidratación de las fibras musculares de la carne sometida a salado al aumento de la repulsión electrostática entre los filamentos de las miofibrillas, lo que produjo 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 (< 35 mg NaCl/g carne), mientras que a concentraciones mayores (superiores a 60mg/g carne) 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.

Graiver (2006) estudió el efecto de la concentración de NaCl sobre tejido cárneo porcino. Entre 3.7 y 149 mg NaCl/g carne la capacidad de retención de agua se vio incrementada con un máximo cerca de los 65 mg NaCl/g carne. Superando estos valores se registró una pérdida de agua. Similares resultados fueron encontrados por Varnam (1995) y Thorarinsdottir (2002) quienes encontraron que cuando la carne porcina y de pescado se colocaba en contacto con una solución aproximadamente 58 g/L (1 M) de NaCl alcanzaba el estado de máxima imbibición y con ello la cantidad de agua en el tejido era máxima. Si se continuaba agregando sal, disminuía el volumen de la carne y el agua retenida, llegándose a un estado en el cual la carne en conjunto no solo dejaba de fijar agua, sino que incluso perdía la propia. Knight y Parsons (1988) 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 1 M (58.5 g/L), pero se produjo pérdida de agua por arriba de 260 g/L.

Para elaborar estos productos es necesario que las proteínas cárnicas formen una estructura tipo gel, y que se estabilicen los glóbulos lipídicos emulsionados. Para que este proceso se lleve a cabo de manera eficiente es necesario solubilizar la mayor cantidad de proteínas miofibrilares para que contribuyan a esta estructura. La solubilización de las proteínas es esencial para la emulsificación, la gelación y la retención de agua (Xiong 1994). El proceso de activación (adición de la sal y agitación mecánica), favorece la solubilidad de las proteínas musculares.

Paralelamente, los polifosfatos son sales del ácido fosfórico y son muy utilizados en la industria alimentaria. El tripolifosfato sódico (TPP) es el compuesto más frecuentemente empleado en carnes, pollos y pescados procesados. Cumplen diferentes funciones, dependiendo del producto donde se aplique. Particularmente en los cárnicos se puede mencionar:

- Contribuye junto a la sal a la solubilización de las proteínas miofibrilares y por consiguiente a una mayor capacidad de ligar agua por parte del producto y de emulsificar la fase grasa a agregar.
- Como polielectrolitos, aumentan la fuerza iónica del sistema, provocando una mayor capacidad de retención de agua
- Rompen los enlaces cruzados y fuerzas electrostáticas que mantienen al complejo actomiosina unido, debilitando la estructura miofibrilar, contribuyendo en gran medida con la solubilidad de las proteínas, aumentando la capacidad de retención de agua (Ruusunen y Puolanne, 2005). Solo los fosfatos pueden separar a la actina de la miosina tras el rigor mortis, esta la principal razón de su uso.
- Los fosfatos pueden unir metales bivalentes, disminuyendo la velocidad de la oxidación lipídica.

La funcionalidad de los fosfatos está afectada por la adición de sal, y ambos aditivos actúan sinérgicamente.

6.1.2. Consumo de sodio y sus efectos adversos en la salud

La carne y los productos cárnicos procesados contribuyen en un 16 - 25% al total del consumo diario de cloruro de sodio. Son, por lo tanto, la segunda fuente más importante de sodio en la dieta luego del pan (Weiss y col. 2010). El cloruro de sodio es uno de los ingredientes más antiguos y más familiar de los alimentos conocidos por el hombre. La sal es especialmente importante en las carnes procesadas, contribuyendo a su calidad y características deseables de seguridad alimentaria (Man, 2007). El papel de la sal en los productos cárnicos elaborados se puede colocar en tres grandes categorías: las características de procesamiento, preservación, y los atributos sensoriales (Hutton, 2002; Rust, 1987). Sin embargo, a pesar de la importancia de la sal en la producción de alimentos de alta calidad y seguridad, ha habido un gran interés en la reducción de la ingesta de sodio en la dieta humana. Los esfuerzos de reducción de sodio se derivan de los informes de que su consumo excesivo tiene la propensión a conducir a la hipertensión y las enfermedades cardiovasculares, entre otras.

Las enfermedades no transmisibles son la principal causa de muerte a nivel mundial (OMS, 2010). La hipertensión es factor de riesgo para las enfermedades cardiovasculares

y se estima que contribuye en un 49% a todas las enfermedades coronarias y en un 62% a todos los accidentes cardiovasculares (Mackay y Mensah, 2004). Una mayor ingesta de sodio también se ha asociado con enfermedades cardiovasculares (Strazzullo y col., 2009). Hay una relación directa entre el aumento del consumo de sodio y posterior riesgo de enfermedades cardiovasculares (Strazzullo y col., 2009; Taylor y col., 2011). La hipertensión afecta actualmente a casi la mitad de los adultos de todo el mundo, encontrándose entre los problemas de salud pública más importantes a nivel mundial; por ello se requieren con urgencia renovados esfuerzos (incluyendo enfoques no farmacológicos) para hacer frente a esta importante carga para la salud pública. El aumento del consumo de sodio está asociado con un aumento de la presión arterial, mientras que la reducción del consumo de sodio disminuye la presión sanguínea (Cutler y col., 1997; He y col., 2003, 2004; OMS, 2003). Sin embargo algunos estudios se muestran contradictorios, reflejando que la reducción de sodio en la dieta resultaría beneficiosa únicamente para los consumidores definidos como “sal-susceptibles”, ya que la respuesta presora a la sobrecarga de sal varía de manera notable entre los individuos. (Bragulat Baur y de la Sierra Iserte, 2000). La hipertensión arterial sensible a sal se define como el incremento en la presión arterial media mayor de 10 mmHg al ingerir una dieta alta en sodio después de recibir una dosis de diurético y dieta hiposódica (Rodríguez Castellanos, 2006). Esta sería la fracción de la población que se vería favorecida con una dieta restrictiva en sodio.

Más allá de este aspecto, Appel y col., (1993) informaron que una dieta alta en sal puede tener consecuencias nocivas directas en la salud por elevar los riesgos de accidente cerebrovascular, hipertrofia ventricular izquierda y enfermedad renal.

Varios estudios recientes llegaron a la conclusión de que la reducción de la ingesta de sodio disminuye la presión sanguínea en adultos con o sin hipertensión (He y col., 2004; Dickinson y col., 2006; Strazzullo y col., 2009; Dietary Guidelines Advisory Committee, 2010; Graudal y col., 2010). Por otra parte, algunos los investigadores han expresado preocupación de que la reducción de la ingesta de sodio también puede dar lugar a efectos adversos en la salud tales como cambios no deseados en la composición de los lípidos en sangre, cambios en los niveles de catecolaminas y en las funciones renales (Graudal y col., 2010; Alderman, 2010; Alderman y Cohen 2012).

Las recomendaciones de la Asociación Americana del Corazón (AHA, 2010) indican que es deseable un consumo menor a los 1500 mg de Na⁺/día para adultos, esto corresponde a aproximadamente 5 g NaCl/día. En Argentina el consumo medio de sal asciende a valores entre 10 y 12 g/día según la Organización Panamericana de la Salud (OPS,

2011). Incentivar la disminución del agregado de sal en los hogares no alcanza ya que más del 60% de la sal consumida proviene de alimentos procesados.

El sodio es un nutriente esencial necesario para el mantenimiento del volumen de plasma, el equilibrio ácido-base, la transmisión de los impulsos nerviosos, y normal funcionamiento de las células (Holbrook y col., 1984; Taal y col., 2011). La ingesta diaria mínima requerida está estimada en 200 a 500 mg (Holbrook y col., 1984; He y MacGregor, 2009). Sin embargo, el consumo promedio de sodio se encuentra muy por encima de las necesidades fisiológicas, y en muchos países es mayor que 2 g/día (equivalente a 5 g NaCl/día), valor también recomendado por la FAO-OMS (OMS, 2003, 2007; Brown y col., 2009).

Muchos componentes de la dieta contienen sodio y el contexto cultural y los hábitos dietéticos determinan los principales contribuyentes de sodio a una población (Brown y col., 2009; Anderson y col., 2010). Además de ser el principal componente en la sal de mesa común, el sodio se encuentra naturalmente en alimentos como la leche, la carne y los mariscos. Muchos alimentos procesados como el pan, galletas, carnes y snacks a menudo contienen grandes cantidades agregadas de sodio. Así, una dieta rica en alimentos procesados y pobre en frutas y verduras es generalmente alta en sodio, poniendo a las personas en riesgo de tener presión arterial elevada.

6.1.3. Alternativas para reducir el contenido de sodio en productos cárnicos

En la Argentina los Ministerios de Salud, Agricultura, Desarrollo y Ciencia con el objetivo de disminuir el excesivo consumo de NaCl de la población en su conjunto para reducir la importante carga sanitaria que representan las enfermedades cardiovasculares, cerebrovasculares y renales, establecieron un acuerdo (“Menos sal más vida”, Ministerio de Salud, 2011b) al cual han adherido diversas cámaras de productores. El objetivo final es reducir el consumo de Na⁺ a 5 g/día para el año 2020. La reducción sería gradual, en la primera etapa se busca, en un plazo de 2 años, una reducción entre el 5 y 18% del contenido de sodio de diversos productos alimentarios de cuatro categorías: 1-Carnes y fiambres, 2-Lácteos, 3-Panificados y galletitas, 4-Sopas y conservas.

La reducción de NaCl en la formulación de productos cárneos emulsionados gelificados implica varios riesgos, entre ellos, el producto final puede tener defectos de calidad tales como la textura, y sería necesario aumentar la cantidad de conservantes con el fin de asegurar la estabilidad microbiológica (Aliño y col., 2009). La grasa y sal conjuntamente contribuyen con las propiedades sensoriales de estos productos, por lo que su simultánea reducción representa un desafío tecnológico.

Aunque varios estudios de investigación han examinado la reducción y sustitución de sodio en las carnes procesadas, todavía hay una necesidad de desarrollar nuevos enfoques para reducir el sodio sin sacrificar la seguridad y la calidad del producto (McGough y col., 2012). Es especialmente importante encontrar métodos que mantengan eficazmente el sabor salado, asociado tradicionalmente con las carnes procesadas, sin introducir sabores no tradicionales, que a menudo se asocian con una disminución en la aceptación del consumidor (Sofos, 1983).

Los fosfatos, son usados tradicionalmente en alimentos cárnicos procesados para aumentar la capacidad de retención de agua y mejorar el rendimiento. Aunque generalmente los fosfatos son sales de sodio, su aporte de este catión a la ingesta representa una cantidad relativamente baja.

Varios estudios han demostrado que los fosfatos pueden ser utilizados para reducir la sal en productos cárnicos. Puolanne y Terrell (1983) emplearon TPP en la formulación de salchichas reportando que fue efectivo el empleo de esta sal para reducir el contenido de NaCl sin que ocurran detrimentos en la calidad del producto. Trout y Schmidt (1984) Lograron formular un producto cárnico empleando diversos fosfatos como sustituto parcial del NaCl encontrando que los monofosfatos y los tripolifosfatos fueron los más efectivos para incrementar los parámetros de calidad de estos productos. Barbut y col. (1988) estudiaron el efecto de diversos polifosfatos sobre formulaciones de salchichas de pavo con un contenido reducido en NaCl encontrando que el TPP fue el que produjo las mejores características sensoriales y de calidad.

Se han empleado otros componentes para reducir el contenido de NaCl en productos cárnicos. Selman y col. (1980) emplearon $MgCl_2$ en combinación con NaCl en mortadela obteniendo indicadores de calidad aceptables pero con algunos efectos adversos en el flavor. También se ha estudiado una combinación de $CaCl_2$, $MgCl_2$ y KCl en productos cárnicos fermentados obteniendo diferencias apreciables en la textura (Gimeno, 1999). Horita y col. (2011) estudiaron el efecto de la combinación de estas tres sales en formulaciones de mortadela magras, obteniendo una reducción en la estabilidad de la emulsión con el agregado de $CaCl_2$ y parámetros sensoriales inferiores con la incorporación de $MgCl_2$ y $CaCl_2$.

El cloruro de potasio es probablemente el sustituto del NaCl más comúnmente utilizado en productos cárnicos reducidos en sodio (Gelabert y col., 2003, Ibáñez y col., 1995, 1996, 1997, Riera y col., 1996; Ruusunen y Puolanne, 2005; Desmond, 2006). Sin embargo, en ciertos niveles, el KCl incrementa el gusto amargo y la pérdida del salado, y, por otro lado, un consumo excesivo puede ser perjudicial para algunas patologías preexistentes (diabetes I, insuficiencia renal crónica).

Gou y col. (1996) observaron que el color de embutidos fermentados no se vio afectado por la sustitución de NaCl con KCl. Aliño y col. (2009) sustituyeron alrededor de 70% de NaCl por KCl en lomos curados españoles y no observaron diferencias significativas en la actividad de agua, contenidos de cloruro y agua, color y recuentos microbianos, pero aumentó significativamente la dureza y masticabilidad.

Por otra parte, Gelabert y col. (2003) formularon salchichas fermentadas con un reemplazo parcial de NaCl por una combinación de KCl, lactato de potasio y glicina, obteniendo importantes diferencias en parámetros texturales y sensoriales cuando el reemplazo fue mayor al 40%.

6.2. Objetivos específicos del Capítulo

1. Estudiar el efecto del reemplazo de sales de sodio por potasio sobre las características de calidad de emulsiones cárnicas cocidas, formuladas con fitoesteroles y ácidos grasos poli-insaturados, utilizando un diseño de mezclas de tres componentes (NaCl, tripolifosfato sódico y KCl).
2. Estudiar el efecto del reemplazo de sodio por potasio en las propiedades térmicas y termo-reológicas de las pastas crudas.
3. Encontrar la combinación óptima de cloruro de sodio, cloruro de potasio y tripolifosfato de sodio para obtener un producto de calidad similar al optimizado en el **Capítulo 4**.
4. Validar la formulación optimizada reducida en sodio elaborando el producto, determinando sus parámetros de calidad y comparando los resultados obtenidos con los valores predichos por los modelos matemáticos.

6.3. Materiales y Métodos

Los materiales empleados en este **Capítulo** fueron previamente descritos en la sección **3.3.1**. El KCl empleado fue de grado analítico (Anedra, Argentina). El aceite empleado en este ensayo fue provisto por OmegaSur S.A. (Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina) y consistió de un lote de aceite de raya refinado y deodorizado conteniendo 1000 ppm de mezcla de tocoferoles como antioxidantes agregados por el productor.

6.3.1. Diseño Experimental

A fin de disminuir el contenido de sodio del producto optimizado previamente se realizó un estudio sobre formulaciones conteniendo diferentes combinaciones de las sales que aportan la mayor proporción de dicho catión (NaCl y TPP), reemplazándolas parcialmente

por cloruro de potasio (KCl). Para este análisis se empleó un diseño de mezclas de 3 componentes.

6.3.1.1. Diseño de mezclas

Cuando los factores experimentales a ser estudiados son ingredientes o componentes de una mezcla, la función de la respuesta depende de las proporciones relativas de cada componente, no de la cantidad absoluta. Puesto que las proporciones deben sumar una cantidad fija, generalmente un 100%, los factores no se pueden variar independientemente uno del otro. Consecuentemente, los diseños normalmente usados para investigación y optimización no se pueden aplicar directamente, ni el espacio de coordenadas rectangular es la representación más deseable de la región experimental (Cornell y col., 2008). Los factores del diseño son los componentes de la mezcla y las respuestas observadas son función de la proporción de dichos componentes. Los niveles de los factores son las proporciones de los ingredientes.

Si X_1, X_2, \dots, X_k son las variables que representan las proporciones de los k componentes de la mezcla, los valores de x , estarán restringidos de la siguiente manera:

$$\sum_{i=1}^k X_i = X_1 + X_2 + X_3 \dots + X_k = 1 \quad 6.1$$

$$0 \leq X_i \leq 1 \quad \text{con } i = 1, 2, \dots, k$$

El arreglo formado por una distribución uniforme de coordenadas de diseño en un sistema simplex se conoce como lattice o retícula. Este tipo de diseño posee una malla de coordenadas construidas de manera que permiten estimar las ecuaciones polinomiales de la superficie de respuesta.

6.3.1.2. Región de operabilidad y restricciones aplicadas

Se definió la región de operabilidad de manera que la suma del contenido de las tres sales (NaCl, KCl y TPP) fuera igual a 1.6 g/100g producto crudo, También se impusieron al diseño otras restricciones, las que se muestran en la Tabla 6.1.

El máximo de 0.7 g/100g de KCl se estableció según lo informado por Desmond (2006) quien consideró que un reemplazo superior al 50% de NaCl por KCl conducía a un sabor desagradable del producto. El nivel máximo de TPP fue propuesto teniendo en cuenta lo informado por Liu y col. (1992).

Tabla 6.1. Restricciones aplicadas a las variables del diseño experimental

| Componente | Valor mínimo (g/100g) | Valor máximo (g/100g) |
|--------------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| NaCl | 0.5 | 1.4 |
| KCl | 0 | 0.7 |
| TPP | 0 | 0.5 |
| NaCl + KCl + TPP = 1.6 g/100g | | |

Con el software estadístico Expert Design (trial versión 7.1.6, Stat-Ease Inc., Minneapolis, EE.UU.) se obtuvo un diseño con 11 formulaciones distintas, con las restricciones mencionadas anteriormente. Dicho diseño se muestra en la Figura 6.2 donde puede apreciarse la distribución espacial de los puntos y en la Tabla 6.2 se informan los valores de los distintos niveles de las sales de manera porcentual y codificada.

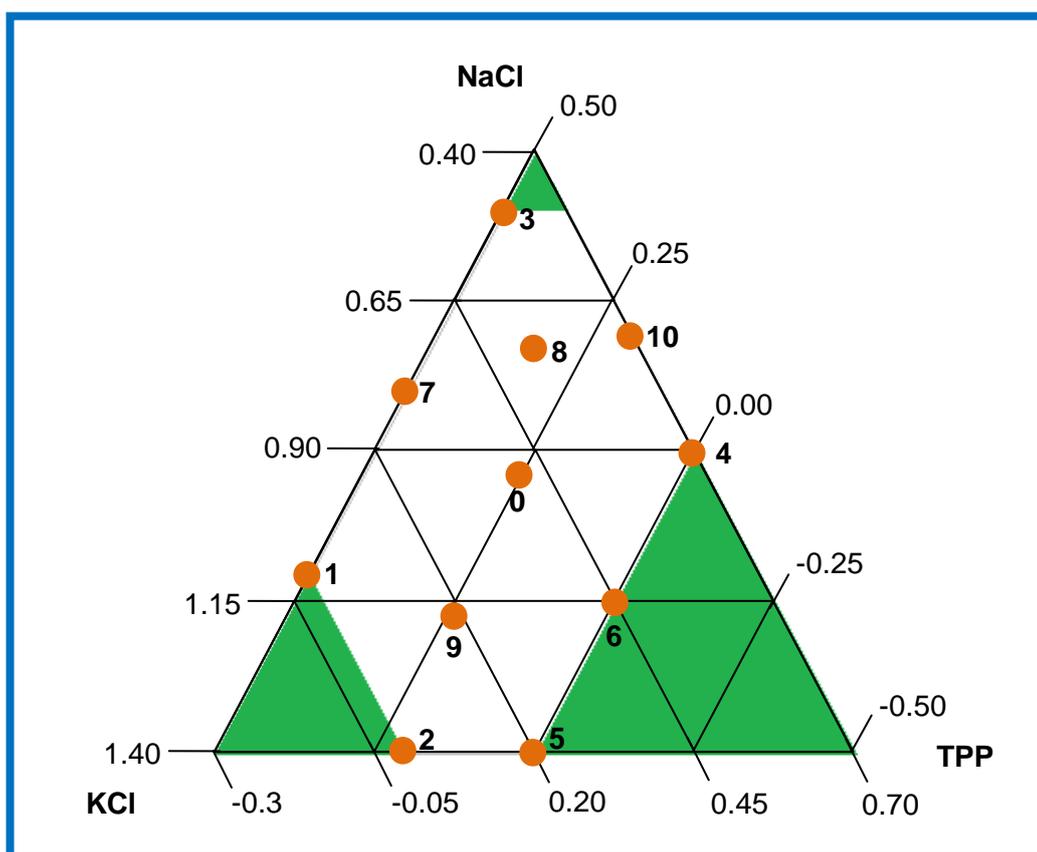


Figura 6.2. Distribución de las combinaciones de sales analizadas según el diseño de mezclas de tres componentes.

La formulación 0 correspondiente al centro del diseño, fue repetida 3 veces. A su vez la formulación 2 (1.4 g/100g NaCl y 0.2 g/100g TPP, sin KCl) corresponde a la formulación optimizada en el **Capítulo 4**.

Tabla 6.2. Valores porcentuales y codificados para las diferentes sales según el diseño empleado para el ensayo de reducción de sodio.

| Formulación | Valores porcentuales (g/100g) | | | Valores Codificados | | |
|-------------|-------------------------------|-------|-------|---------------------|-------|-------|
| | NaCl | KCl | TPP | NaCl | KCl | TPP |
| 0 | 0.966 | 0.366 | 0.266 | 0.604 | 0.229 | 0.167 |
| 1 | 1.1 | 0 | 0.5 | 0.688 | 0.000 | 0.313 |
| 2 | 1.4 | 0 | 0.2 | 0.875 | 0.000 | 0.125 |
| 3 | 0.5 | 0.6 | 0.5 | 0.313 | 0.375 | 0.313 |
| 4 | 0.9 | 0.7 | 0 | 0.563 | 0.438 | 0.000 |
| 5 | 1.4 | 0.2 | 0 | 0.875 | 0.125 | 0.000 |
| 6 | 1.15 | 0.45 | 0 | 0.719 | 0.281 | 0.000 |
| 7 | 0.8 | 0.3 | 0.5 | 0.500 | 0.188 | 0.313 |
| 8 | 0.733 | 0.533 | 0.333 | 0.458 | 0.333 | 0.208 |
| 9 | 1.183 | 0.183 | 0.233 | 0.740 | 0.115 | 0.146 |
| 10 | 0.7 | 0.7 | 0.2 | 0.438 | 0.438 | 0.125 |

La formulación base sobre la cual se estudió la variación de las tres sales se detalla en la Tabla 6.3, que se muestra a continuación.

Tabla 6.3. Formulación base empleada en el ensayo de reducción del nivel de sodio

| Componente | g/100g producto crudo |
|---------------------------|-----------------------|
| Carne (nalga) | 66.66 |
| Agua destilada | 25.00 |
| Aceite de pescado | 5.00 |
| Sales (NaCl + KCl + TPP)* | 1.6 |
| κ /i-Carragenanos | 0.593 |
| Fitoesteroles | 0.5 |
| Proteínas de Leche | 0.320 |
| Pimienta | 0.20 |
| Nuez moscada | 0.05 |
| Glutamato monosódico | 0.02 |
| Eritorbato de sodio | 0.045 |
| NaNO ₂ | 0.015 |
| Colorante | 0.0032 |

*Según Tabla 6.2

6.3.2. Elaboración de los productos

Para la elaboración de las muestras se siguió el protocolo descrito en **3.3.2**. En este caso, tanto los carragenanos como las proteínas de leche se incorporaron juntos en la emulsión aceite de pescado/agua.

6.3.3. Caracterización y determinación de los parámetros de calidad de los productos reducidos en sodio

Sobre las formulaciones cárnicas crudas preparadas con diferente combinación de sales según diseño se realizaron las siguientes observaciones:

- Calorimetría diferencial de barrido modulado (MDSC) según el procedimiento descrito en **3.3.5.3**.
- Ensayos termo-reológicos.

Luego de tratar térmicamente los productos conteniendo las diferentes combinaciones de sales se determinaron:

- Rendimiento, según lo descrito en **3.3.4.1**.
- Análisis de perfil de textura (TPA), según lo descrito en **3.3.4.3**.
- Color según lo descrito en **3.3.4.4**.

Sobre la formulación optimizada (2) y la optimizada reducida en sodio se hicieron las siguientes determinaciones:

- Observación de la estructura por microscopía.
- Cuantificación de sodio y potasio.
- Análisis sensorial.

6.3.3.1. Ensayos termo-reológicos

a) Determinación del rango de viscoelasticidad lineal

Se realizaron ensayos de barrido de temperatura sobre las emulsiones cárnicas crudas de las diferentes formulaciones estudiadas. Inicialmente se determinó el RVL de cada muestra a 20°C, 50°C y 75°C, empleando los parámetros de corrida descritos en **3.3.5.1.b)**, prolongando, el tiempo de estabilización térmica de la muestra cuando se trabajó a 50°C y 75°C.

b) Ensayos oscilatorios con barrido de temperatura

Para realizar los ensayos termo-reológicos sobre las formulaciones crudas se empleó un reómetro de esfuerzo controlado Haake RS600 (ThermoElectron, Alemania) empleando una geometría de platos paralelos rugosos de 35 mm de diámetro (sensor PP35S) y una

placa calefactora Peltier (Haake, Alemania). La frecuencia del ensayo se fijó en 1 Hz (6.28 rad/s) y el esfuerzo en 20 Pa. En la Figura 6.3 se muestra la historia térmica de estos ensayos.

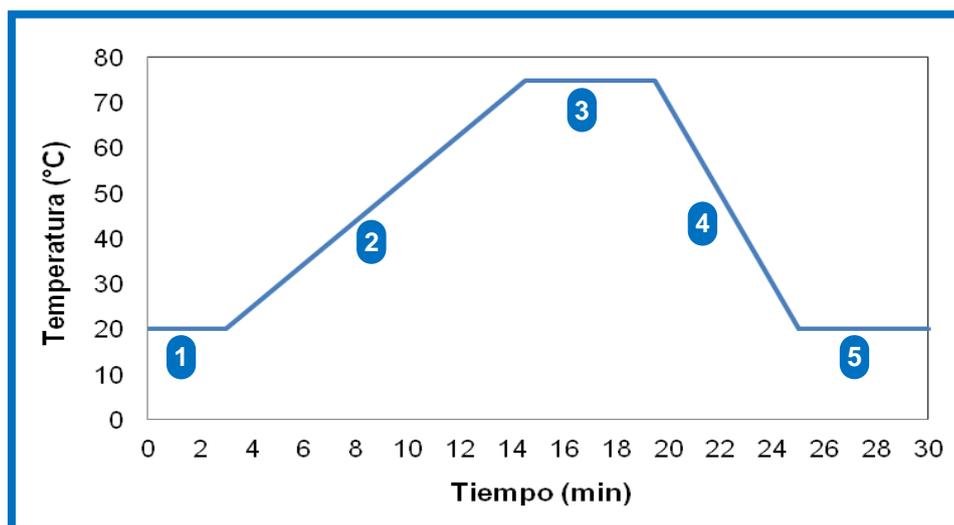


Figura 6.3. Historia térmica de los ensayos oscilatorios con barrido de temperatura.

Se comenzó equilibrando la temperatura a 20°C durante 3 min (1, etapa isotérmica), posteriormente se incrementó de 20 a 75°C con una velocidad de calentamiento de 4.8°C/min (2). La velocidad en esta etapa se fijó para que resulte coincidente con la experimentada durante el tratamiento térmico de los productos durante su elaboración. Luego se mantuvo la temperatura por un lapso de 5 min a 75°C (3) y seguidamente se enfrió hasta 20°C rápidamente, a 10°C/min (4). Finalmente se realizó una etapa isotérmica a 20°C durante 5 min más (5).

Los cambios en el módulo de almacenamiento, G' , el módulo de pérdida, G'' , y la tangente de pérdida, $\tan \delta$, fueron monitoreados durante todo el proceso. Se realizaron 3 repeticiones por formulación.

Para la determinación de la temperatura de transición del módulo elástico G' se empleó la metodología empleada por Moros y col. (2002), analizando la dependencia del módulo elástico con la temperatura en una ecuación tipo Arrhenius ($\log 1/G'$ vs. $1/T(K)$). Los cambios en la pendiente fueron asociados a las transiciones térmicas de las pastas durante el tratamiento térmico.

6.3.3.2. Observación de la estructura por microscopía

Se emplearon técnicas de visualización microscópica para estudiar las posibles interacciones entre las proteínas cárnicas, lácteas y las cadenas de carragenanos que

dan lugar a la microestructura de los geles cárnicos emulsionados empleando un microscopio electrónico de barrido (FEI-Quanta 200, Hillsboro, Oregon, EE.UU.).

Se tomaron pequeños trozos del centro de las salchichas de aproximadamente 0.5 cm de diámetro, 0.2 cm de alto y 0.3 cm de espesor.

Se observaron las muestras empleando dos modos:

- microscopía electrónica de barrido ambiental (ESEM): técnica microscópica que permite la observación de gel en su estado natural, sin ningún tratamiento previo.
- microscopía electrónica de barrido (SEM): las muestras previamente fijadas con solución de Carnoy (60% v/v etanol, 30% v/v cloroformo, 10% v/v ácido acético glacial) a 4°C durante 24h, fueron deshidratadas con soluciones de etanol de concentración creciente (Etanol 70% v/v, 12 h; Etanol, 95% v/v dos ciclos de 2h; Etanol, 100% v/v dos ciclos de 2 h), montadas en soportes de aluminio utilizando una cinta adhesiva de doble contacto, y luego recubiertas con una capa de oro (40-50 nm) al vacío por pulverización catódica o “sputtering”, permitiendo la visualización de la superficie y sección transversal de las mismas.

Se observaron numerosas zonas de cada muestra y se obtuvieron varias micrografías para cada formulación, de las cuales se presentan las más representativas de la microestructura.

6.3.3.3. Cuantificación de sodio y potasio por fotometría de llama

Para realizar este ensayo se empleó un fotómetro de llama (Corning FP-210, Reino Unido). La temperatura de la llama fue de 600°C, el combustible empleado fue metano y el comburente oxígeno. Los reactivos empleados fueron de grado analítico. El agua empleada fue doblemente destilada y deionizada MiliQ, y los recipientes contenedores de las soluciones fueron de polipropileno. Para la determinación de Na se empleó una longitud de onda $\lambda = 589$ nm y para el K se empleó $\lambda = 404.4$ nm.

Las cenizas obtenidas a partir de los productos cocidos (según **3.3.3.4**) se disolvieron en HNO₃ (calidad cromatográfica, Merck, EE.UU.) y se llevaron a volumen con agua deionizada MiliQ, realizando las diluciones necesarias. Para realizar las curvas de calibración respectivas para Na y K se emplearon NaCl y KCl de grado analítico y agua MiliQ, trabajando en rangos de concentraciones entre 0 - 25 ppm para Na y 0 - 15 ppm para K.

Se seleccionaron para esta determinación las muestras 2, 7 y 10, y la formulación optimizada reducida en sodio. Cada medición se realizó por duplicado.

6.3.3.4. Ensayo de aceptabilidad por consumidores de las formulaciones optimizadas

Con el fin de determinar si el reemplazo parcial de sodio por potasio en el producto afectaba los atributos sensoriales respecto a la formulación no sustituida se prepararon salchichas utilizando tres formulaciones distintas:

1. La formulación denominada optimizada-Na, conteniendo aceite de pescado (5 g/100g), cloruro de sodio (1.4 g/100g) y tripolifosfato de sodio (0.2 g/100g), correspondiente a la predicha en el **Capítulo 4** (formulación 2 del presente **Capítulo**).
2. La formulación optimizada reducida en sodio, denominada optimizada-Na/K conteniendo aceite de pescado (5 g/100g) y la combinación de cloruro de sodio, cloruro de potasio y tripolifosfato sódico que resultó óptima en el presente **Capítulo**.
3. Por último una formulación similar a la optimizada-Na, pero donde se reemplazó el aceite de origen marino por aceite de girasol (5 g/100g), a la que se denominó “control”. Esta formulación se incluyó teniendo en cuenta el sabor neutro del mismo, a fin de diferenciar el posible cambio organoléptico asociado al aceite del consecuente al reemplazo de sales.

La evaluación se realizó en planillas entregadas a los panelistas junto a las muestras, como la que se presenta en la Figura 6.4.

| PANEL SENSORIAL DE SALCHICHAS MAGRAS | | | | | | | | | |
|--|--------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Evaluador Nro: _____ | | | Nombre: _____ | | | | Fecha: _____ | | |
| Usted ha recibido 3 muestras de salchichas magras. Utilizando la escala indicada, por favor evalúe cada atributo marcando con una cruz (x) en el casillero adecuado. | | | | | | | | | |
| Muestra Nro: 362 | | | | | | | | | |
| | <i>Me disgusta</i> | <input type="checkbox"/> | <i>Me gusta</i> |
| Apariencia | | <input type="checkbox"/> |
| Color | | <input type="checkbox"/> |
| Sabor | | <input type="checkbox"/> |
| Textura | | <input type="checkbox"/> |
| Aceptabilidad general | | <input type="checkbox"/> |
| Muestra Nro: 926 | | | | | | | | | |
| | <i>Me disgusta</i> | <input type="checkbox"/> | <i>Me gusta</i> |
| Apariencia | | <input type="checkbox"/> |
| Color | | <input type="checkbox"/> |
| Sabor | | <input type="checkbox"/> |
| Textura | | <input type="checkbox"/> |
| Aceptabilidad general | | <input type="checkbox"/> |
| Muestra Nro: 145 | | | | | | | | | |
| | <i>Me disgusta</i> | <input type="checkbox"/> | <i>Me gusta</i> |
| Apariencia | | <input type="checkbox"/> |
| Color | | <input type="checkbox"/> |
| Sabor | | <input type="checkbox"/> |
| Textura | | <input type="checkbox"/> |
| Aceptabilidad general | | <input type="checkbox"/> |

Figura 6.4. Planilla presentada a los evaluadores para realizar el análisis sensorial de los productos.

Se realizó un análisis sensorial mediante panel no entrenado de 27 personas, utilizando una escala hedónica de 9 puntos para evaluar el grado de aceptación de los productos (9 = me gusta extremadamente; 5 = me es indiferente, 1 = me disgusta extremadamente) de acuerdo a su apariencia, color, sabor, textura y aceptabilidad general.

Las muestras fueron cocidas (3 min en agua a ebullición), mantenidas a temperatura y presentadas a los panelistas templadas en platos plásticos blancos, de a 3, con códigos de tres dígitos cada una y en orden al azar, junto con agua fresca para enjuagar la boca entre muestras.

6.3.4. Obtención de superficies de respuesta en experimentos con mezclas

Una vez obtenidas las respuestas de los ensayos mencionados previamente se procedió a modelar las mismas según el procedimiento descrito en la sección 4.6.4.

En todos los casos el modelo polinómico propuesto fue:

$$\hat{Y} = \sum_{i=1}^k \beta_i x_i + \sum_{\substack{i,j \\ i \neq j}}^k \beta_{ij} x_i x_j + \sum_{\substack{i,j \\ i \neq j}}^k \beta_{ij} x_i (x_i x_j) + \beta_{ijk} x_i x_j x_k \quad 6.2$$

Donde:

\hat{Y} es la variable de respuesta

β_i , β_{ij} y β_{ijk} son los coeficientes de la regresión obtenida en cada caso

x corresponde al contenido de cada componentes expresado como variable codificada

i, j, k son los distintos componentes: NaCl, KCl, TPP.

Nótese que en la ecuación polinómica no existe un coeficiente β_0 asociado a una constante. Esto se debe a la restricción de este diseño, al forzar a que la sumatoria de todas las proporciones sea igual a 1.

La magnitud de los coeficientes del modelo, cuando se utilizan las variables codificadas, indican la importancia de cada factor, y los signos de los coeficientes indican si el nivel del factor correspondiente se debe incrementar o disminuir para aumentar el valor a la respuesta.

Para obtener los modelos matemáticos de cada respuesta se empleó una metodología de eliminación tipo "paso a paso hacia atrás" (stepwise backward) para establecer los términos significativos de dichos polinomios en cada caso (Ec. 6.2). La adecuación del modelo fue verificada utilizando un test de falta de ajuste o "lack of fit". El coeficiente "precisión adecuada" (Adequate Precision) mide la relación entre la señal y el ruido, y es deseable que su valor sea mayor que 4, por lo que en cada caso también se informa el

valor obtenido. Luego de ajustar los modelos, se llevó a cabo un análisis de los residuos para validar las hipótesis en los ANAVA.

6.3.5. Optimización

A partir de las ecuaciones predictivas se realizó una optimización multirespuesta de forma similar a la descrita en **4.3.5.** incluyendo las variables relacionadas con aspectos de calidad para las que se obtuvieron regresiones significativas según lo explicado en **6.3.4.**

6.3.6. Metodología y herramientas estadísticas empleadas

Procedimientos estadísticos tales como análisis de varianza y comparaciones pareadas de medias se llevaron a cabo mediante el software SYSTAT (SYSTAT, Inc., Evanston, IL, EE.UU.). La generación de superficies de respuesta, optimización, gráficos 3D y de contorno fueron realizados con el software estadístico Expert Design (trial version 7.1.6, Stat-Ease Inc., Minneapolis, EE.UU.). Las diferencias entre los parámetros calculados se consideraron significativas cuando las probabilidades estimadas fueron inferiores a 0.05 ($P < 0.05$).

6.4. Resultados y Discusión

6.4.1. Efecto del reemplazo de sodio sobre las propiedades fisicoquímicas de las pastas crudas

6.4.1.1. Efecto en la interacción matriz-agua

Del análisis de los termogramas obtenidos por DSC modulado de las formulaciones analizadas se encontró que la temperatura de desnaturalización proteica TI varió significativamente con las diferentes combinaciones de sales, pudiendo ser ajustada matemáticamente dicha variación. En la Figura 6.5 se presenta el gráfico de contorno correspondiente a la temperatura TI en función del contenido de sales. En la Tabla 6.4 se pueden observar los valores de los coeficientes de regresión obtenidos para el modelado matemático de TI.

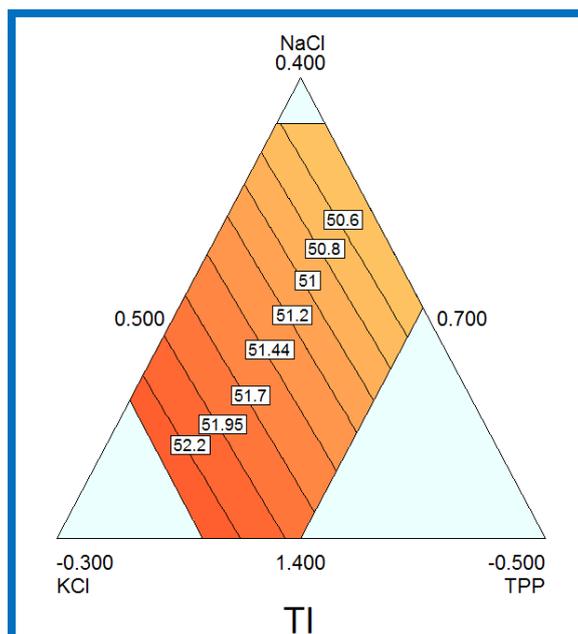


Figura 6.5. Efecto de la combinación de sales sobre la temperatura de desnaturalización proteica TI.

Tabla 6.4. Coeficientes de regresión obtenidos para la temperatura de desnaturalización TI correspondientes a los contenidos de sal reales.

| Coeficientes de regresión | TI |
|---------------------------|--------------|
| NaCl | 32.78 ± 0.27 |
| KCl | 29.89 ± 0.53 |
| TPP | 32.60 ± 0.94 |
| Falta de ajuste (P) | 0.64 |
| Precisión adecuada | 6.83 |

La temperatura de desnaturalización TI más elevada (53.4 ± 0.5 °C) correspondió a la formulación 2, que contenía la mayor concentración de NaCl (1.4 g/100g), mientras que las temperaturas más bajas se obtuvieron para el mayor contenido de KCl, lo que simultáneamente disminuye el contenido de NaCl y/o TPP (formulaciones 4 y 10; $TI = 49.9 \pm 0.3$ °C y 49.8 ± 0.4 °C respectivamente). El coeficiente del KCl resultó ser menor que los de las sales sódicas, reflejando lo observado previamente.

A modo de ejemplo, en la Figura 6.6 se muestran los termogramas correspondientes a las formulaciones 2 y 4.

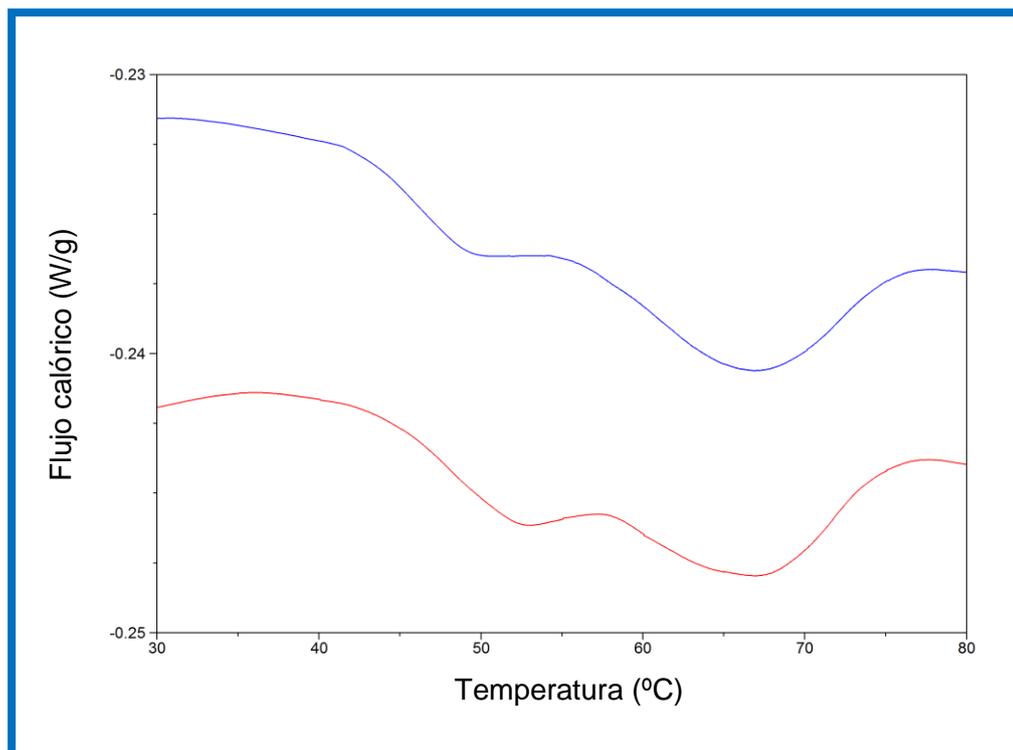


Figura 6.6. Termogramas de las pastas crudas en la zona de desnaturalización proteica.
Códigos: formulación 2 = — y formulación 4= —.

Para un mismo nivel de KCl, la modificación del contenido de NaCl y TPP, dentro de los rangos estudiados, no afectó apreciablemente TI. En la Figura 6.5 también se visualiza la correlación positiva entre el contenido de NaCl y TI.

La temperatura de la transición de actina (TII) y la entalpía total de desnaturalización (ΔH_{desnat}) no se vieron afectadas ($P > 0.05$) por el reemplazo parcial de Na por K, obteniéndose los siguiente valores promedios: $T_{II} = 66.08 \pm 0.19^\circ\text{C}$, $\Delta H_{\text{desnat}} = 1.2 \pm 0.1$ J/g.

La temperatura de desnaturalización TI en este tipo de sistemas cárnicos está asociada, principalmente a miosina. Esta fracción de las proteínas cárnicas resultó ser la más sensible a las modificaciones de su entorno (temperatura, agua no congelada, cantidad y tipo de sales incorporadas). En este caso puede observarse que un elevado nivel de potasio, asociado a un mayor efecto caotrópico respecto del Na^+ , afectó la estabilidad de estas proteínas miofibrilares, traduciéndose en menores valores de TI. Sin embargo las proteínas asociadas a la región II (principalmente actina) no se vieron afectadas significativamente, lo que refleja su mayor estabilidad y resistencia a la modificación del entorno.

La cantidad de agua no congelada, determinada a partir de los respectivos termogramas por MDSC, se vio afectada significativamente ($P < 0.05$) por el reemplazo de NaCl. Estas

variaciones pudieron ajustarse satisfactoriamente al modelo matemático propuesto, El gráfico de contorno obtenido puede observarse en la Figura 6.7, mientras que en la Tabla 6.5 se muestran los coeficientes de regresión asociados al modelo.

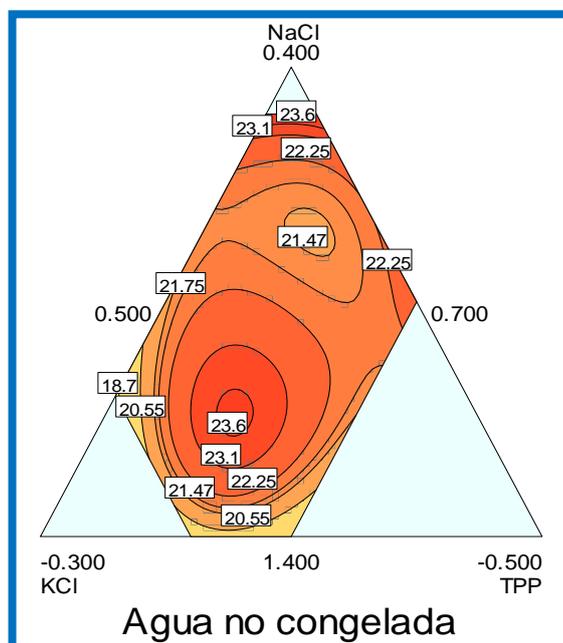


Figura 6.7. Gráfico de contorno del agua no congelada en los productos con diferentes combinaciones de sales.

Sin embargo, las variaciones observadas no fueron tan marcadas como las encontradas en el **Capítulo 3**, donde la variación del agua no congelada estaba asociada a los diferentes biopolímeros incorporados y su interacción con la misma, dado que todas las formulaciones evaluadas en esta etapa contenían el mismo nivel de la mezcla de carragenanos y concentrado de proteínas de leche, optimizada en el **Capítulo 4**.

Dichas variaciones resultaron complejas. Puede observarse una región con un máximo valor de agua no congelada para concentraciones de NaCl = 1.14 g/100g, KCl = 0.22 g/100g y TPP = 0.24 g/100g. A valores más elevados de NaCl o TPP se produce una abrupta caída del agua no congelada. Puede observarse también una región con un mínimo dentro de la región estudiada alrededor de contenidos de NaCl = 0.75 g/100g, KCl = 0.57 g/100g y TPP = 0.28 g/100g, y finalmente, un importante incremento de este parámetro a valores elevados de KCl (> 0.57 g/100g).

Tabla 6.5. Coeficientes de correlación obtenidos para explicar los cambios de la cantidad de agua no congelada de las muestras en función de la combinación de sales.

| Coeficientes de regresión | Agua no congelada |
|---------------------------|-------------------|
| NaCl | 6.22 ± 1.9 |
| KCl | 96.1 ± 54 |
| TPP | 31.47 ± 2.9 |
| NaCl x KCl | -88.55 ± 4.47 |
| NaCl x TPP | -31.55 ± 9.17 |
| KCl x TPP | -58.69 ± 6.6 |
| NaCl x KCl x TPP | 20.29 ± 4.98 |
| NaCl x KCl x (NaCl - KCl) | 46.61 ± 5.46 |
| NaCl x TPP x (NaCl - TPP) | 39.81 ± 11.2 |
| KCl x TPP x (KCl - TPP) | -63.40 ± 9.1 |
| Falta de ajuste (P) | 0.68 |
| Precisión adecuada | 6.54 |

Las diferencias observadas podrían estar relacionadas con los distintos niveles de los cationes K^+ y Na^+ y su ubicación en la serie de Hofmeister (Hofmeister, 1988). En dicha serie se ordenan los aniones y cationes según sus propiedades para solubilizar y estabilizar las proteínas y su capacidad para modificar la interacción proteína-agua. El mecanismo de la serie de Hofmeister no es del todo claro pero no parece ser el resultado de cambios en la estructura general del agua, sino que se debe a interacciones más específicas entre los iones y las proteínas y los iones y las moléculas de agua directamente en contacto con las proteínas (Zang y Kremer, 2006). El orden de los cationes resulta $K^+ > Na^+$ indicando que el potasio produce una interacción más fuerte que el sodio. Esto se refleja en la formulaciones 3, 4 y 10, las que contienen los niveles más elevados de potasio (0.6, 0.7 y 0.7 g/100g de KCl respectivamente) y que presentaron los valores más elevados para agua no congelada.

Estos resultados coinciden con Jimenez-Colmenero y col. (2005) quien informó que la incorporación de KCl a salchichas reducidas en sodio mejoró las propiedades de interacción con el agua.

6.4.1.2. Caracterización termo-reológica de los sistemas

En la evaluación del comportamiento termo-reológico de los sistemas analizados se observó que el módulo elástico o de almacenamiento (G') fue siempre mayor que el módulo viscoso o de pérdida (G'') para todas las combinaciones de sales evaluadas. La tangente de pérdida ($\tan \delta = G''/G'$) arrojó inicialmente valores entre 0.35 y 0.40, mostrando un comportamiento característico de geles débiles, llegando a ser inferior a

0.20, característico de un gel, luego de haber sufrido el proceso de calentamiento y posterior enfriamiento. A modo de ejemplo se presenta un termo-reograma con la evolución de dichos parámetros (Figura 6.8).

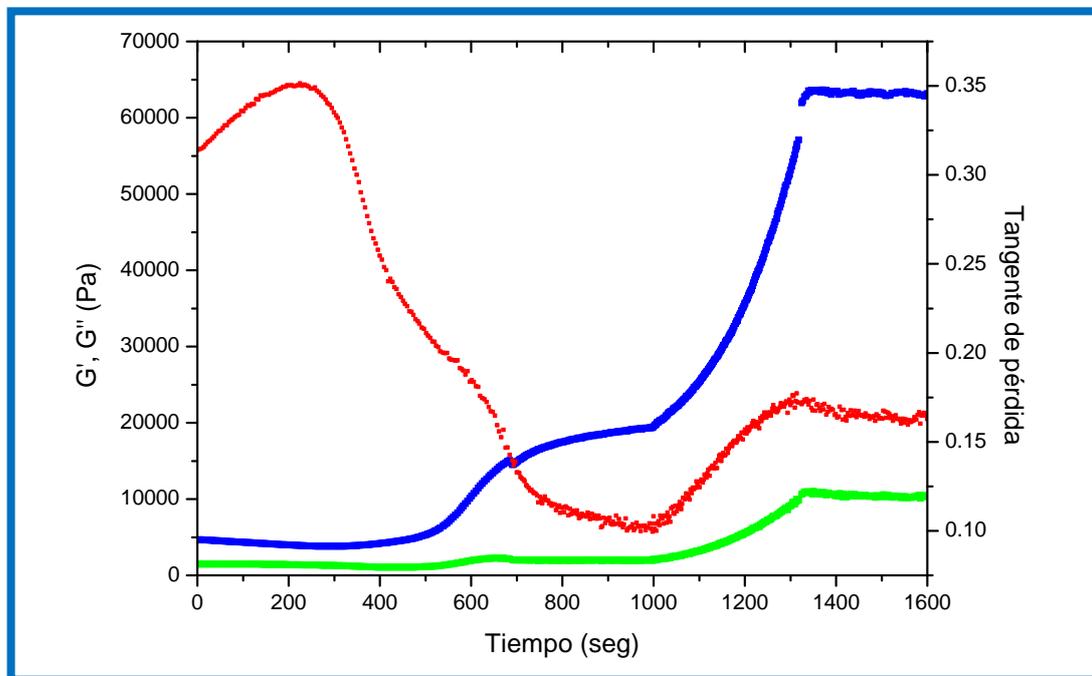


Figura 6.8. Termo-reograma completo obtenido para la formulación 0.

Códigos: ■ módulo elástico, G' ; ■ módulo viscoso, G'' ; ■ Tangente de pérdida.

En todos los casos se observó un leve incremento inicial de la tangente de pérdida en la zona de calentamiento de 20 a 30°C. Dicho efecto no puede ser apreciado claramente analizando los módulos de almacenamiento o pérdida por separado, debido a que es de poca magnitud. Este sutil incremento podría explicarse por el debilitamiento de las fuerzas de unión de la matriz (puentes de H).

Las variaciones más importantes observadas en los termo-reogramas correspondieron al módulo elástico, dado que esta propiedad es generalmente más sensible a los cambios en los procesos de gelación. En la Figura 6.9 se muestra la evolución del módulo elástico de las curvas de gelación obtenidas para las distintas formulaciones crudas conteniendo diferentes combinaciones de sales.

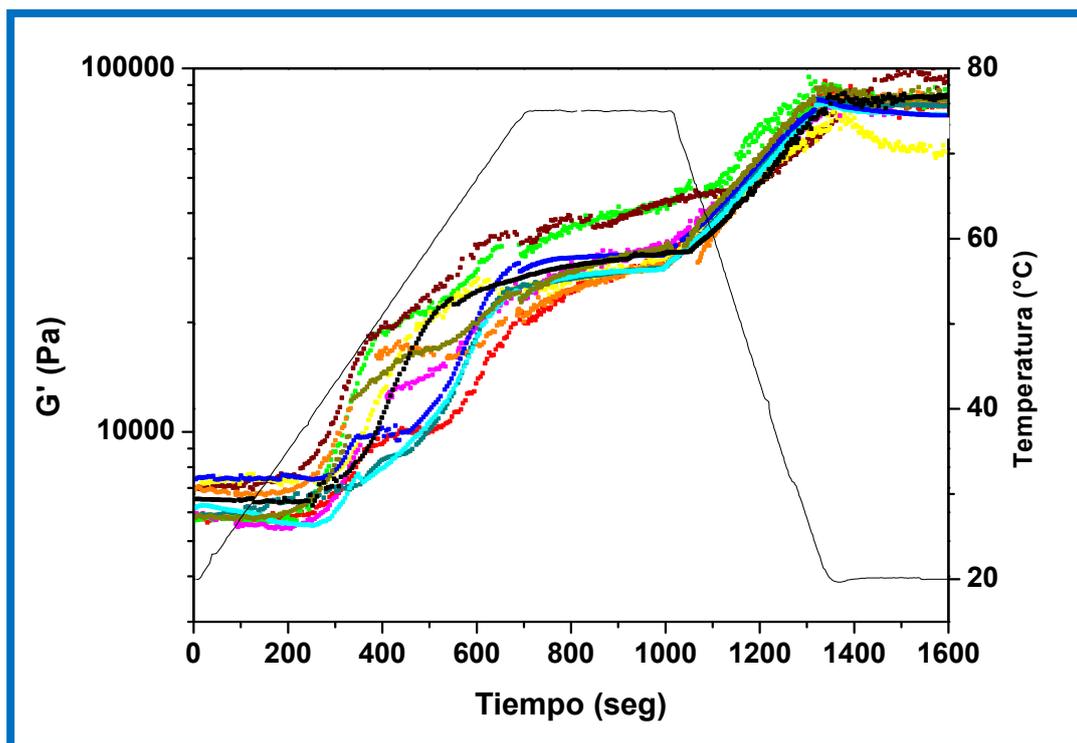


Figura 6.9. Evolución del módulo elástico (G') en el ensayo termo-reológico de las formulaciones estudiadas.

Códigos: 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 (—) Temperatura

En la etapa de calentamiento de los termo-reogramas, se pudo observar que los principales cambios reológicos ocurrieron alrededor de los 40°C, con un incremento gradual de G' relacionado a la formación de una matriz elástica y algo rígida (estructura tipo gel) producto de la desnaturalización de las proteínas. Este comportamiento es típico de la gelación de proteínas miofibrilares en presencia de sales. Como ya se observó, la miosina es la proteína más susceptible al calor, y por lo tanto a bajas temperaturas (50 - 60°C) podría ser la desnaturalización de esta fracción la que origine el incremento del carácter elástico de las muestras.

El constante aumento posterior en G' hasta los 75°C indicó que la formación de la estructura no fue completada hasta alcanzar dicha temperatura. Estas observaciones concuerdan con lo descrito por Fernández-Martín y col. (2009) cuando evaluaron la gelificación de diversos sistemas cárnicos. Durante esta etapa de calentamiento, se observó un comportamiento similar al ensayo termo-reológico descrito en 3.4.4 c) para todas las combinaciones de sales.

Entre los factores que afectan las propiedades de gelación de estas proteínas miofibrilares, la fuerza iónica es considerada importante porque influye en la solubilidad de las mismas. Sin embargo algunos investigadores (Chang y col., 2001; Feng y Hultin,

2001) concluyeron que la total solubilización de las proteínas miofibrilares no era una necesidad absoluta para la formación de un gel cárnico. Esto explicaría la poca variabilidad en estos resultados en función de la combinación de las sales incorporadas al producto.

A continuación (Figura 6.10) se muestra la evolución del módulo elástico G' con la temperatura durante la etapa de calentamiento.

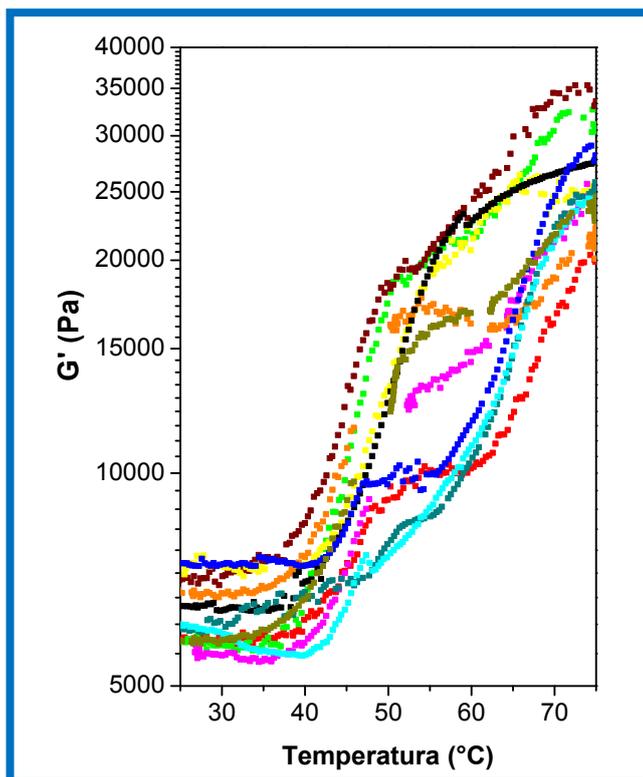


Figura 6.10. Evolución del módulo elástico (G') con la temperatura en la etapa de calentamiento de las distintas de formulaciones estudiadas.

Códigos: 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10.

Para facilitar la detección de las temperaturas de transición en la etapa de calentamiento se analizó la variación del logaritmo decimal del módulo elástico vs la inversa de la temperatura (K^{-1}) ($\log G'$ vs $1/T$), determinando las temperaturas características T_1 y T_2 como la intersección de las rectas tangentes. Las temperaturas obtenidas de los ensayos termo-reológicos se muestran en la Tabla 6.6.

Asimismo, para analizar los diferentes eventos que ocurren durante el tratamiento térmico se analizaron los valores arrojados por el módulo elástico en distintos momentos (Tabla 6.6):

- G' crudo a 20°C: determinado como el valor de G' a 20°C previo al calentamiento

- G' cocido a 75°C: se promediaron los valores de G' obtenidos durante la etapa isotérmica a 75°C.
- G' cocido a 20°C: se promediaron los valores de G' a 20°C durante la etapa isotérmica a 20°C luego del tratamiento térmico.

Se pudo observar un amplio rango de valores de T₁ (51.1-63.3°C) lo que indica que esta transición se vio afectada en mayor medida con la modificación de la proporción de las sales en las formulaciones de los productos. Esto coincide con lo encontrado en el análisis por MDSC que reflejó una mayor sensibilidad de las proteínas asociadas a la primer transición (T₁). Para la temperatura asociada a la segunda transición observada en los termo-reogramas (T₂), el rango de variación fue algo menor, variando entre 67.6 y 72.2°C.

Tabla 6.6. Parámetros termo-reológicos de emulsiones cárnicas crudas y cocidas con distintos contenidos de sales.*

| Formulación | T ₁ (°C) | T ₂ (°C) | G' crudo a 20°C (Pa) | G' cocido a 75°C (Pa) | G' cocido a 20°C Pa) |
|-------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------|------------------------------|
| 0 | 55.9 ^f ± 0.3 | 68.9 ^d ± 0.5 | 6175 ^d ± 5 | 27086 ^d ± 13 | 73078 ^d ± 230 |
| 1 | 62.8 ^{ab} ± 0.5 | 71.7 ^a ± 0.2 | 6936 ^b ± 2 | 28667 ^c ± 9 | 88498 ^a ± 100 |
| 2 | 60.4 ^e ± 0.2 | 68.2 ^e ± 0.3 | 5779 ^f ± 2 | 28847 ^c ± 8 | 79136 ^c ± 81 |
| 3 | 63.0 ^a ± 0.3 | 71.1 ^b ± 0.2 | 5721 ^f ± 3 | 31082 ^b ± 14 | 84447 ^b ± 80 |
| 4 | 51.1 ^h ± 0.2 | 69.4 ^c ± 0.5 | 6528 ^c ± 3 | 23129 ^f ± 5 | 82508 ^{bc} ± 153 |
| 5 | 62.3 ^b ± 0.4 | 71.0 ^b ± 0.4 | 5865 ^{ef} ± 3 | 25347 ^e ± 32 | 82160 ^{bc} ± 163 |
| 6 | 61.2 ^c ± 0.4 | 69.3 ^{cd} ± 0.6 | 5914 ^{de} ± 3 | 23488 ^f ± 5 | 78599 ^c ± 87 |
| 7 | 59.4 ^e ± 0.3 | 69.7 ^c ± 0.3 | 7396 ^a ± 4 | 29074 ^{bc} ± 6 | 74693 ^d ± 75 |
| 8 | 63.3 ^a ± 0.1 | 72.2 ^a ± 0.2 | 5801 ^{ef} ± 4 | 27996 ^c ± 6 | 87399 ^a ± 208 |
| 9 | 54.1 ^g ± 0.3 | 67.6 ^f ± 0.2 | 7230 ^{ab} ± 3 | 26420 ^d ± 9 | 58070 ^e ± 130 |
| 10 | 51.2 ^h ± 0.6 | 69.8 ^c ± 0.3 | 6952 ^b ± 4 | 38100 ^a ± 16 | 83121 ^b ± 170 |

*Medias con distinto supraíndice, en una misma columna, presentan diferencias significativas (P < 0.05).

Los rangos de valores T_1 y T_2 resultaron más elevados que los determinados por MDSC, lo que puede explicarse debido a las diferencias entre los ensayos. En los ensayos de calorimetría diferencial de barrido, la temperatura obtenida es la correspondiente a la desnaturalización de la fracción proteica correspondiente, mientras que en los ensayos termo-reológicos se determina la temperatura asociada a un incremento del módulo elástico, originado por la formación de una estructura elástica tipo gel. La gelación de las proteínas musculares involucra una desnaturalización parcial de las cabezas de miosina seguida de una agregación mediante la formación de puentes disulfuro y transiciones hélice-ovillo de la colas, resultando en una estructura tipo red entrecruzada tridimensional (Xiang y Holley, 2011). A pesar de estas diferencias, resulta evidente que los eventos estudiados mediante MDSC y termo-reología están estrechamente vinculados. Esto pudo ser reflejado mediante las correlación entre las temperaturas determinadas por MDSC (T_I) y ensayos termo-reológicos (T_1) que se muestra en la Figura 6.10 ($R^2 = 0.81$, $P < 0.05$).

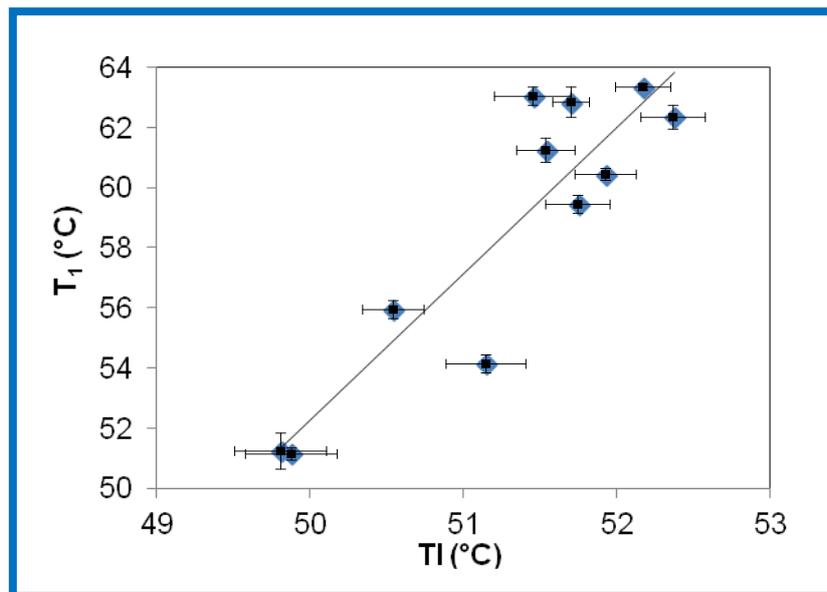


Figura 6.10. Correlación entre la temperatura de desnaturalización proteica determinada por DSC (T_I) y la primera temperatura de transición sol-gel determinada por termo-reología (T_1) sobre las pastas crudas de las diferentes formulaciones.

Durante la etapa isotérmica a 75°C se observó un incremento de G' en los primeros 100 s para luego mantenerse constante, indicando un refuerzo de las interacciones responsables de la estructura desarrollada. Pudo observarse un comportamiento marcadamente distinto de las formulaciones 3 y 10, con un alto grado de sustitución del NaCl pero conteniendo TPP, que exhibieron los valores más elevados del módulo elástico

(Tabla 6.6). Esto podría estar relacionado con el hecho de que los geles de proteínas miofibrilares en diversos sistemas con potasio resultan más firmes que los geles con sodio (Xiong y Holley, 2011). Asimismo, se ha descrito que la presencia de potasio en sistemas conteniendo carragenanos, como los estudiados, logra un refuerzo en la red formada (Totosaus y col. 2004).

El resto de las formulaciones arrojó un acotado rango de valores del módulo elástico durante esta etapa isotérmica. Las formulaciones con distintos niveles de nivel reemplazo de NaCl y TPP agregado (0, 1, 7, 8 y 9) presentaron valores ligeramente superiores que las formulaciones sin TPP incorporado (4, 5 y 6) indicando que la inclusión de TPP resulta importante para el desarrollo de la estructura del gel.

Durante el enfriamiento de las muestras cocidas (75 a 20°C) se observó un importante incremento del módulo elástico para todas las formulaciones, que puede estar asociado a la formación de puentes H, favorecida a bajas temperaturas.

Finalmente, en una última etapa isotérmica a 20°C, la formulación 2 que, al igual que las demás, contiene la combinación de carragenanos y proteínas de leche optimizada, sin reemplazo de sodio, arrojó un valor de G' de 79136 Pa. Este valor resultó intermedio entre los G' obtenidos en el **Capítulo 3** para las formulaciones que contenían sólo proteínas de leche ($G' = 73638$ Pa) o sólo mezcla de carragenanos ($G' = 88800$ Pa) sin reemplazo de sodio. Cuando se reemplazó parte del NaCl, los G' de las distintas formulaciones oscilaron entre similares valores (73078 a 88498 Pa), con la excepción de la formulación 9 que arrojó un valor final del módulo elástico marcadamente inferior (58070 Pa). Esto demostraría que los cambios propuestos en la proporción de las sales no deterioran las características elásticas buscadas en los productos.

6.4.2. Efecto de la sustitución de NaCl sobre los parámetros de calidad del producto

6.4.2.1 Rendimiento

Se ha discutido previamente la relación entre el rendimiento y la capacidad de la matriz de proteínas miofibrilares gelificadas de inmovilizar tanto los lípidos como el agua. Además se analizó el efecto de la concentración de sal sobre las propiedades funcionales de las proteínas, por lo que resulta importante estudiar el efecto del reemplazo parcial de sodio sobre el rendimiento del proceso. La Figura 6.11 muestra el gráfico de contorno correspondiente a la variación del rendimiento con la concentración de NaCl, KCl y TPP en los productos estudiados.

Todos los rendimientos obtenidos fueron elevados (≥ 98 g/100g). Si bien se pueden apreciar algunas diferencias entre las distintas formulaciones, los valores resultaron

bastante similares. De acuerdo a los resultados de este ensayo, el rendimiento no se vio afectado negativamente por el reemplazo parcial de NaCl. Si se considera la formulación 2, la cual presenta la mayor fuerza iónica, la sal incorporada (NaCl 1.4 g/100 g) equivale a 21 mg/g carne considerando todos los aportes de sales, este valor se encuentra dentro de la región del “salting-in” descrita por Graiver (2006). De esta manera, la solubilidad de las proteínas miofibrilares se incrementa con la concentración de sal, aún en las restantes formulaciones donde parte del NaCl fue reemplazado, resultando en menor fuerza iónica.

Puede observarse que para valores bajos de TPP, el máximo rendimiento se encuentra en la zona de mayores niveles de NaCl y bajos de KCl. Sin embargo a valores elevados de TPP, donde se observaron los mayores rendimientos, el máximo se encuentra a valores bajos de NaCl y altos de KCl.

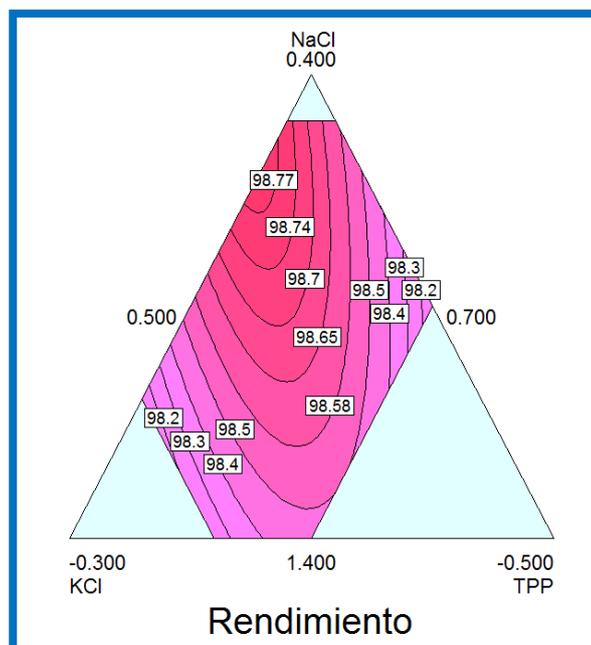


Figura 6.11. Gráfico de contorno del rendimiento en función del contenido de sales de salchichas con aceite de pescado.

En la Tabla 6.7 se muestran los coeficientes de regresión que resultaron significativos mediante el procedimiento “stepwise” correspondientes al rendimiento. Los valores de la precisión adecuada y falta de ajuste resultaron apropiados, mostrando un buen ajuste del modelo matemático propuesto.

Tabla 6.7. Coeficientes de regresión del modelo predictivo correspondiente al rendimiento (\pm desviación estándar), expresados en función de las concentraciones reales de las sales.

| Coeficientes de regresión | Valores de los coeficientes |
|---------------------------|-----------------------------|
| NaCl | 61.38 \pm 0.12 |
| KCl | 58.79 \pm 0.78 |
| TPP | 60.11 \pm 0.46 |
| NaCl x KCl | 2.67 \pm 0.91 |
| KCl x TPP | 4.37 \pm 1.23 |
| Falta de ajuste (P) | 0.144 |
| Precisión adecuada | 7.33 |

Otros autores han informado resultados que concuerdan con lo obtenido en este ensayo. Así Totosaus y col. (2004) informaron que el reemplazo parcial de NaCl por otras sales (CaCl₂ o KCl) no afectó el rendimiento o la capacidad de retención de agua de salchichas bajas en grasa. Por otra parte Trius y col. (1994) informaron un aumento en el rendimiento de la cocción de un sistema cárnico con KCl respecto de NaCl. Estos autores sugieren que la presencia de KCl induce la formación de una estructura capaz de retener agua. La incorporación de κ -carragenano a sistemas cárnicos con baja fuerza iónica y conteniendo KCl según Totosaus y col. (2004) produjo un gel fuerte donde la interacción entre el K⁺ y los carragenanos compensó la menor solubilidad de las proteínas miofibrilares sin producirse efectos negativos en el producto obtenido.

6.4.2.2. Efecto del reemplazo de NaCl sobre la textura

En cuanto a los parámetros obtenidos en el análisis de perfil de textura (TPA) realizado sobre las formulaciones conteniendo distintas combinaciones de sales, la dureza, elasticidad, adhesividad y masticabilidad variaron significativamente con la formulación ($P < 0.05$) y pudieron ser modelados matemáticamente. En la Figura 6.12 se puede observar la variación de estos parámetros texturales con la proporción de sales incorporadas.

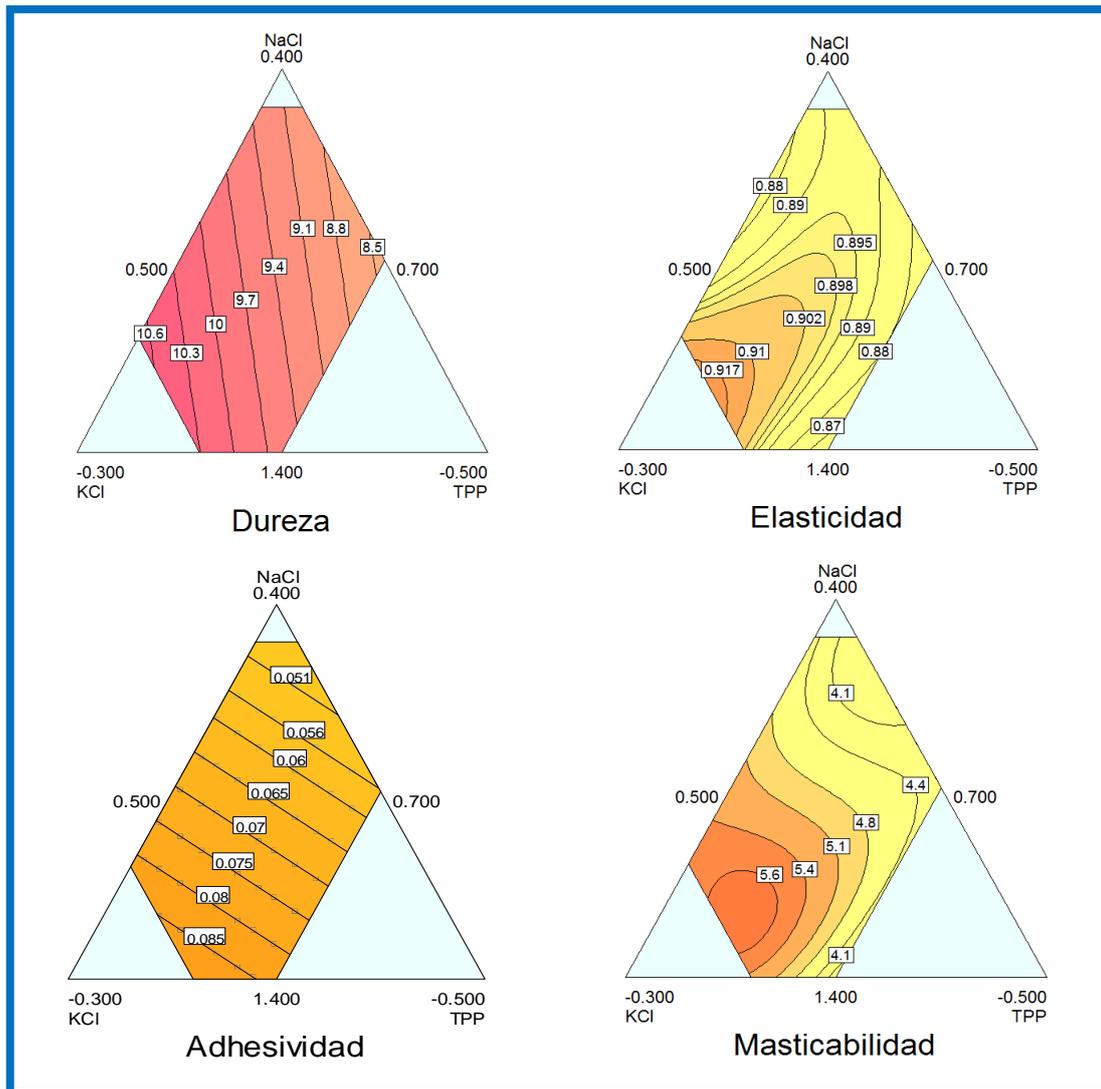


Figura 6.12. Gráficos de contorno correspondientes a la variación de dureza, elasticidad, adhesividad y masticabilidad con el contenido de NaCl, KCl y TPP en las formulaciones de salchichas con aceite de origen marino.

En la Tabla 6.8 se muestran los distintos coeficientes obtenidos para el modelado matemático de los distintos parámetros texturales analizados.

Tabla 6.8. Coeficientes de regresión de los modelos predictivos correspondientes a la dureza, elasticidad, adhesividad y masticabilidad, expresados en función de las concentraciones reales de las sales.

| Coeficientes de regresión | Dureza | Elasticidad | Adhesividad | Masticabilidad |
|---------------------------|----------------|--------------------|----------------------------------|------------------|
| NaCl | 6.27 ± 0.29 | 0.518 ± 0.01 | 0.06 ± 0.008 | 2.32 ± 0.2 |
| KCl | 3.94 ± 0.64 | 0.387 ± 0.073 | 4.11×10^{-3} ± 0.001 | 3.33 ± 0.53 |
| TPP | 7.61 ± 0.97 | -0.0983 ± 0.013 | 0.03 ± 0.003 | 4.03 ± 0.78 |
| NaCl x KCl | - | 0.213 ± 0.092 | - | - |
| NaCl x TPP | - | 0.704 ± 0.014 | - | -2.29 ± 0.70 |
| KCl x TPP | - | 1.09 ± 0.32 | - | 0.15 ± 0.082 |
| NaCl x KCl x TPP | - | -0.842 ± 0.32 | - | - |
| NaCl x TPP x (NaCl - TPP) | - | - | - | 6.24 ± 3.12 |
| KCl x TPP x (KCl - TPP) | - | - | - | -12.94 ± 4.14 |
| Falta de ajuste (P) | 0.38 | 0.35 | 0.77 | 0.71 |
| Precisión adecuada | 7.25 | 8.78 | 4.6 | 10.07 |

La dureza varió entre 8.22 – 10.62 N y presentó una dependencia lineal con el contenido de las tres sales empleadas, ya que no fueron significativos los términos de segundo y tercer orden. El KCl presentó un coeficiente inferior respecto a los de NaCl y TPP, lo que implica una menor contribución a la dureza del producto, como puede observarse en la Figura 6.12, donde la variación del KCl produce la mayor incidencia sobre la dureza. Un contenido alto de KCl produjo salchichas con menor dureza. Para un mismo valor de KCl, la dureza aumentó con la proporción de TPP. Según el modelo matemático hallado, la máxima dureza se obtendría para una combinación de sales con NaCl = 1.10 g/100g, KCl = 0.01 g/100g y TPP = 0.49 g/100g.

La elasticidad de las formulaciones estudiadas presentó una dependencia compleja con la combinación de sales. El máximo valor de elasticidad según el modelo matemático correspondería a una zona cercana al máximo valor en la dureza, con NaCl = 1.22 g/100g, KCl = 0.01 g/100g y TPP = 0.37 g/100g. Observando la Figura 6.6, para valores

bajos e intermedios de KCl, la elasticidad fue máxima a concentraciones intermedias de TPP y NaCl, y mínima en cada extremo (TPP = 0 g/100g y NaCl = 0 g/100g). En la región de valores más elevados de KCl el máximo de elasticidad se desplazó hacia niveles altos en TPP.

Respecto al TPP, presentó coeficiente de primer orden negativo, que podría explicarse por su interacción con la matriz cárnica, aumentando las interacciones proteína-agua y disminuyendo las interacciones proteína-proteína (Ruunsunen y Puolanne, 2005), lo que resulta en una más difícil recuperación de la estructura luego de una deformación. Sin embargo, los coeficientes de segundo orden fueron mayores, incluso que los lineales, por lo que el agregado conjunto con las otras sales resulta en mayor elasticidad del producto, confirmando el efecto sinérgico entre sales previamente mencionado.

Los valores de adhesividad obtenidos fueron bajos, similares a los comúnmente hallados en este tipo de productos (Andrés y col., 2009); sin embargo este parámetro pudo ser modelado matemáticamente. La adhesividad presentó una dependencia lineal con el agregado de las sales siendo el KCl el componente que más afectó esta propiedad, con un coeficiente un orden de magnitud menor respecto a los correspondientes NaCl y TPP. A iguales niveles de KCl la adhesividad aumentó con la proporción de NaCl (menor contenido de TPP).

La masticabilidad presentó un comportamiento complejo; el modelo resultante incluyó términos significativos de primero, segundo y tercer orden (Tabla 6.8). El TPP presentó un mayor efecto que el KCl y el NaCl en los términos lineales. Se observaron interacciones de segundo orden negativas y de tercer orden positivas, lo que implicaría que la presencia simultánea de las tres sales logra un producto con una mayor masticabilidad. Cabe destacar que este parámetro es el producto de dureza x elasticidad x cohesividad, lo que se refleja en la complejidad del modelo obtenido. Se encontró un máximo para valores de NaCl = 1.23 g/100g, KCl = 0.06 g/100g y TPP = 0.31 g/100g, y una disminución abrupta de la masticabilidad con el incremento de KCl o la reducción de TPP (Figura 6.12).

Diversas investigaciones realizadas muestran las posibles variaciones en las propiedades de textura cuando el NaCl se reduce. La revisión bibliográfica muestra variados resultados según el tipo y nivel de sal empleado, así como la matriz cárnica estudiada. Así, Horita y col. (2011) encontraron variaciones similares en las propiedades de textura de un producto cárnico emulsionado, especialmente en dureza, al reducir el contenido de NaCl en un 50 y 75%. Cuando el NaCl se reduce, la cantidad de proteína extraída o solubilizada también puede disminuir (Gordon y Barbut, 1992), lo que reduce la capacidad de retención de agua y la fuerza del gel (Whiting, 1984). Estos cambios se

reflejan en las características de textura final de los productos gelificados, especialmente en formulaciones reducidas en sodio como las de este **Capítulo**.

Sofos (1983) informó variaciones significativas en la textura de salchichas al disminuir más del 20% del NaCl. Gou y col. (1996) informaron una reducción de 14% de la dureza cuando se reemplazó el contenido de NaCl (2.6 g/100g) por NaCl (1 g/100g), KCl (0.552 g/100g), y CaCl₂ (0.74 g/100g) en un producto cárnico fermentado.

Asimismo, la reducción del contenido de sal (2.5 a 1.25 g/100g) produjo una textura blanda (menor dureza) en mortadela (Seman y col., 1980) y salchichas (Hand y col., 1987; Matulis y col., 1995). Por otro lado, Jiménez-Colmenero y col. (1998) no encontraron un efecto claro sobre los parámetros de textura al evaluar diferentes niveles de sal en productos cárnicos. Waldir y col. (2012) informaron que el reemplazo de 25% de NaCl por KCl no afectó significativamente las propiedades texturales de salchichas. Sin embargo estos autores informaron que cuando se reemplazó en un 50% el NaCl por KCl, se obtuvieron productos con una dureza y masticabilidad menor sin modificarse la elasticidad y la cohesividad.

Los parámetros texturales cohesividad y resiliencia también presentaron diferencias significativas con la combinación de sales incorporada, sin embargo no pudieron ser ajustados mediante el modelo matemático propuesto. Los valores de estos parámetros se indican en la Tabla 6.9.

Tabla 6.9. Parámetros texturales resiliencia y cohesividad de las diversas formulaciones ensayadas.

| Formulación | Resiliencia (J/J) | Cohesividad (J/J) |
|-------------|------------------------------|-----------------------------|
| 0 | 0.385 ^{bcd} ± 0.004 | 0.546 ^c ± 0.004 |
| 1 | 0.435 ^{ab} ± 0.004 | 0.585 ^a ± 0.004 |
| 2 | 0.401 ^{bcd} ± 0.004 | 0.559 ^{bc} ± 0.004 |
| 3 | 0.386 ^{bcd} ± 0.004 | 0.559 ^{bc} ± 0.004 |
| 4 | 0.346 ^{ef} ± 0.005 | 0.521 ^d ± 0.005 |
| 5 | 0.338 ^f ± 0.004 | 0.521 ^d ± 0.004 |
| 6 | 0.374 ^e ± 0.005 | 0.551 ^{bc} ± 0.005 |
| 7 | 0.404 ^{bc} ± 0.004 | 0.563 ^b ± 0.004 |
| 8 | 0.386 ^{cd} ± 0.004 | 0.557 ^{bc} ± 0.004 |
| 9 | 0.412 ^{ab} ± 0.005 | 0.564 ^{ab} ± 0.005 |
| 10 | 0.378 ^d ± 0.005 | 0.547 ^{bc} ± 0.005 |

*Medias con distinto supraíndice, en una misma columna, presentan diferencias significativas ($P < 0.05$).

Los datos bibliográficos encontrados al respecto reflejan una tendencia ambigua. Jimenez-Colmenero y Carballo (2005) informaron que el reemplazo de NaCl por KCl en salchichas magras produjo un incremento en la cohesividad. Sin embargo Horita y col. (2011) reportaron que un reemplazo del 50% del contenido de NaCl por KCl produjo una disminución de la cohesividad de mortadelas magras.

6.4.2.3. Efecto del reemplazo de NaCl sobre el color

Se encontraron diferencias significativas en los tres parámetros del espacio cromático CIELab, luminosidad (L^*), parámetros de cromaticidad a^* y b^* en función de la proporción de NaCl, KCl y TPP incorporada en los productos. Sin embargo solamente los parámetros L^* y b^* pudieron ser ajustados mediante el modelo matemático propuesto. En la Figura 6.13 se presentan los gráficos de contorno obtenidos y en la Tabla 6.10 los respectivos coeficientes de regresión.

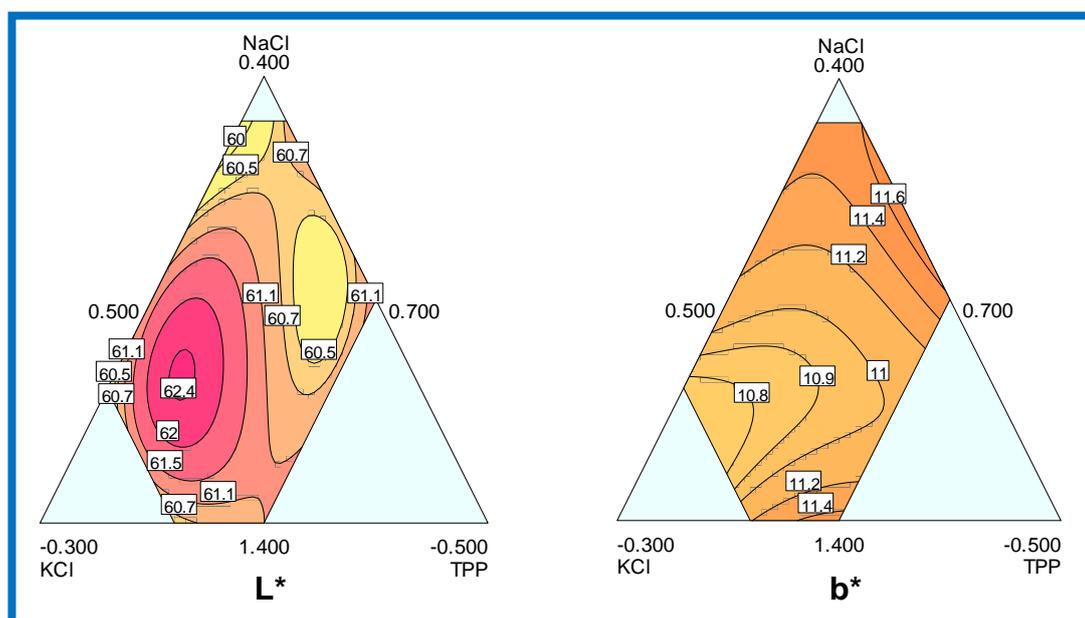


Figura 6.13. Gráficos de contorno de los parámetros de color L^* y b^* obtenidos sobre los productos con diferente combinación de sales.

Tabla 6.10. Coeficientes de regresión de los modelos predictivos para las variables luminosidad (L^*) y b^* correspondientes a los contenidos de sales reales.

| Coeficientes de regresión | L* | b* |
|---------------------------|--------------|--------------|
| NaCl | 37.53 ± 0.41 | 7.88 ± 0.31 |
| KCl | 35.39 ± 2.91 | 13.85 ± 1.88 |
| TPP | 67.54 ± 5.8 | 16.46 ± 3.54 |
| NaCl x KCl | 4.33 ± 0.5 | -8.27 ± 2.4 |
| NaCl x TPP | -36.92 ± 6.4 | 11.19 ± 3.75 |
| KCl x TPP | -38.67 ± 6.3 | -22.51 ± 8.0 |
| NaCl x KCl x TPP | 35.78 ± 3.8 | 20.07 ± 7.62 |
| NaCl x TPP x (NaCl - TPP) | 15.62 ± 1.9 | - |
| KCl x TPP x (KCl - TPP) | -0.87 ± 2.9 | - |
| Falta de ajuste (P) | 0.58 | 0.96 |
| Precisión adecuada | 11.71 | 6.71 |

Como puede observarse, la dependencia de los parámetros de color L* y b* presentaron una variación compleja con los distintos niveles de las sales utilizadas.

Para la luminosidad (L*) todos los términos del modelo propuesto fueron significativos. El gráfico de contorno obtenido para la luminosidad mostró un rango entre 59.7 - 62% con un máximo para niveles de NaCl = 1.07 g/100g, KCl = 0.19 g/100g y TPP = 0.34 g/100g. También se observaron dos regiones con valores mínimos de L*, una dentro del rango de sales estudiado con valores de NaCl = 0.88 g/100g, KCl = 0.59 g/100g y TPP = 0.13 g/100g, mientras que el otro mínimo se ubicó sobre un contorno del diseño, a valores altos de KCl y bajos de TPP y NaCl.

El parámetro de cromaticidad b*, que mide la intensidad del color amarillo-azul, pudo ser modelado empleando un polinomio cúbico. A pesar de la complejidad matemática del modelo, en la Figura 6.13 se puede observar un marcado efecto del KCl. Los valores más bajos del parámetro b* se obtuvieron con proporciones bajas y medias de KCl. Dentro de esta zona (KCl = 0 - 0.46 g/100g), para un mismo valor de KCl, el parámetro de cromaticidad b* aumenta a valores extremos de NaCl, y en menor medida a valores elevados de TPP. A valores elevados de KCl, el máximo de b* se situó en proporciones intermedias de TPP y NaCl.

Los valores del parámetro de cromaticidad a* se muestran en la Tabla 6.11. Los valores medios obtenidos para este parámetro, que mide el color rojo-verde, para las formulaciones con diferentes combinaciones de sales oscilaron entre 16.2 y 18.3, resultando en un color rojo, adecuado a este tipo de productos.

Tabla 6.11. Parámetro de color a* de las diversas formulaciones ensayadas.

| Formulación | a* |
|-------------|-----------------------------|
| 0 | 16.85 ^{bcd} ± 0.09 |
| 1 | 16.76 ^{bcd} ± 0.04 |
| 2 | 16.90 ^{bc} ± 0.08 |
| 3 | 18.30 ^a ± 0.03 |
| 4 | 17.74 ^a ± 0.05 |
| 5 | 17.84 ^a ± 0.04 |
| 6 | 16.51 ^{bcd} ± 0.1 |
| 7 | 16.20 ^d ± 0.08 |
| 8 | 16.31 ^{cd} ± 0.05 |
| 9 | 16.92 ^b ± 0.05 |
| 10 | 18.08 ^a ± 0.04 |

*Medias con distinto supraíndice, presentan diferencias significativas (P < 0.05).

Carraro y col. (2012) informaron que la reducción de NaCl en mortadela produjo una variación significativa de los parámetros de color exceptuado al parámetro a*. Similares resultados fueron informados por Gimeno y col. (1999) quienes estudiaron el efecto del reemplazo de NaCl por KCl y CaCl₂ en la formulación de salchichas fermentadas obteniendo una variación significativa de b* y L*.

6.4.3. Optimización de la formulación reducida en sodio

Una vez que las ecuaciones predictivas individuales fueron conocidas (Tablas 6.7, 6.8 y 6.10), se definieron cinco funciones objetivo para las variables que fueron afectadas significativamente por la formulación: rendimiento, dureza, adhesividad, elasticidad, y luminosidad.

Diversos estudios informaron que la luminosidad L* fue el parámetro que mejor refleja los cambios de color en productos cárnicos (Mielnik y Slinde, 1983; Oellingrath y Slinde, 1985; Carraro y col., 2012). Por lo tanto, este parámetro fue considerado para optimizar las formulaciones, en detrimento del parámetro b*, que no fue empelado.

La masticabilidad, ya que es una función lineal de la dureza, elasticidad, y cohesividad, no se incluyó en este procedimiento, ya que presentó un comportamiento similar a la elasticidad. Por lo tanto resultaría redundante incorporar este parámetro gobernado matemáticamente por la elasticidad y la dureza.

La Tabla 6.12 muestra los criterios de optimización empleados para cada respuesta. El rendimiento fue maximizado, y los rangos de los parámetros texturales, dureza,

adhesividad y elasticidad, y la luminosidad, fueron establecidos para lograr valores similares a los de un producto comercial con un contenido de 20 g/100g de grasa vacuna.

Tabla 6.12. Criterios empleados para obtener las funciones de conveniencia, respuestas predichas y funciones de conveniencia individual (d_j).

| Variables de respuestas | Criterio de optimización | Respuestas predichas | d_j |
|-------------------------|--------------------------|----------------------|-------|
| Rendimiento (g/100g) | Máximo | 98.78 | 0.892 |
| Dureza (N) | 9.00 - 10.00 | 9.55 | 1 |
| Adhesividad (J) | 0.02-0.6 | 0.054 | 1 |
| Elasticidad (J/J) | 0.845-0.973 | 0.877 | 1 |
| Luminosidad (L) | 58-61 | 59.99 | 1 |

Se empleó el mismo criterio que en el **Capítulo 4** para obtener un valor global de conveniencia D (desirability). Según los resultados obtenidos la óptima combinación de sales para incorporar a los embutidos magros conteniendo aceite de pescado y fitoestores correspondió a:

- NaCl = 0.608 g/100g.
- KCl = 0.492 g/100g.
- TPP = 0.500 g/100g.

El valor de la función conveniencia global asociado a este procedimiento matemático obtenido fue $D = 0.892$, este valor resulta satisfactorio ya que se encuentra próximo a la unidad. La Tabla 6.12 también muestra las respuestas predichas para esta formulación y los correspondientes valores de función d_j . Con el análisis efectuado empleando la formulación optimizada se lograrían las características de calidad deseadas en el producto.

6.4.4. Validación del modelo

Una vez que se determinó la formulación óptima reducida en sodio, se la empleó para elaborar salchichas de bajo contenido lipídico conteniendo aceite de pescado y fitoesteres. Se analizaron todas las variables de respuesta (rendimiento, TPA, color según la metodología descrita previamente) de este producto. Los valores experimentales promedio de cada respuesta se compararon con los predichos por los modelos y ambos conjuntos de valores se presentan en la Tabla 6.13.

Tabla 6.13. Valores predichos y experimentales de rendimiento, dureza, elasticidad, adhesividad, masticabilidad, luminosidad y cromaticidad b*, obtenidos para la formulación optimizada con contenido de sodio reducido.

| Parámetros | Predichos | Validación experimental | |
|-----------------------------------|-----------|-------------------------|--|
| | | Valor medio | Intervalo de confianza ($\alpha = 0.05$) |
| Rendimiento (g/100g) | 98.78 | 98.6 | 98.1-99.1 |
| Dureza (N) | 9.55 | 9.97 | 9.50-10.44 |
| Elasticidad (J/J) | 0.877 | 0.902 | 0.869-0.925 |
| Masticabilidad (N) | 4.61 | 5.02 | 4.60-5.44 |
| Adhesividad (Jx10 ⁻³) | 0.054 | 0.3 | 0.02-0.579 |
| Luminosidad | 59.99 | 59.75 | 59.35-60.15 |
| Parámetro b* | 11.43 | 11.30 | 11.02-11.58 |

Los valores experimentales y predichos obtenidos para todas las variables analizadas no fueron estadísticamente diferentes ($P > 0.05$). Por lo tanto, el procedimiento matemático elegido predijo adecuadamente los atributos de calidad de la formulación optimizada con contenido de Na reducido, obteniéndose un producto con las características buscadas: salchichas conteniendo 5 g/100g de aceite de pescado pre-emulsificado, fitoesteroles y contenido de sodio reducido, similares a un producto comercial con 20 g/100g de grasa y alto contenido de sodio.

6.4.5. Estudios complementarios de la formulación optimizada

6.4.5.1. Microestructura

Para la evaluación de la microestructura de los productos obtenidos se seleccionaron las formulaciones 2, 4, 9 y 10 para las observaciones mediante ESEM, incluyendo de este modo, la formulación sin sustitución de NaCl (2) y, siendo las tres restantes, representativas de distintos niveles de sustitución, a fin de poder evaluar el posible efecto sobre la matriz obtenida. Mediante modo SEM se observaron las formulaciones optimizadas (formulación 2 y la optimizada reducida en sodio).

La microestructura observada mediante técnicas ESEM y SEM (Figuras 6.14, 6.15 y 6.16) en todas las formulaciones de salchichas resultó característica de los sistemas tipo gel/emulsión cárnica cocida, similar a la determinada por diversos autores (Carballo, 1996; Andrés y col., 2006, 2009; Chen y col., 2007; Ayadi y col., 2009).

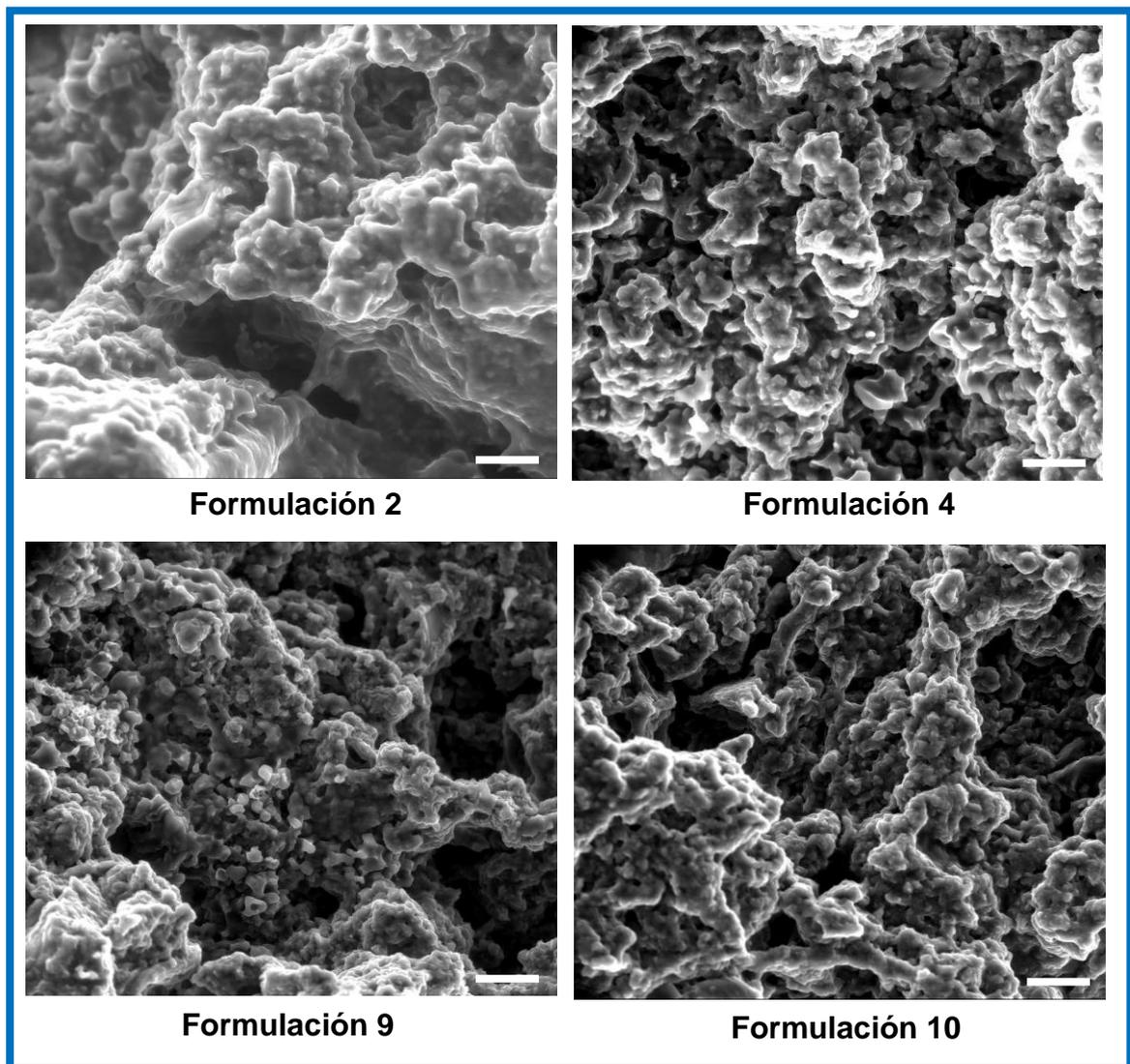


Figura 6.14. Micrografías ESEM representativas de distintas formulaciones estudiadas.
La barra blanca indica una magnitud de 50 µm en todas las micrografías.

Las observaciones obtenidas por ESEM (Figura 6.14), reflejaron una estructura compacta tipo gel con una red tridimensional con numerosas cavidades, produciendo una estructura tipo esponja. La formación de estas cavidades puede deberse a la expansión de una serie de componentes durante el tratamiento térmico del producto, principalmente, agua, aceite o aire (Cavestany y col., 1994). Este tipo de estructura coincide con la reportada por Ayadi y col. (2009) para salchichas de pavo con carragenanos y por Verbeken y col. (2005) quienes que estudiaron la influencia de κ -carragenanos en geles de proteínas sarcoplásmicas.

La morfología observada en estos productos indicaría que las características de la matriz proteica continua se verían levemente afectadas por el tipo y niveles de sales utilizados en algunos casos.

Por observación de las micrografías correspondientes a la formulación optimizada sin sustitución de NaCl (2) (Figura 6.14) se vió una microestructura de gel continuo donde los agregado proteicos resultaron embebidos en una matriz homogénea. Comparando con las otras formulaciones observadas, las matrices cárnicas de las formulaciones con distintos niveles de sustitución de sodio, presentaron una estructura de aspecto granuloso menos embebida. Esto indicó que la variación de las sales entre estas formulaciones alteró la microestructura de estos sistemas. La presencia de KCl podría modificar la estructura de la matriz cárnica obtenida por disminuir la cantidad de proteínas extraídas (solubles), generando una imagen más particulada. Esto justificaría las diferencias antes determinadas en los parámetros texturales. Sin embargo los geles obtenidos en todos los casos presentaron parámetros de calidad adecuados a este tipo de productos, confirmando lo indicado por Totosaus y col. (2004) quienes postularon que no era imprescindible una completa solubilización de las proteínas miofibrilares para obtener un gel adecuado.

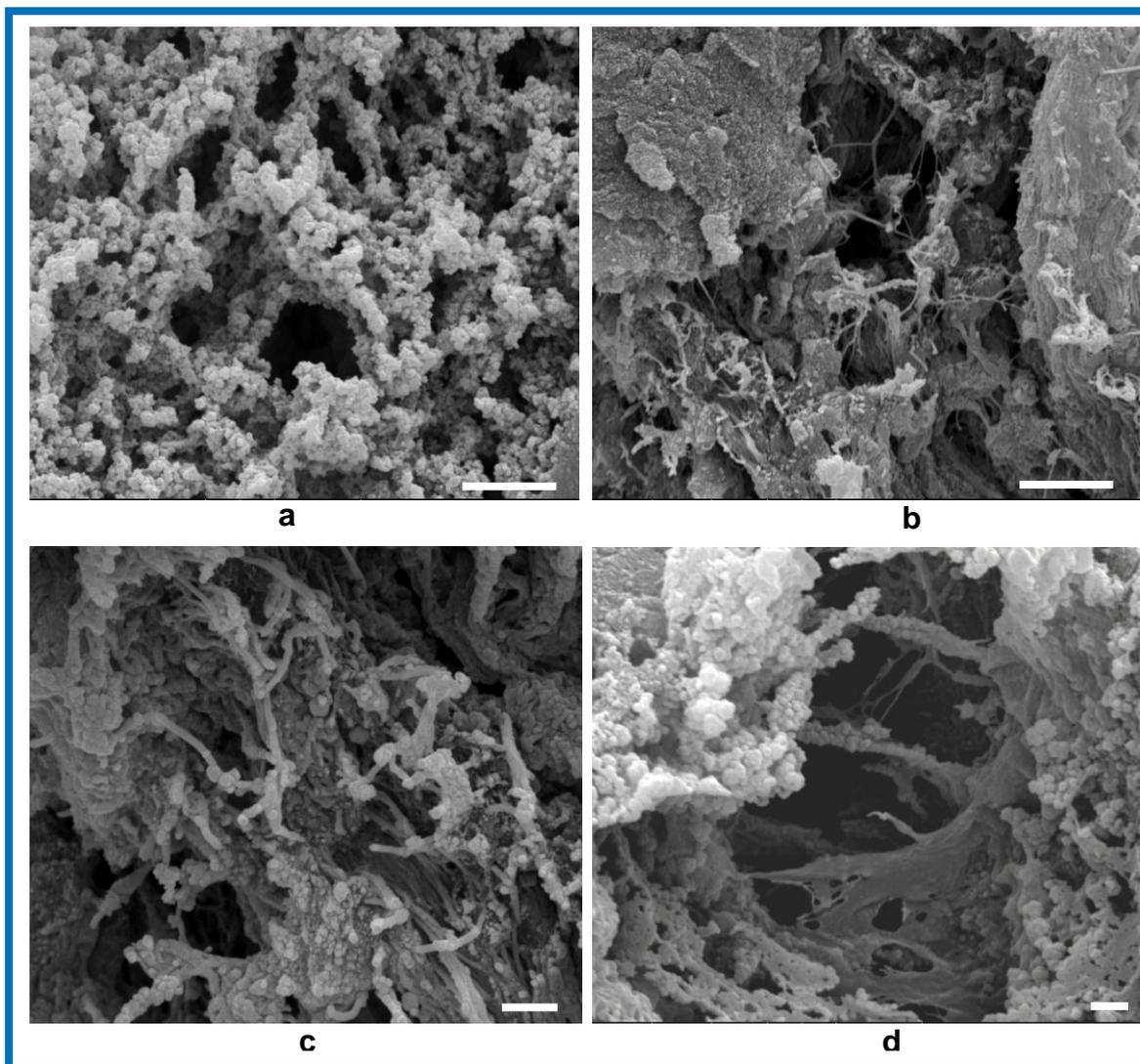


Figura 6.15. Micrografías SEM representativas obtenidas de la formulación 2.
a, b) Barra = 5 μm ; **c, d)** Barra = 1 μm .

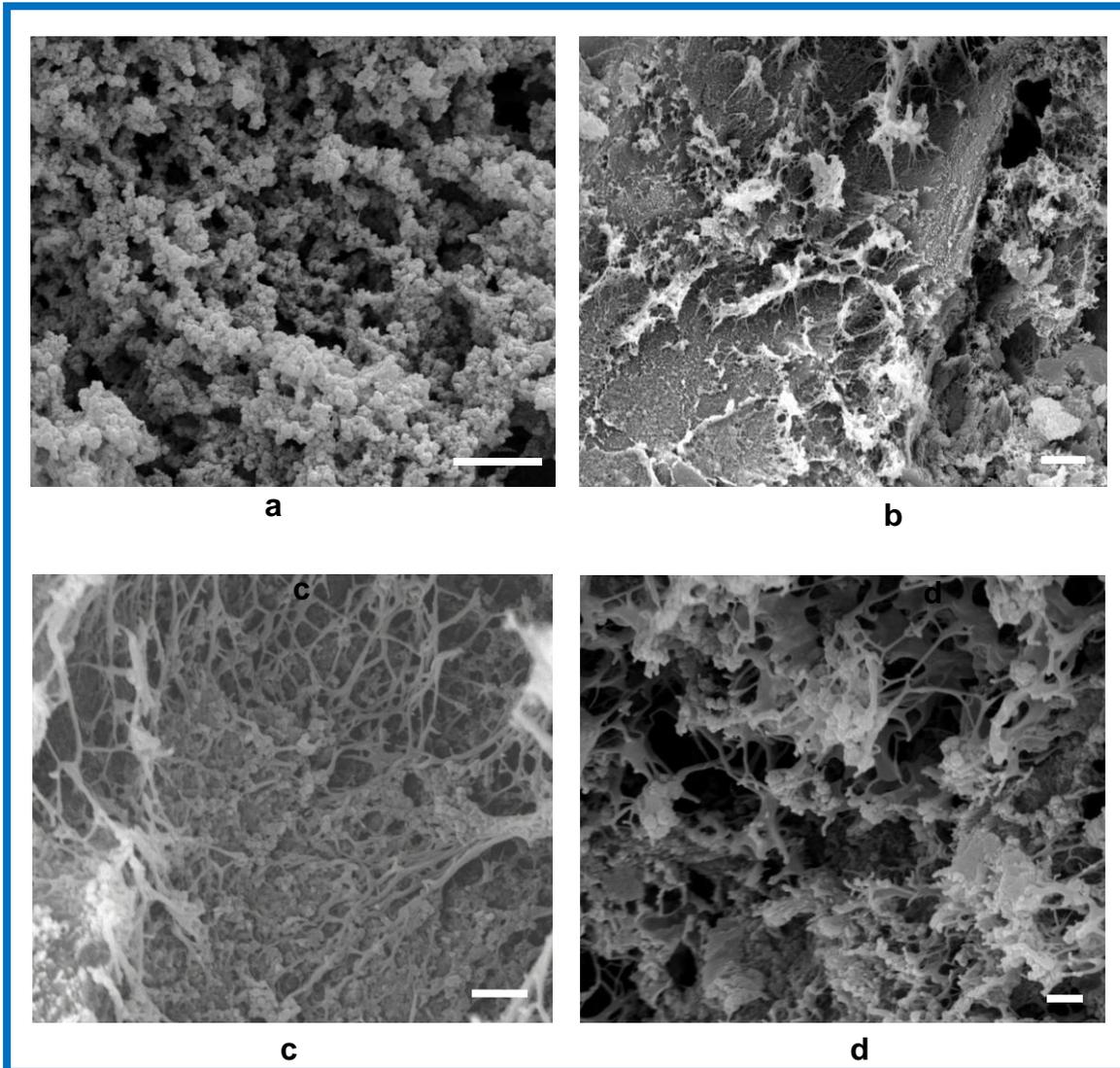


Figura 6.16. Micrografías SEM representativas obtenidas de la formulación optimizada reducida en sodio. **a, b)** Barra = 5 μm ; **c, d)** Barra = 1 μm .

Las micrografías de las salchichas magras obtenidas por SEM (Figura 6.15 y 6.16), no reflejaron diferencias apreciables entre la formulación 2 y la optimizada reducida en sodio. Se pudo observar para ambas formulaciones, principalmente una matriz continua tipo gel cárnico (6.15a y 6.16a) y asociado a ella, una red filamentosa discontinua (6.15b y 6.16b) que puede deberse a la incorporación de carragenanos o proteínas de leche al sistema. Esta estructura se corresponde con el modelo de geles mixtos donde el componente minoritario ocupa los huecos generados por el gel principal, reforzando de esta manera la estructura.

Las micrografías 6.15 y 6.16, b y c, muestran con mayor detalle estas estructuras discontinuas, donde puede observarse que la matriz del sistema estudiado responde al modelo de gel compuesto. En las Figuras 6.15c y 6.16c se aprecia una red con una

estructura compuesta por filamentos y fracciones globulares asociadas, mientras que en las 6.15d y 6.16d se destacan estructuras laminares asociadas a los mismos.

Andrés y col. (2009) estudiaron salchichas magras de pollo y adjudicaron este tipo de estructuras al agregado de proteínas de suero lácteo y gomas xántica y guar. La matriz discontinua observada en estas formulaciones podría atribuirse al gel formado por los carragenanos, teniendo en cuenta el nivel empleado en estas formulaciones (0.593 g/100g). Estos resultados están en concordancia con lo reportado por Ayadi y col. (2007) quienes informaron que a concentraciones bajas de carragenanos en sistemas cárnicos (0.2-0.5 g/100g) la red formada por este hidrocoloide se dispone de forma discontinua, mientras que a niveles más elevados (0.8-1.5 g/100g), estos formarían una red tridimensional continua.

6.4.5.2. Cuantificación de sodio y potasio en los productos

En la Tabla 6.14 se muestran los valores de sodio y potasio determinados por fotometría de llama en las formulaciones evaluadas, así como los niveles de estos iones calculados según todas las sales incorporadas a la formulación que los aportan (NaCl, KCl, TPP, NaNO₂ y eritorbato sódico).

Tabla 6.14. Contenido de Na⁺ y K⁺ determinados en las formulaciones y valores calculados según las sales agregadas en la formulación correspondiente.*

| Formulación | Na ⁺ (mg/100g) | | K ⁺ (mg/100g) | |
|--------------------|------------------------------|----------|-----------------------------|----------|
| | cuantificado | agregado | cuantificado | agregado |
| Optimizada-Na 2 | 644 ^a ± 7 | 593 | 219 ^c ± 8 | 0 |
| 7 | 466 ^b ± 8 | 421 | 418 ^b ± 8 | 157 |
| 10 | 374 ^c ± 9 | 318 | 633 ^a ± 5 | 366 |
| Optimizada Na/K | 393 ^c ± 9 | 346 | 523 ^d ± 11 | 258 |

*Medias en la misma columna con distinto supraíndice, presentan diferencias significativas (P < 0.05).

Los valores de Na⁺ y K⁺ cuantificados en los productos, como era esperado, resultaron ser superiores a los incorporados en cada formulación debido a los niveles de estos iones presentes principalmente en la carne, y en menor medida en el resto de los

componentes. Las correlaciones encontradas (Figura 6.18) entre los niveles de los iones sodio y potasio cuantificados y agregados para las formulaciones estudiadas fueron adecuadas ($R^2 \text{ Na}^+ = 0.998$; $R^2 \text{ K}^+ = 0.995$). Se calcularon los niveles basales de estos iones, por extrapolación de los resultados obtenidos resultando ser: $\text{Na}^+ = 52.4 \text{ mg/100g}$ y $\text{K}^+ = 228 \text{ mg/100g}$.

Si se asume que los niveles basales de sodio y potasio provienen de la carne como fuente única, ya que es el componente principal del producto, los niveles de los correspondientes iones para la carne serían: $\text{Na}^+ = 78.5 \text{ mg/100g}$ carne y $\text{K}^+ = 342 \text{ mg/100g}$ carne. Estos niveles están en concordancia con lo informado por USDA (2013) para carne con 5% de grasa ($\text{Na}^+ = 66 \text{ mg/100g}$ carne y $\text{K}^+ = 346 \text{ mg/100g}$ carne).

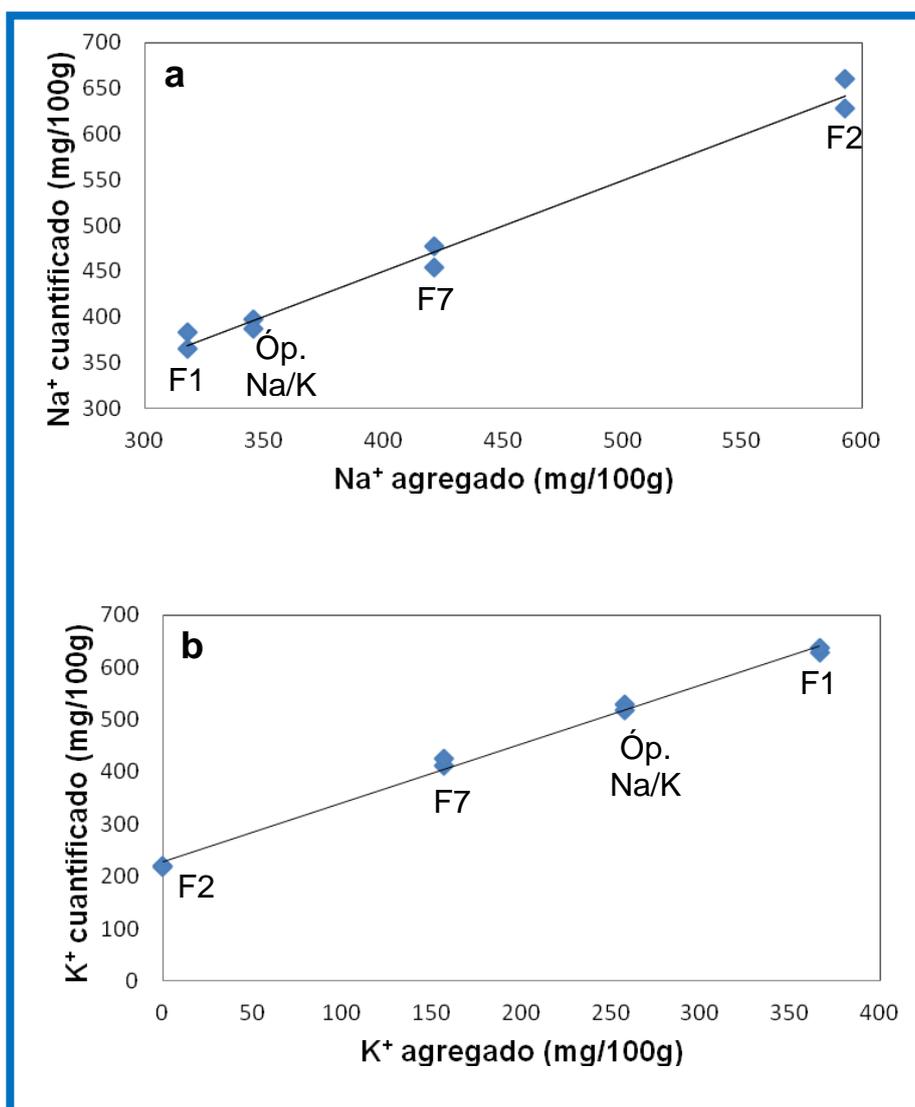


Figura 6.18. Relación entre los iones cuantificados y agregados en las formulaciones. a) Sodio (Na^+); b) Potasio (K^+). Códigos: F2-7-10-Óp. Na/K = Formulación 2, 7,10 y la optimizada reducida en sodio, respectivamente.

Para todas las formulaciones estudiadas en esta **Tesis**, se emplearon niveles bajos de sal. Por lo tanto, la cantidad de sal incorporada en la formulación 2 resultó sensiblemente menor que los contenidos de sal comúnmente empleados en los productos tradicionales, que pueden variar entre 2 - 3% de NaCl ó 750 - 1200 mg/100g Na⁺. Considerando estos niveles, la formulación 2 sin reemplazo de NaCl, presenta una reducción en el contenido de Na⁺ de 15 - 46% respecto a un producto tradicional.

Por otra parte, los niveles de Na⁺ de la formulación optimizada reducida en sodio resultaron ser significativamente menores que los de la formulación 2, reflejando una reducción de un 39% de su contenido. Por lo tanto el empleo de la combinación de sales optimizada, implicaría una reducción de sodio de un 53 - 71% respecto a las formulaciones tradicionales comerciales. Estos niveles de sodio resultan marcadamente inferiores a los sugeridos por el programa “Menos sal más vida” (Ministerio de Salud, 2011b), que propone para el grupo de chacinados cocidos embutidos (que incluye a las salchichas) una reducción mínima de un 8% del contenido máximo de sodio. Lo que representaría actualmente bajar de 1300 mg Na⁺/100g a 1196 mg/100g producto.

6.4.5.3. Ensayo de aceptabilidad por consumidores

La sal (NaCl) es un ingrediente multifuncional en este tipo de productos, puede actuar como conservante, asegurar diversas características funcionales favorables, y mejorar el sabor (Gillette, 1985). Además suprime los sabores desagradables (off-flavors) mediante la notable capacidad del sodio para inhibir el sabor amargo de muchos compuestos en alimentos, incrementando los atributos de sabor más positivos, sin contribuir exclusivamente a la percepción del salado.

Por lo tanto, las acciones destinadas a reducir la cantidad de sal en alimentos deben lidiar no sólo con la disminución del sabor salado percibido, sino también con la forma en que la reducción de sal impacta en otros atributos de sabor. Ruusunen y Puolanne (2005) afirmaron que el nivel de NaCl en la dieta tradicional de una población, por su asociado sabor salado, determina el nivel máximo que el contenido de NaCl puede ser reducido. Consecuentemente, la reducción del contenido de sodio de los productos puede no ser igualmente aceptado por todas las poblaciones.

Se analizó el puntaje medio obtenido para cada atributo sensorial y se determinó el porcentaje de los consumidores que indicó en la escala hedónica valores mayores a 5 (“me es indiferente”), a partir del cual se considera que al consumidor le gusta el atributo evaluado del producto. En la Tabla 6.16 se muestran los resultados obtenidos para las tres formulaciones estudiadas.

Tabla 6.16. Atributos sensoriales obtenidos para las diferentes formulaciones analizadas.*

| Formulación | Apariencia | Color | Sabor | Textura | Aceptabilidad |
|-----------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Optimizada-Na | 7.3 ^a ± 0.2 (100) | 7.7 ^a ± 0.2 (96.3) | 5.3 ^a ± 0.3 (59.3) | 5.7 ^a ± 0.3 (74.1) | 5.8 ^a ± 0.3 (70.4) |
| Optimizada-Na/K | 6.7 ^b ± 0.2 (88.9) | 6.3 ^b ± 0.3 (85.2) | 5.2 ^a ± 0.3 (55.6) | 5.7 ^a ± 0.3 (77.8) | 5.4 ^a ± 0.3 (63) |
| Control | 5.9 ^b ± 0.3 (94.1) | 5.5 ^c ± 0.3 (66.7) | 5.7 ^a ± 0.3 (66.7) | 6.0 ^a ± 0.3 (74.1) | 5.7 ^a ± 0.3 (70.4) |

*Entre paréntesis se indica el % de evaluadores que informó un valor superior a 5.

El análisis de los resultados obtenidos indicó que, para las tres formulaciones estudiadas, todos los atributos evaluados fueron aceptados (> 5) por los panelistas. El panel no entrenado no encontró diferencias significativas en los atributos sabor, textura y aceptabilidad general de las formulaciones. Solamente se encontraron diferencias significativas en los parámetros apariencia y color, evidenciando el mayor efecto de este último sobre la evaluación de la apariencia, y no evidenciando una observación de diferencias estructurales en la matriz.

Al compararse los resultados encontrados entre las formulaciones con variación del aceite empleado, puede observarse que la incorporación del aceite de pescado deodorizado en el producto no resultó significativa ($P > 0.05$) en el atributo sabor, indicando que podría emplearse como fuente de ácidos graso poli-insaturados en este tipo de productos, sin deterioro en este parámetro sensorial.

Si se consideran las formulaciones con aceite de pescado deodorizado y diferente combinación de sales, se corroboró que los productos obtenidos lograron características de sabor y textura aceptadas por el panel, indicando que la reducción de sodio no fue detectada, mediante estos parámetros.

Estos ensayos sensoriales indican que en el sistema cárnico estudiado, resulta posible reemplazar la fase grasa por aceite de pescado, y reducir el contenido de NaCl, empleando KCl logrando productos más saludables respecto a los tradicionales.

6.5. Conclusiones del Capítulo

- La modificación de las sales alteró la interacción matriz-agua, dichas modificaciones fueron caracterizadas empleando MDSC y ensayos oscilatorios termo-reológicos. Se observó que el incremento del nivel de potasio incrementaba

las interacciones matriz-agua en detrimento de las interacciones de la matriz.

- El diseño de mezclas y la metodología de superficie de respuesta permitieron realizar modelados matemáticos de diversos parámetros fisicoquímicos y de calidad de productos cárnicos emulsionados magros cocidos conteniendo aceite de pescado y fitoesteroles como una función del contenido de NaCl, KCl y TPP.
- Las respuestas de interés fueron el rendimiento, la dureza, elasticidad masticabilidad y luminosidad de las muestras. Estos atributos fueron los más afectados por los cambios en la combinación de sales.
- La metodología de función objetivo se aplicó para encontrar la formulación óptima y las respuestas pronosticadas fueron validadas experimentalmente.
- El reemplazo de cloruro de sodio por cloruro de potasio y tripolifosfato de sodio permitió obtener productos con aceptables parámetros sensoriales similares al control no sustituido.
- La formulación optimizada permitió obtener un producto reducido en grasa y sodio (entre 53 - 71% respecto a las formulaciones tradicionales comerciales) con características fisicoquímicas y de calidad similares a uno tradicional pero con una superior calidad nutricional, como consecuencia de la sustitución de la grasa con aceite de pescado y la incorporación de cloruro de potasio para reemplazar parcialmente la sal sódica.

CAPÍTULO 7

**Efecto del reemplazo de sodio sobre el almacenamiento
de geles cárnicos emulsionados con aceite de pescado y
fitoesteroles**

7.1. Introducción

7.1.1. Funcionalidad del NaCl en productos cárnicos almacenados

Las sales se encuentran comúnmente presentes en los alimentos como componentes naturales, ingredientes o aditivos. Se añaden a los alimentos para un gran número de propósitos funcionales. Por ejemplo, como aromatizantes, agentes de control de pH o antimicrobianos, y otros, como antioxidantes y emulsionantes (Lindsay, 1996).

El uso de la NaCl en la conservación se originó antes de la utilización de la refrigeración. El desarrollo de las tecnologías como la refrigeración y el envasado contribuyeron a una reducción de los niveles de sal, pero sigue siendo un componente esencial en la preservación de algunos productos cárnicos, como los productos curados. El agregado de sal a los productos cárnicos contribuye a la sustitución de la flora natural de carne por lactobacilos y micrococos, lo que disminuye el ritmo de deterioro de estos productos (Matthews y Strong, 2005).

Actualmente el NaCl todavía contribuye junto con otros conservantes y mecanismos tecnológicos a la producción de un producto final seguro (Hutton 2002). El principal proceso por el que esto se logra es la reducción de la a_w , parámetro que depende del nivel de NaCl en la fase acuosa dentro de un producto.

La estabilidad microbiológica global de un producto, también depende de la interacción con el pH, la temperatura y otros factores. Por otro lado, en productos envasados al vacío o en atmósfera modificada la exclusión del oxígeno resulta en un riesgo de desarrollo *Clostridium botulinum*. El agregado de NaCl es uno de los medios que se pueden emplear para suprimir el crecimiento de este patógeno y por lo tanto, extender la vida útil de estos productos. Sin embargo, la acción bactericida principal que impide el desarrollo del *C. botulinum* se debe al agregado de NaNO_2 . Se ha informado que el nitrito sódico incorporado a embutidos tiene la capacidad de inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos, aportar sabor y color a la carne, y contribuir a la inhibición de la oxidación de los lípidos que conduce a la rancidez (Sindelar y Milkowski, 2012).

Betts y Everis (2003) modelaron los efectos de la reducción de los niveles de NaCl en el crecimiento de distintos microorganismos en diversas matrices cárnicas (tocino, jamón, salchichas y hamburguesas). Este trabajo pone en relieve una preocupación particular por el consecuente aumento del crecimiento de *Salmonella spp.*, *Escherichia coli* O157 y *Clostridium botulinum* en las carnes curadas, y de este último en los embutidos, asociados a esta reducción de sal.

7.1.2. Posibles consecuencias del reemplazo o reducción del NaCl en productos cárnicos

A pesar de la importancia de la oxidación lipídica sobre la vida útil de los alimentos, se sabe poco sobre el efecto de la presencia de diferentes iones sobre dicha alteración, así como el reemplazo de NaCl por otras sales

La mayoría de los estudios evalúan el efecto de NaCl, sin embargo, los datos de la literatura resultan contradictorios debido a que los sistemas estudiados no siempre son equivalentes.

Algunos autores le adjudican al NaCl un efecto pro-oxidante (Matlock y col., 1984; Kanner y col., 1991; Osinchak y col., 1992) debido a su capacidad para aumentar la actividad catalítica del hierro en diversos sistemas cárnicos (salchichas de cerdo; músculo de pavo y músculo de pescado (*Rastrelliger brachysoma*), respectivamente).

Por otro lado, Mei y col. (1998) han reportado su efecto antioxidante, ya que estudiaron la oxidación lipídica catalizada por Fe^{+2} en emulsiones con aceite de salmón y distintos niveles de NaCl, encontrando que la adición de sal disminuyó la oxidación. Dicho efecto fue adjudicado a la disminución de las interacciones hierro-lípidos, posiblemente a través de la capacidad del sodio de afectar esta interacción, o por la formación de complejos Fe-Cl, que disminuyen la disponibilidad del mismo.

Por último, también se ha reportado que el NaCl no afectó el proceso de oxidación lipídica en aceite de palma sometido a un proceso de fritura (Okiy y Oke, 1984). Un estudio realizado por Calligaris y Nicoli (2006) en aceite de soja reflejó que no existen diferencias significativas entre el KCl y el NaCl sobre la oxidación lipídica debido a que el efecto antioxidante/pro-oxidante de estas sales fue atribuido al efecto caotrópico del Cl^- . Por lo tanto resulta difícil de predecir el comportamiento de estos sistemas con un contenido de sodio reducido.

La hipótesis de que las especies iónicas podrían afectar a la estabilidad de los lípidos esta sustentada por el hecho de que los iones caotrópicos son capaces de desestabilizar la estructura de bicapa lipídica de las membranas celulares mediante la reducción de la energía requerida para exponer los grupos no polares dentro de la membrana (Cacace y col., 1997). Se puede especular que los iones podrían interactuar con los lípidos sometidos a la oxidación y dado que los hidroperóxidos son más polares que los lípidos (Nuchi y col., 2002), las especies iónicas podrían alterar la conformación de hidroperóxidos y la modificación de la cinética de la oxidación lipídica (Calligaris y Nicoli, 2006).

7.2. Objetivos específicos del Capítulo

Durante el almacenamiento al vacío refrigerado de emulsiones cárnicas magras gelificadas con un contenido de sodio reducido pueden producirse modificaciones en sus parámetros de calidad, (pérdida de peso, textura, color, oxidación lipídica, desarrollo microbiano y calidad sanitaria), que pueden limitar la vida útil del producto. El reemplazo parcial de sodio por potasio en el sistema puede producir efectos distintos a los estudiados en el **Capítulo 5**, por lo que resulta importante asegurar la calidad de este producto durante los 45 días de almacenamiento.

Por lo tanto, utilizando la formulación optimizada reducida en sodio predicha en el **Capítulo 6**, se propuso:

1. Evaluar los parámetros de calidad (exudado, textura, color) de los productos optimizados reducidos en sodio durante su almacenamiento bajo vacío refrigerado de 45 días, ya que de producirse alteraciones se podrían ver reflejada en la aceptabilidad de los consumidores; así como comparar los resultados con la formulación optimizada sin reducción empleada como control,.
2. Evaluar el desarrollo microbiano, pH y presencia o ausencia de patógenos para asegurar la calidad microbiológica de los productos durante su almacenamiento.
3. Estudiar el efecto de la incorporación de antioxidantes naturales sobre la estabilidad oxidativa del producto de contenido de sodio reducido durante los 45 días de almacenamiento bajo vacío a 4°C, comparando con una formulación reducida en sodio control sin antioxidante, y evaluar los posibles cambios en el perfil de ácidos grasos en el producto.

7.3. Materiales y Métodos

7.3.1. Materiales

Los materiales empleados en este **Capítulo** fueron similares a los previamente descriptos en la sección **6.3.1**. El aceite empleado en este ensayo fue provisto por OmegaSur S.A. (Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina) y consistió de un lote de aceite de calamar refinado deodorizado sin agregado de antioxidantes por el productor.

7.3.2. Diseño experimental

El diseño experimental propuesto en este **Capítulo** se realizó considerando los resultados obtenidos en los **Capítulos 5 y 6**.

Se elaboraron y evaluaron tres formulaciones optimizadas reducidas en sodio según **Capítulo** anterior, incorporando en dos de ellas distintos niveles de mezcla de tocoferoles

naturales (Tocomix 70, Advanced Organic Materials, Buenos Aires, Argentina) como antioxidantes agregados en el aceite (T1 Na/K y T2 Na/K según Tabla 7.1). Se eligió el nivel máximo estudiado anteriormente (**Capítulo 5**) y un nivel intermedio no evaluado previamente, según los resultados antes observados. La formulación restante no incluyó tocoferoles (T0 Na/K).

Tabla 7.1. Niveles de sales y de tocoferoles (incorporados en el aceite) de las formulaciones almacenadas estudiadas.

| Formulación | NaCl (g/100g) | KCl (g/100g) | TPP (g/100g) | Mezcla de tocoferoles naturales (mg/100g) |
|-------------|------------------|-----------------|-----------------|--|
| T1 Na | 1.4 | 0 | 0.2 | 3.75 |
| T0 Na/K | 0.608 | 0.492 | 0.5 | - |
| T1 Na/K | 0.608 | 0.492 | 0.5 | 3.75 |
| T2 Na/K | 0.608 | 0.492 | 0.5 | 5 |

Se preparó también la formulación optimizada sin reducción de sodio equivalente a las estudiadas en el **Capítulo 5**, pero con un nivel de tocoferoles intermedio entre los estudiados previamente (T1-Na, 3.75 mg/100g), a fin de completar el diseño y basado en los resultados anteriormente obtenidos. En la Tabla 7.2 se muestran los niveles de los componentes comunes a las cuatro formulaciones evaluadas.

Tabla 7.2. Composición porcentual de las formulaciones estudiadas.

| Componente | g/100g |
|----------------------------|--------|
| Carne (nalga) | 66.66 |
| Agua destilada | 25.00 |
| Aceite de pescado* | 5.00 |
| Sales (NaCl + KCl + TPP)** | 1.60 |
| Fitoesteroles | 0.5 |
| κ/i-Carragenanos | 0.593 |
| Proteínas de leche | 0.320 |
| Pimienta | 0.20 |
| Nuez moscada | 0.05 |
| Glutamato monosódico | 0.02 |
| Eritorbato de sodio | 0.045 |

| | |
|-------------------------|--------|
| NaNO₂ | 0.015 |
| Colorante | 0.0032 |

*Conteniendo o no los tocoferoles disueltos

**Combinación según Tabla 7.1.

7.3.3. Elaboración de los productos

Para la elaboración de las muestras se siguió el protocolo descrito en 4.3.2. El aceite fue dividido en cuatro lotes, tres fueron adicionados con el nivel correspondiente de antioxidante según Tabla 7.1. El cuarto lote se mantuvo sin antioxidante como control. Posteriormente fueron almacenados a -20°C hasta su utilización para la producción de salchichas magras con aceite de pescado.

7.3.4. Almacenamiento

Una vez elaboradas, las salchichas fueron envasadas bajo vacío en bolsas Cryovac BB4L (Sealed Air Co., Buenos Aires, Argentina; PO₂: 35 cm³ m⁻² día⁻¹ bar⁻¹ a 23°C), dos unidades por envasae, y almacenadas a 4°C durante un período máximo de 45 días, el cual se corresponde con el tiempo de almacenamiento de un producto tradicional elaborado con grasa vacuna. A distintos tiempos de almacenamiento se tomaron muestras para realizar los distintos ensayos.

7.3.5. Parámetros evaluados durante el almacenamiento

Sobre los geles cárnicos emulsionados obtenidos se realizaron las siguientes observaciones:

- Exudado, según 5.3.3.1.
- Análisis de perfil de textura (TPA), según 3.3.4.3.
- Color según 3.3.4.4.
- Determinación de pH según 5.3.3.3.
- Ensayos microbiológicos según 5.3.3.4.
- Oxidación lipídica según 5.3.3.5.
- Perfil de ácidos grasos.
- Análisis de composición centesimal y nutricional según 3.33

7.3.5.1 Determinación del perfil de ácidos grasos.

La determinación del perfil de ácidos grasos de las muestras estudiadas en este Capítulo fue realizado por el servicio a terceros del laboratorio del Programa de Prevención del Infarto en la Argentina (PROPIA).

Se saponificó durante 60 minutos con 10% de KOH en metanol para separar el colesterol y otros esteroides que pudieran estar presentes. Los esteroides se extrajeron con éter de petróleo (P_{eb} 35 – 60°C). El remanente de la saponificación se acidificó con HCl concentrado, los ácidos grasos libres se extrajeron con éter de petróleo y luego de evaporar hasta secar, se transformaron en metilésteres con BF_3 en metanol al 10%, a 80°C durante 30 minutos. Durante todo el procedimiento se mantuvo una atmósfera de nitrógeno por el mayor tiempo posible. Los metilésteres se extrajeron con éter de petróleo y se analizaron con un cromatógrafo Hewlett-Packard 6890 (Hewlett Packard, Palo Alto, CA, EE.UU.).

Todos los solventes y reactivos usados fueron de grado analítico. Se utilizaron estándares de metilésteres de ácidos grasos de 99% de pureza (NuCheck Prep. Inc, EE.UU.). La composición de ácidos grasos de los alimentos se obtuvo con una columna capilar (Chrompack CP SIL 88, de 50 m de longitud 50, i.d. 0.25 mm, 0.1- μ m film; Varian Inc., Palo Alto, CA, EE.UU.), mediante la comparación de los tiempos de retención relativos respecto de los estándares comerciales, obtenidos en las mismas condiciones.

7.3.5.2. Análisis estadístico

Los análisis de varianza se llevaron a cabo por separado para las variables dependientes del análisis de textura (dureza, cohesividad, adhesividad, elasticidad, masticabilidad, resiliencia), los parámetros de color (L^* , a^* , y b^*), pH, líquido exudado, recuentos microbianos, y los valores de TBARS. Se utilizó el ensayo de LSD (least significant differences) para estudiar las comparaciones pareadas de medias. Las diferencias entre medias y ensayos F se consideraron significativas cuando las probabilidades estimadas fueron inferiores a 0.05 ($P < 0.05$). Todos los procedimientos estadísticos se llevaron a cabo mediante el software SYSTAT (SYSTAT, Inc., Evanston, IL, EE.UU.). Los resultados experimentales se informaron como valor medio \pm el error estándar de la media.

7.4. Resultados y Discusión

7.4.1. Exudado

En la Figura 7.1 se muestran resultados obtenidos para el exudado de las formulaciones almacenadas. Como puede observarse, la modificación de la proporción de sales empleada produjo diferencias significativas en la cantidad de líquido liberado durante el almacenamiento refrigerado de las muestras. El rango de valores obtenidos (0.75 - 5.4 g/100g) resulta similar al informado por otros autores para salchichas magras (Colmenero y col. 2005; Barbut, 2008; Andrés y col., 2009).

Los resultados obtenidos para el exudado demostraron que hasta el día 20 de almacenamiento no se registraron diferencias significativas entre las cuatro formulaciones ensayadas ($P > 0.05$) y en todos los casos el incremento en el exudado fue mayor hasta el día 20, de forma similar a lo observado en el ensayo de almacenamiento descrito en el **Capítulo 5**, hasta el día 20. Después de este momento ($t = 20$ d), los menores valores de exudado correspondieron a la formulación sin reducción de sodio (T1 Na) que permanecieron constantes, mientras que las tres formulaciones con sustitución de sodio por K^+ presentaron mayores exudados, con una menor pendiente pero no difirieron significativamente entre sí ($P > 0.05$) (Figura 7.1).

Los valores obtenidos para la formulación T1Na resultaron similares a los correspondientes en el ensayo de almacenamiento realizado en el **Capítulo 5**.

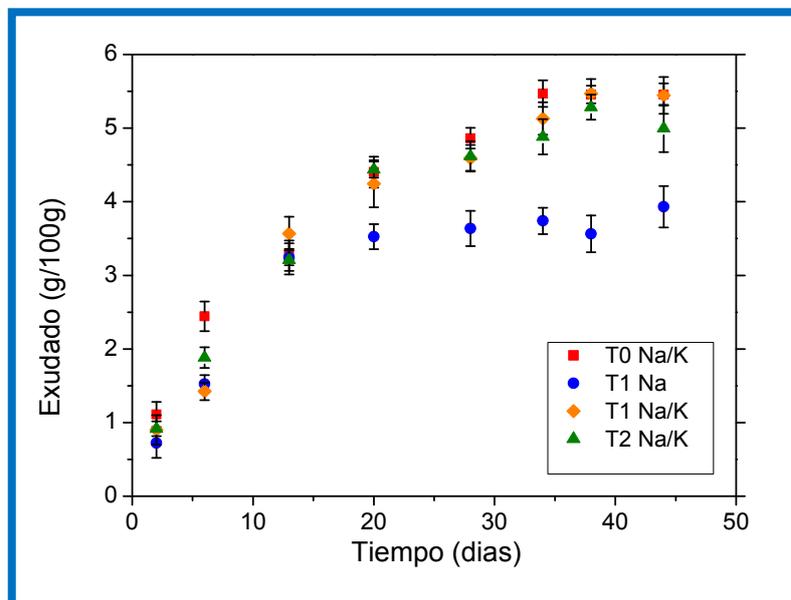


Figura 7.1. Variación del exudado durante el almacenamiento bajo vacío refrigerado de salchichas conteniendo aceite de pescado y diferentes sales y antioxidantes agregados.

Los valores más elevados de exudado de las formulaciones reducidas en sodio pueden explicarse por los bajos niveles de NaCl o altos de KCl en las mismas. Esto puede reducir la concentración de proteínas extraídas/solubilizadas que participan en la formación del gel emulsionado. La fuerza iónica más baja de las formulaciones con sodio reducido está asociada con una menor capacidad para solubilizar proteínas miofibrilares, que por lo general resulta en geles con menor capacidad de unión de agua y grasa.

Resultados similares han sido reportados por Colmenero y col. (2005), que estudiaron el efecto del NaCl, KCl y transglutaminasa en formulaciones de salchichas magras, encontrando que el reemplazo parcial del NaCl redujo las propiedades de unión de agua.

Sin embargo, López-López y col. (2009) encontraron que el reemplazo parcial de NaCl por KCl en emulsiones cárnicas con fibra de algas marinas no alteró la cantidad de líquido liberado durante un almacenamiento refrigerado de 41 días. De Freitas y col. (1997) informaron que la adición de KCl a salchichas de cerdo con carragenanos produjo un aumento del líquido exudado durante un almacenamiento congelado respecto a la formulaciones con NaCl.

Trius y col. (1994a,b) estudiaron pastas cárnicas informando que se produjo un aumento del exudado de agua y de grasa cuando se empleó KCl como reemplazo del NaCl. Estos autores propusieron que el KCl puede interactuar con las cadenas de κ -carragenanos resultando en la agregación de la estructura de hélice de los mismos, con una mayor liberación de agua y una textura más blanda. Este efecto fue mayor cuando se añadió fosfato de sodio; los resultados obtenidos son comúnmente observados en este tipo de productos.

7.4.2. Perfil de textura

Del estudio de los perfiles de textura de los productos se observó que algunos parámetros no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) con el tiempo de almacenamiento o formulación estudiada (valores medios: elasticidad = 0.847 ± 0.006 mm/mm; cohesividad = 0.574 ± 0.006 J/J y adhesividad = $28.4 \times 10^{-3} \pm 0.3 \times 10^{-3}$ J), indicando que el reemplazo del sodio por potasio en la formulación, así como el almacenamiento refrigerado al vacío por 45 días, no alteraron estas características del producto.

Los resultados obtenidos para la dureza, masticabilidad y resiliencia de los productos durante el almacenamiento se muestran en la Figuras 7.2, 7.3 y 7.4, respectivamente.

El análisis estadístico realizado reflejó diferencias en el parámetro dureza entre las formulaciones ensayadas y con el tiempo de almacenamiento ($P < 0.05$). Al inicio del almacenamiento la dureza de los productos reducidos en sodio fue inferior respecto a la formulación sin KCl. Luego se observó un incremento en la dureza de todas las formulaciones, de un 19.5% para los productos reducidos en sodio y de un 14.2% para los no reducidos, al final del almacenamiento (45 días).

Esto podría explicarse por los mayores exudados demostrados por parte de las formulaciones reducidas en sodio, que hicieron que, a pesar su menor dureza inicial, alcanzando un un mayor incremento en dureza llegando a valores similares a T1 Na ($P > 0.05$) a los 45 días de almacenamiento refrigerado.

Sin embargo, los valores finales de este parámetro para todas las formulaciones estudiadas resultaron aceptables y levemente superiores a los del producto tradicional

considerado, por lo que se puede entonces concluir que la sustitución de sodio por potasio logra productos adecuados.

Estos resultados se muestran en concordancia con lo informado por De Freitas y col., (1997) que observaron que la adición de KCl a salchichas de cerdo con carragenanos produjo una disminución de la dureza respecto de las formulaciones con NaCl. Estas diferencias fueron mayores cuando se incluyó TPP.

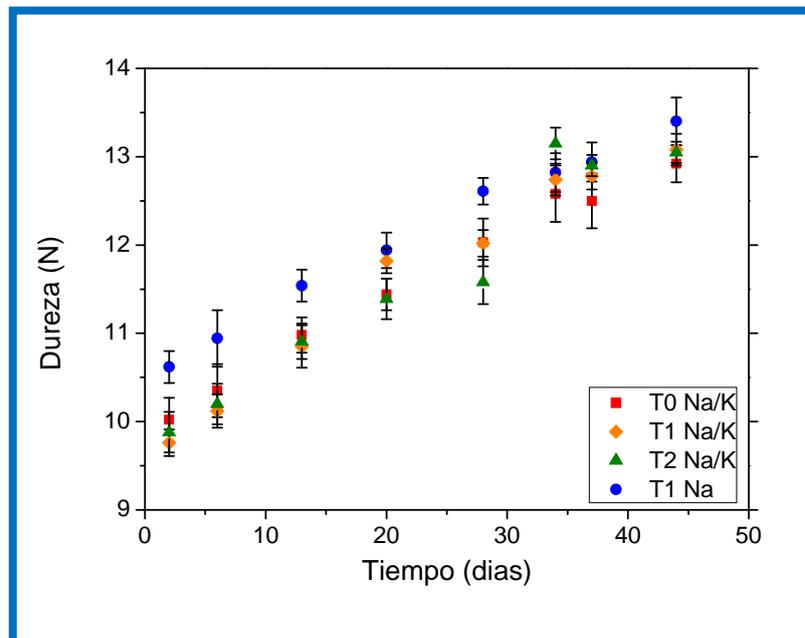


Figura 7.2. Variación de la dureza de salchichas conteniendo aceite de pescado y diferentes sales y antioxidantes agregados durante el almacenamiento refrigerado.

La masticabilidad presentó un comportamiento similar a la dureza, donde solamente se encontraron diferencias entre el Control sin reducción de sodio (T1 Na) y las formulaciones reducidas en sodio al inicio del almacenamiento, como se observa en la Figura 7.3.

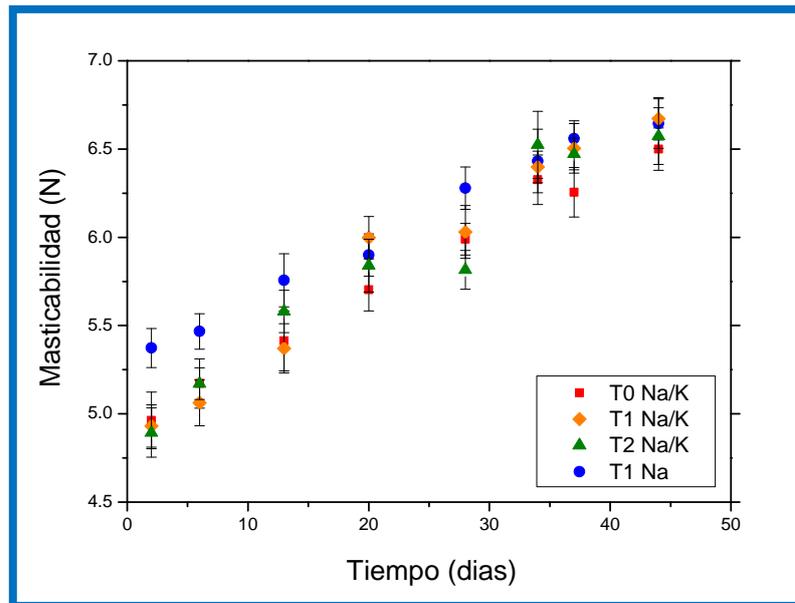


Figura 7.3. Variación de la masticabilidad durante el almacenamiento a 4°C de salchichas conteniendo aceite de pescado y diferentes sales y antioxidantes agregados.

Los valores de resiliencia no variaron entre las distintas formulaciones ($P > 0.05$) mientras que se observó un descenso significativo ($P < 0.05$) de la resiliencia con el tiempo de almacenamiento (Figura 7.4).

Entonces, pese al reemplazo de parte del Na^+ por K^+ , todos los parámetros texturales presentaron comportamientos adecuados a este tipo de productos.

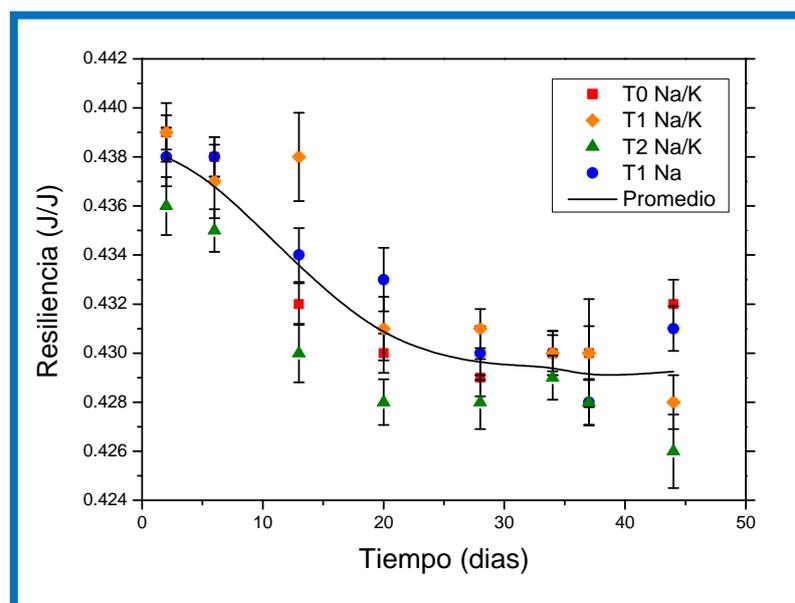


Figura 7.4. Variación de la resiliencia durante el almacenamiento de salchichas conteniendo aceite de pescado y diferentes sales y antioxidantes agregados.

7.4.3. Color

Los parámetros de cromaticidad a^* y b^* no reflejaron diferencias significativas ($P > 0.05$) con el tiempo de almacenamiento ni entre las formulaciones debido a la sustitución parcial del NaCl por potasio. Los valores medios de los parámetros cromaticos encontrados durante el almacenamiento para las formulaciones fueron: $a^* = 15.35 \pm 0.04\%$ y $b^* = 14.47 \pm 0.03\%$. Esto coincide con Horita y col. (2011) quienes estudiaron el reemplazo parcial de NaCl por diferentes combinaciones de sales (KCl , $MgCl_2$ y $CaCl_2$) en formulaciones de mortadela, sin observar modificaciones de los parámetros cromaticos a^* y b^* .

Por otra parte se encontró una disminución significativa en la luminosidad de las muestras con el tiempo de almacenamiento ($P < 0.05$) pero no se obtuvieron diferencias significativas entre formulaciones ($P > 0.05$). En la Figura 7.5 se presentan los valores de luminosidad para las cuatro formulaciones durante el almacenamiento refrigerado donde puede apreciarse lo antes mencionado.

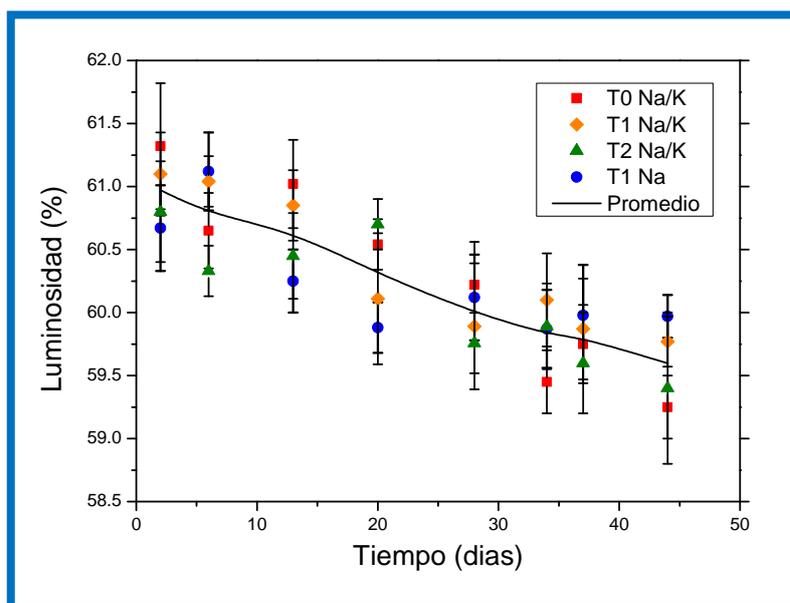


Figura 7.5. Variación de la Luminosidad durante el almacenamiento de salchichas conteniendo aceite de pescado y diferentes sales y antioxidantes agregados.

La disminución de la luminosidad observada puede ser explicada y asociada a la pérdida de agua de los productos (exudado) antes evaluada, lo que produce un aumento en la concentración de sólidos resultando en productos más oscuros (menor L^*). Estos cambios coinciden con lo informado por Andrés y col. (2009) y Cáceres y col. (2006) para salchichas magras de pollo con aceite de calamar y salchichas cárnicas enriquecidas en calico, respectivamente.

7.4.4. Ensayos microbiológicos

7.4.4.1. Recuentos microbianos

En las Figuras 7.6, 7.7 y 7.8 se muestran los resultados obtenidos para el desarrollo microbiano de las salchichas magras con aceite de pescado y fitoesteroles con distinta proporciones de sales.

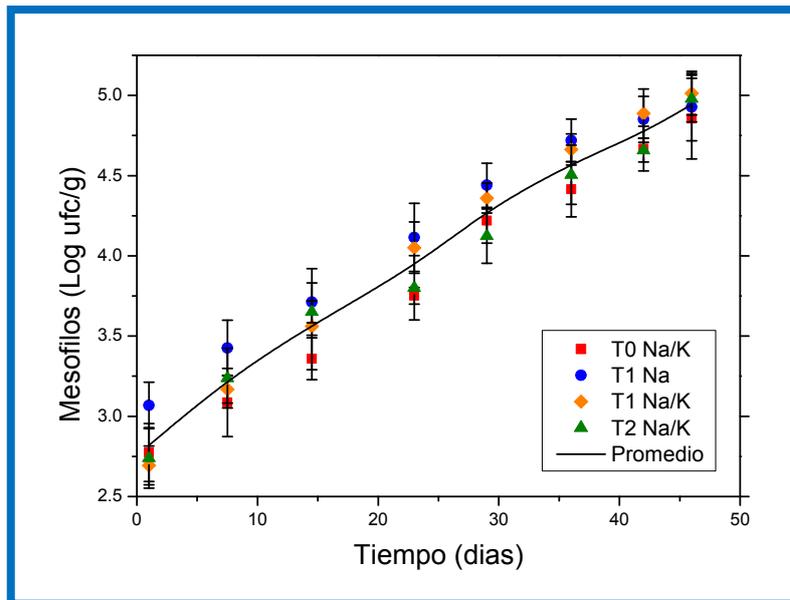


Figura 7.9. Recuento de microorganismos mesófilos totales de salchichas conteniendo aceite de pescado y diferentes sales y antioxidantes agregados.

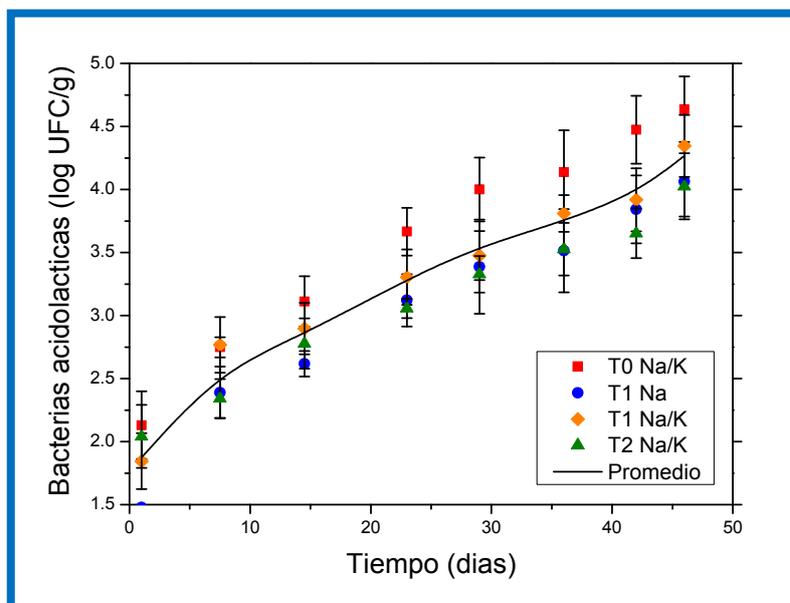


Figura 7.10. Recuento de bacterias ácido-lácticas de salchichas conteniendo aceite de pescado y diferentes sales y antioxidantes agregados.

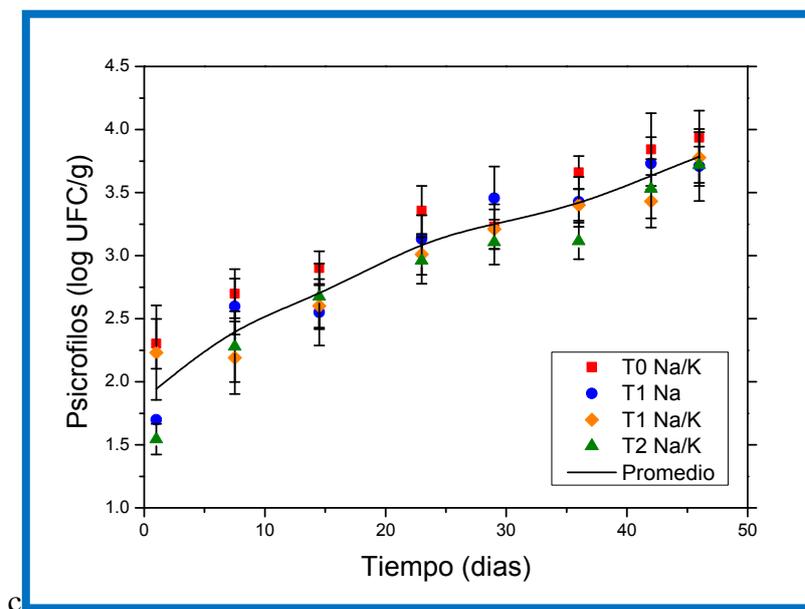


Figura 7.11. Recuento de microorganismos totales psicrótrofos de salchichas conteniendo aceite de pescado y diferentes sales y antioxidantes agregados.

Los resultados mostraron que el reemplazo parcial de sodio por potasio no afectó el desarrollo microbiano ya que no se observaron diferencias significativas entre las formulaciones ($P > 0.05$) para todos los grupos de microorganismos analizados.

Como se esperaba, en todos los casos la flora dominante pudo definirse como bacterias ácido-lácticas psicrótrofas, por el análisis conjunto de las Figuras 7.9, 7.10 y 7.11. Estos resultados están en concordancia con los obtenidos en el **Capítulo 5**. Sin embargo, los recuentos realizados en esta etapa reflejaron valores ligeramente superiores que los realizados previamente, esto puede ser explicado por las posibles diferencias en la materia prima (carne). De todos modos, los valores obtenidos para los productos estudiados en este **Capítulo** se encuentran dentro de los límites aceptados por el CAA (inferior a 5 log UFC/g, en el Art 302) durante todo el período de almacenamiento.

Los recuentos de hongos y levaduras y enterobacterias determinados resultaron siempre por debajo del límite de detección de la técnica empleada (< 2 log UFC/g). Los bajos recuentos de enterobacteria están asociados comúnmente a buenas condiciones sanitarias de elaboración del producto.

7.4.4.2. Evolución del pH de los productos almacenados

Los valores de pH obtenidos para este ensayo de almacenamiento resultaron semejantes a los obtenidos previamente. Se registró un descenso del pH con el tiempo de almacenamiento ($P < 0.05$) y no se registraron diferencias significativas entre las cuatro

formulaciones estudiadas ($P > 0.05$). En la Figura 7.12 se muestran los valores de pH determinados para las salchichas magras con distintas combinaciones de sales y antioxidantes durante el almacenamiento.

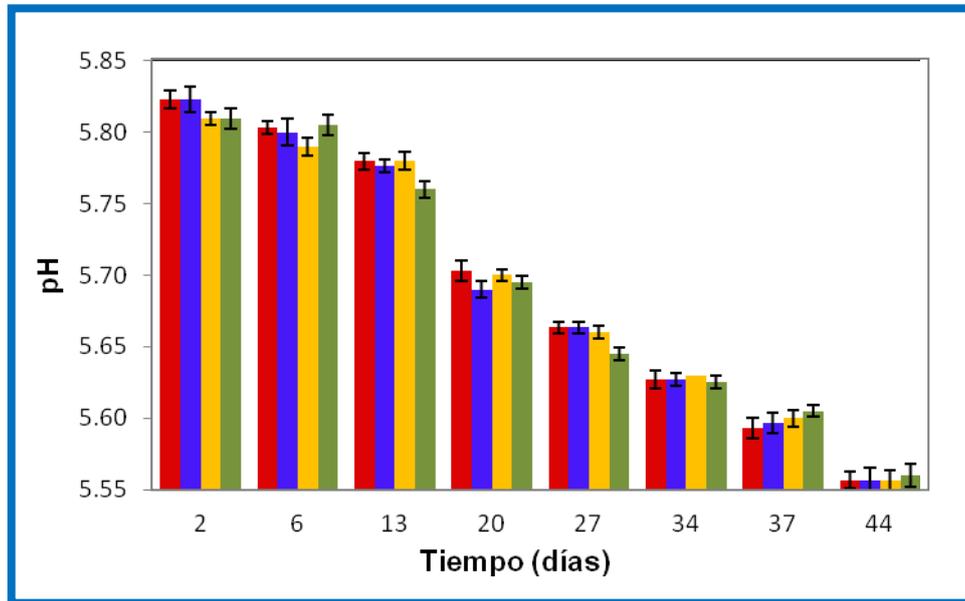


Figura 7.12. Variación de pH de salchichas magras formuladas con aceite de pescado y distintas sales y antioxidantes, envasadas al vacío durante el almacenamiento refrigerado.

Códigos: ■ T0 Na/K, ■ T1 Na/K, ■ T2 Na/K, ■ T1 Na

El descenso de pH observado puede ser adjudicado al crecimiento de bacterias ácido lácticas (BAL) como se discutió anteriormente.

La modificación en el pH puede explicar, en parte, también el incremento del exudado de las muestras. Al aumentar a concentración de H^+ , el pH se acerca al punto isoeléctrico de las proteínas cárnicas del sistema. En este punto se reducirían las interacciones proteína-agua, lo que generaría una disminución del líquido retenido por el sistema.

El pl de las proteínas cárnicas se sitúa a un pH = 5.0 (Hamm, 1972; Offer y Knight, 1988; Ruunsunen, 2005). Sin embargo la fuerza iónica del sistema puede alterar este valor de pl. Con el agregado de 2 g de NaCl/100g, el pl de proteínas cárnicas se desplaza a un pH = 4.0 y el pH de mayor hinchamiento de las miofibrillas se encuentra entre pH = 6.0 - 6.2 (Puolanne, 2001; Ruunsunen, 2005). El valor de pH inicial de las formulaciones analizadas (5.82) se encuentra más cercano a esta última condición, pH de máximo hinchamiento, mientras que luego de 45 días, el valor resulta algo más bajo.

7.4.4.3. Calidad sanitaria

Los ensayos de calidad sanitaria realizados al final del almacenamiento refrigerado (t = 45 días) proveen información complementaria a los recuentos microbianos y son empleados para estimar la tanto la calidad del proceso de elaboración como la aptitud para el consumo.

En la Tabla 7.3 se informan los valores encontrados de Clostridium sulfito-reductores y Coliformes totales en las formulaciones estudiadas.

Tabla 7.3. Niveles de Clostridium sulfito-reductores y Coliformes totales de salchichas con aceite de pescado y distinta combinación de sales y antioxidantes luego de 45 días de almacenamiento bajo vacío refrigerado.

| Formulación | Clostridium sulfito-reductores (log UFC/g) | Coliformes totales (NMP/g) |
|-------------|--|----------------------------|
| T1 Na | nd | 1.5 ± 0.10 |
| T0 Na/K | nd | 1.5 ± 0.10 |
| T1 Na/K | nd | nd |
| T2 Na/K | nd | 1.5 ± 0.10 |

*nd = no detectado

Como se puede observar, los valores determinados para recuentos de Clostridium sulfito-reductores y Coliformes totales cumplen con la normativa vigente establecida por el Art. 341 del CAA (2013) (recuento máximo de 100 ufc/g). Esto refleja buena calidad microbiológica de las salchichas bajas en grasa con aceite de pescado, tanto de las no reducidas como de las reducidas en sodio, almacenadas al vacío a 4°C durante 45 días.

7.4.5. Estabilidad lipídica

7.4.5.1. Estabilidad oxidativa

Los resultados obtenidos para los valores de TBARS mostraron diferencias significativas (P < 0.05) entre las formulaciones y con el tiempo de almacenamiento. Los resultados obtenidos en la evaluación de la estabilidad oxidativa de los productos con diferentes proporciones de sales y tocoferoles durante el almacenamiento al vacío y refrigerados se muestran en la Figura 7.13.

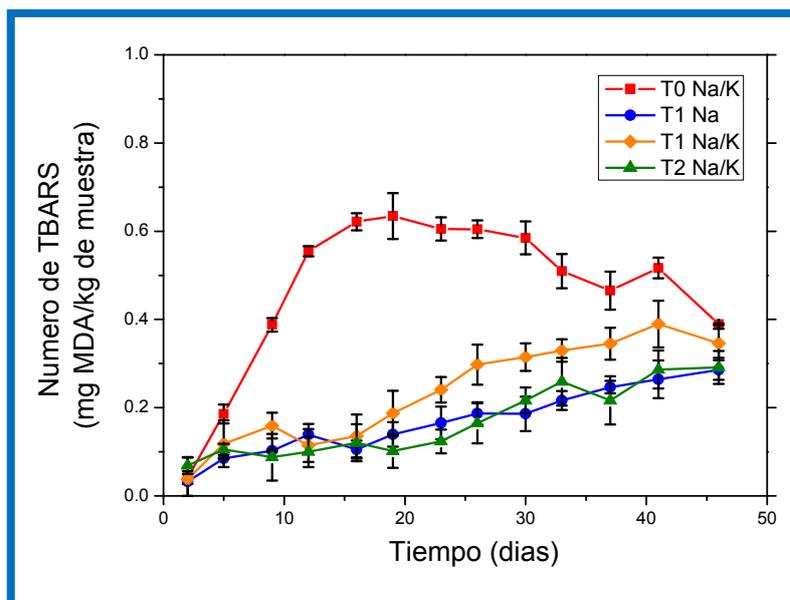


Figura 7.13. Evolución de las sustancias reactivas al ácido 2-tiobarbitúrico (TBARS) de salchichas magras con aceite de pescado con diferente combinación de sales sin o con tocoferoles envasadas bajo vacío durante el almacenamiento refrigerado.

La formulación T1 Na, conteniendo 3.75 mg/100g de tocoferoles presentó una evolución del número de TBARS similar a la obtenida con un mayor nivel de los mismos (5 mg/100g), según **Capítulo 5**, Figura 5.17. Por lo tanto para controlar el deterioro oxidativo en esta formulación sería suficiente emplear 3.75 mg/100g.

En la formulación T0 Na/K (reducida en sodio sin adición de tocoferoles) se observó un proceso oxidativo avanzado, alcanzando un máximo de TBARS entre los 18 - 20 días, a partir del cual estos niveles se redujeron. El patrón de evolución de TBARS durante el almacenamiento (un pico seguido de una disminución del valor TBARS) ha sido reportado durante el almacenamiento congelado de carne vacuna picada (Bhattacharya y col., 1988; Brewer y Wu, 1993) y resultó similar al obtenido previamente para la formulación sin antioxidante del **Capítulo 5**.

Si se consideran las formulaciones con igual nivel de tocoferoles agregados (3.75 mg/100g de muestra), T1 Na y T1 Na/K, el reemplazo parcial de NaCl por KCl y TPP mostró un efecto adverso al verse incrementado el número de TBARS entre los días 23 y 41, igualándose a los 45 días.

Estos resultados fueron similares a los reportados por Zanardi y col. (2010) quienes encontraron que un reemplazo parcial del NaCl por una combinación de KCl, MgCl₂ y CaCl₂ produjo un incremento del número de TBARS en salchichas fermentadas tipo salame. Asimismo, Flores y col. (2005) informaron que la sustitución parcial de NaCl por KCl en embutidos fermentados produjo un aumento en la oxidación lipídica.

El máximo nivel de tocoferoles incorporados a la formulación reducida en sodio (T2 Na/K) logró controlar la oxidación lipídica del producto, siendo la evolución de TBARS observada equivalente a la de la formulación T1 Na, sin sustitución de sodio y con un nivel más bajo de tocoferoles. Por lo tanto, el mayor contenido de tocoferoles en la formulación reducida en sodio resultó adecuado para contrarrestar el efecto adverso del potasio en este proceso de deterioro.

Cabe destacar que todas las formulaciones con tocoferoles (T1 Na, T1 Na/K y T2 Na/K) mostraron una adecuada estabilidad oxidativa, ya que la concentración de equivalentes de MDA fueron bajas (< 0.41 mg MDA/kg). Esto podría explicarse por la acción de varios factores. Además del propio efecto antioxidante de la mezcla de tocoferoles, se puede mencionar el proceso de envasado al vacío que disminuye apreciablemente la pO_2 que puede disminuir sensiblemente el proceso de deterioro oxidativo. Asimismo, la temperatura de refrigeración (4°C, con poca oscilación de la temperatura) y la condición de oscuridad durante todo el almacenamiento, pueden favorecer la estabilidad de los productos (Liu, y col., 2006; Mercadante y col., 2010). También los bajos niveles de aceite de pescado empleados (5 g/100g) limitan los máximos valores de TBARS que se pueden alcanzar.

Mercadante y col., (2010) quienes estudiaron la estabilidad fisicoquímica de salchichas con pigmentos naturales, obtuvieron valores de TBARS inferiores a 0.38 mg MDA/kg luego de 45 días de almacenamiento, que resultaron en productos con una calidad oxidativa aceptable, suficiente para no desarrollar sabores desagradables.

Finalmente se puede inferir que los resultados obtenidos indican que los cambios del color no dependen directamente del proceso oxidativo de las muestras sino de cambios fisicoquímicos, debido a que las modificaciones en el color de la formulación sin antioxidante fue similar al resto. Una tendencia similar fue reportada por Estevez y col. (2006) que estudiaron el efecto del almacenamiento de emulsiones cárnicas con distintos tipos de antioxidantes.

7.4.5.2. Perfil de ácidos grasos de los productos

La oxidación lipídica es una causa importante de deterioro de la calidad de los productos cárnicos durante el almacenamiento. Se han enumerado una serie de factores que determinan la magnitud de este fenómeno. Uno de los principales problemas asociados con las formulaciones saludables conteniendo altos niveles de ácidos grasos mono y poli-insaturados (AGMI y AGPI) es la susceptibilidad al proceso de deterioro oxidativo, que a su vez afecta a las características de calidad y tiene implicancias para la salud. Dicha susceptibilidad se ve incrementada con un mayor nivel de los ácidos grasos insaturados

(especialmente poli-insaturados), y también por algunas condiciones de procesamiento como cocción, secado, composición, etc., que pueden actuar como pro-oxidantes (Lee, Choi, y Moon, 2006).

En la Figura 7.14 se muestra, a modo de ejemplo, el análisis cromatográfico de la formulación T1 Na/K, reducida en sodio, correspondiente al inicio del almacenamiento bajo vacío, refrigerado.

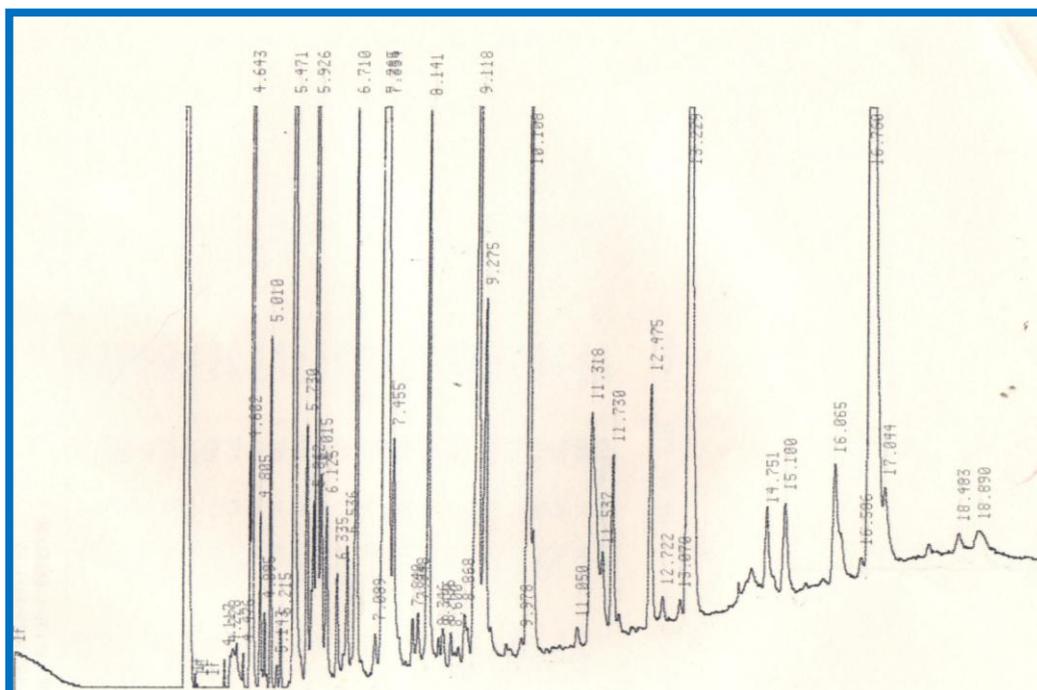


Figura 7.14. Señal de salida de la cromatografía de los ácidos grasos derivatizados de la muestra T1 Na/K al inicio del almacenamiento.

Los perfiles de ácidos grasos (g/100g) obtenidos para los productos T0 Na/K (control sin antioxidantes) y T1 Na/K (con 3.75 mg/100 g de tocoferoles), al inicio y fin del almacenamiento, así como el del aceite de calamar empleado se presentan en la Tabla 7.4.

Tabla 7.4. Perfil de ácidos grasos de los productos T0 Na/K y T1 Na/K al inicio y fin (45 días) del almacenamiento, y del aceite de calamar empleado (AC)*

| Ácido Graso (g/100g) | T0 Na/K | | T1 Na/K | | AC |
|----------------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|
| | Inicial | Final | Inicial | Final | |
| C 14:0 | 0.9 ^a | 1.1 ^a | 1 ^a | 1.1 ^a | nd |
| C 15:0 | 6.1 ^a | 6.2 ^a | 6.2 ^a | 5.9 ^a | 3.7 ^b |
| C 15:1 n9 | 0.6 ^b | 1.1 ^a | 0.5 ^b | 0.6 ^b | 0.8 ^{ab} |

| | | | | | |
|---------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|
| C 16:0 | 17.5 ^{ab} | 18.6 ^a | 15.9 ^b | 16.3 ^{ab} | 18.1 ^a |
| C 16:1 n7 | 7.0 ^b | 6.4 ^b | 7.3 ^b | 6.8 ^b | 8.7 ^a |
| C 17:0 | 0.7 ^a | 0.8 ^a | 0.7 ^a | 0.8 ^a | 0.7 ^a |
| C 17:1 n7 | 0.8 ^a | 0.2 ^b | 0.7 ^a | 0.7 ^a | 0.4 ^b |
| C 18:0 | 6.1 ^a | 5.9 ^a | 6.0 ^a | 6.2 ^a | 2.9 ^b |
| C 18:1 n9t | 0.2 ^a | 0.8 ^a | 0.2 ^a | 0.7 ^a | 0.3 ^b |
| C 18:1 n9c (oleico) | 15.8 ^b | 14.3 ^b | 16.0 ^b | 16.1 ^b | 19.9 ^a |
| C 18:2 n6 | 2.5 ^a | 1.6 ^a | 2.5 ^a | 2.5 ^a | 2.7 ^a |
| C 18:3 n6 | 0.2 ^a | 0.2 ^a | 0.2 ^a | 0.2 ^a | 0.3 ^a |
| C 18:3 n3 (ALA) | 1.4 ^{ab} | 0.7 ^b | 1.4 ^{ab} | 1.2 ^{ab} | 1.7 ^a |
| C 20:0 | 0.1 ^a | nd | 0.1 ^a | 0.2 ^a | 0.2 ^a |
| C 20:1 n9 | 3.5 ^a | 3.4 ^a | 3.4 ^a | 3.6 ^a | 3.7 ^a |
| C 20:4 n6 | 1.4 ^a | 0.7 ^a | 1.5 ^a | 1.4 ^a | nd |
| C 20:5 n3 (EPA) | 8.9 ^b | 7.0 ^d | 8.8 ^b | 8.4 ^c | 10.1 ^a |
| C 22:1n9 | 0.8 ^a | nd | 0.8 ^a | 0.9 ^a | 1.0 ^a |
| C 22:6 n3 (DHA) | 17.7 ^b | 13.8 ^c | 17.6 ^b | 16.7 ^b | 23.8 ^a |
| C 23:0 | 0.2 ^a | nd | 0.2 ^a | nd | nd |
| AGS | 31.6 ^a | 32.6 ^a | 30.1 ^a | 30.5 ^a | 25.5 ^b |
| AGMI | 35.7 ^a | 33.2 ^b | 36.9 ^a | 36.4 ^a | 34.7 ^{ab} |
| AGPI | 32.1 ^b | 24.0 ^c | 32.0 ^b | 30.4 ^b | 38.5 ^a |
| n-3 | 28.0 ^b | 21.5 ^c | 27.8 ^b | 26.3 ^b | 35.6 ^a |
| n-6 | 4.10 ^a | 2.50 ^b | 4.20 ^a | 4.10 ^a | 3.0 ^b |
| n-6/n-3 | 0.147 ^a | 0.116 ^b | 0.152 ^a | 0.156 ^a | 0.083 ^c |
| Índice de Aterogenicidad | 0.31 ^b | 0.40 ^a | 0.29 ^b | 0.31 ^b | 0.25 ^b |
| Índice de Trombogenicidad | 0.17 ^a | 0.22 ^a | 0.15 ^a | 0.16 ^a | 0.13 ^a |

*Medias en la misma fila (mismo ácido graso) con distinto supraíndice, presentan diferencias significativas (P < 0.05). nd = no detectado

Los perfiles de las muestras T0 Na/K (sin tocoferoles) y T1 Na/K, al inicio del almacenamiento resultaron similares, destacándose un elevado contenido de ácidos grasos mono (AGMI) y poli-insaturados (AGPI), alcanzando el oleico un 15.9%, el ALA un 1.4%, el EPA 8.9% y el DHA = 17.7%.

Al igual que los productos analizados en el **Capítulo 5**, la distribución en ácidos grasos en estos productos conteniendo aceite de origen marino corresponde aproximadamente a un 30% de saturados (aproximadamente un 20% menos respecto al tradicional), 35% monoinsaturados y un 32% de poli-insaturados, con una relación n-6/n-3 de 0.149 en promedio, sensiblemente inferior a la observada para grasa vacuna (n-6/n-3 = 8.33. Esto implica una mejor calidad nutricional del producto desarrollado.

En T0 Na/K se observó un descenso de los ácidos grasos C17:1 n7, oleico, ALA, EPA y DHA, entre el comienzo y fin del almacenamiento como consecuencia del deterioro oxidativo en el producto. Sin embargo, en la formulación con 3.75 mg/100g de tocoferoles (T1 Na/K) sólo disminuyó el EPA al final del almacenamiento, demostrando la efectividad de los tocoferoles para la protección a la oxidación lipídica de este sistema cárnico.

Como consecuencia de ello, los contenidos de AGMI y de AGPI totales, y la relación n-6/n-3 se mantuvieron constantes en esta formulación, y por consiguiente, los respectivos índices aterogénico y trombogénico (según Ec. 5.3 y 5.4, respectivamente).

De esta manera se pudo comprobar que la muestra T1 Na/K presentó modificaciones menores a un 5%, mientras que T0 Na/K mostró alteraciones muy importantes, dentro de las cuales se destaca un descenso de los AGPI cercano al 25%, dentro de estos, los AGPI n-3 mostraron un descenso de 24% mientras que los n-6 disminuyeron en un 39% respecto al tiempo inicial. Por lo tanto, resulta importante la inclusión de tocoferoles en este tipo de producto a fin de mantener la calidad nutricional durante su vida útil.

Los valores obtenidos indicaron que los productos elaborados con aceite de origen marino presentan entonces una composición de AG que resulta beneficiosa para la salud y resultaron estables en las condiciones de almacenamiento estudiadas.

Los perfiles de ácidos grasos y los cambios en los mismos observados resultaron coincidentes con los resultados obtenidos previamente por el ensayo de TBARS, donde la inclusión de tocoferoles en la formulación evitó el deterioro oxidativo.

Como se discutió previamente existe una gran cantidad de bibliografía que aporta abundantes evidencias sobre los efectos benéficos para la salud asociados al consumo de AGPI, y dentro de este grupo, principalmente el EPA y DHA (Martinez y Ballabriga, 1987; Appel y col., 1993; Clarke y Jump, 1994; Graber y col., 1994; Clandinin, 1999; Valenzuela y Nieto, 2001; Sanhueza y col., 2004; Asís, 2006; Calder, 2006; Funahashi y col., 2006; Kim, y col., 2009; Coates y col., 2009). Además existen recomendaciones para el consumo de estos ácidos grasos. Así, la American Heart Association aconseja un consumo de EPA + DHA 1000 mg/día para las personas con riesgo de contraer enfermedades cardiovasculares (AHA, 2010). Por otra parte, Moore y col. (2012) recomendaron un consumo de 500 mg/día de EPA + DHA para adultos saludables. A su vez, Valenzuela y Sanhueza (2009) propusieron un consumo de DHA de 300 mg/día para mujeres embarazadas o en período de lactancia. Finalmente en el caso de los menores lactantes y hasta los 14 años estos autores proponen una ingesta de 150 mg DHA/día.

7.4.6. Composición y análisis nutricional de los productos

En la Tabla 7.5 se muestra la composición proximal y valor biológico de los productos optimizados elaborados con los dos niveles de sales: T1 Na y T1 Na/K.

Los valores obtenidos para la composición centesimal resultaron similares entre sí. Los productos son ricos en proteínas de alto valor biológico por su origen, y su contenido lipídico es inferior a los productos tradicionales, y teniendo un perfil de AG superior desde el punto de vista nutricional.

El aporte calórico del producto optimizado en esta **Tesis** (114 - 118 kCal/100g) resulta de un 56.6% inferior respecto a salchichas comerciales de primera marca, con un elevado contenido de grasa (20%), las cuales presentan un valor de 268 kCal/100g.

A su vez el consumo de 37 gramos (1 porción) o aproximadamente una salchicha magra con aceite de pescado por día, ya sea de contenido de sodio reducido o no (T1 Na o T1 Na/K) aportaría más de 579 mg de EPA + DHA, valor similar a los 500 mg/día recomendados para la población adulta sana, y 57.9% de los 1000mg/día aconsejados para personas con riesgo cardiovascular.

Tabla 7.5. Composición centesimal y nutricional de los productos optimizados.

| Formulación | T1 | T1 Na/K |
|------------------------------|------------|------------|
| Agua (g/100g) | 75.6 ± 0.3 | 75.1 ± 0.2 |
| Proteínas (g/100g) | 12.7 ± 0.4 | 12.9 ± 0.3 |
| Lípidos (g/100g) | 6.1 ± 0.2 | 6.3 ± 0.3 |
| EPA (mg/100g) | 524 | 679 |
| DHA (mg/100g) | 1043 | 1052 |
| EPA + DHA (mg/100g) | 1567 | 1731 |
| Cenizas (g/100g) | 2.7 ± 0.1 | 2.8 ± 0.1 |
| Na ⁺ (mg/100g) | 644 ± 7 | 393 ± 9 |
| K ⁺ (mg/100g) | 219 ± 8 | 523 ± 11 |
| Hidratos de Carbono (g/100g) | 2.3 | 2.3 |
| Valor calórico (kCal/100g) | 114 | 118 |

Estos productos, además, contienen fitoesteroles, que, como ya se ha mencionado, resultan beneficiosos para la salud. La dosis de los mismos que ha sido establecida para reducir la absorción intestinal del colesterol es de 1.5 - 2 g/día (Escribano y col., 2009), por lo cual, el producto optimizado aportaría más un 25% de la dosis recomendada, favoreciendo un mayor consumo de fitoesteroles que el habitual.

Finalmente, como se discutió previamente, los niveles de sodio de los productos desarrollados en esta **Tesis** implicarían una reducción de entre 15 - 46% para la formulación T1Na y 53 - 71% para T1 Na/K respecto a las formulaciones comerciales tradicionales.

Analizando las reglamentaciones vigentes a partir del 01-01-2014 respecto a la Información Nutricional Complementaria permitida para los productos (GMC, 2013) las

dos formulaciones propuestas T1 Na y T1 Na/K podrían encuadrarse bajo las siguientes denominaciones:

de contenido absoluto:

- 1- “Bajo en grasas totales” = contiene menos de 3 g/porción (1 porción = 37 g).
- 2- “Bajo en grasas saturadas” = contiene menos de 1.5 g/porción.
- 3- “No contiene grasas trans” = contiene menos de 0.1 g/porción.
- 4- “Alto contenido de ácidos grasos omega 3” = contiene al menos de 80 mg EPA + DHA/porción.

de contenido comparativo:

- 1- “Reducido en calorías” = reducción mínima del 25% en el valor energético.
- 2- “Reducido en grasas totales” = reducción mínima del 25% en grasas totales.
- 3- “Reducido en grasas saturadas”= Reducción mínima del 25% en grasas saturadas
- 4- “Reducido en sodio”= reducción mínima del 25% en el contenido de sodio, para la formulación T1 Na/K.

Asimismo, el producto sería apto para celíacos ya que no se empleó ningún tipo de almidón en su formulación.

Por lo tanto, el producto optimizado resultaría apto para numerosos grupos de consumidores como pueden ser personas hipertensas, con hipercolesterolemia, celíacos, con problemas de sobrepeso u obesidad, y adecuado para la población en general.

7.5. Conclusiones del Capítulo

- La modificación de la proporción de sales en los productos, con aumento de potasio, resultó en un mayor exudado, siendo de todos modos valores aceptables.
- Los parámetros fisicoquímicos (rendimiento, textura y color) y microbiológicos fueron adecuados durante todo el período de almacenamiento a 4°C.
- Se comprobó que el reemplazo de sodio por potasio afectó sensiblemente la estabilidad oxidativa de los productos, resultando necesario un mayor agregado de tocoferoles para lograr la estabilidad oxidativa del producto.
- Los resultados obtenidos en este **Capítulo** mostraron que resultó exitosa la incorporación de 5 mg/100g tocoferoles naturales para prevenir la rancidez de geles emulsionados cárnicos con aceite de pescado y fitoesteroles, con un contenido de NaCl reducido, envasadas al vacío, durante los 45 días de su

almacenamiento refrigerado.

- El bajo aporte calórico y contenido de sodio, con un elevado nivel de ácidos grasos poli-insaturados hacen que el producto presente mejor calidad nutricional respecto a los tradicionalmente disponibles en el mercado.

CAPÍTULO 8

Conclusiones generales y publicaciones

Conclusiones Generales

- Se formularon salchichas de carne magras, con reducido contenido lipídico, donde la fase grasa tradicionalmente empleada fue reemplazada por una emulsión de aceite de pescado para obtener una mejor calidad nutricional, empleando diversos componentes para estabilizar el sistema como proteínas de leche, carragenanos, o gomas xántica-garrofín. Estos productos presentaron parámetros texturales similares a una formulación control con grasa y elevados rendimientos.
- Se caracterizó el efecto del agregado de diferentes biopolímeros sobre las propiedades reológicas, termo-reológicas y térmicas (DSC), pudiéndose vincular entre sí los parámetros obtenidos mediante las distintas técnicas.
- Se evaluó de manera efectiva y sencilla la capacidad de formación de geles mixtos de distintas combinaciones de hidrocoloideos y proteínas no cárnicas. La combinación de carragenanos y proteínas lácteas presentó los valores más elevados de fuerza de gel y una deformación constante en un amplio rango de concentraciones.
- Se aplicó un diseño central compuesto para estudiar el efecto de la variación del nivel de carragenanos (Carr) y proteínas lácteas (L) en la formulación del producto sobre diferentes variables fisicoquímicas y de calidad, siendo el rendimiento, las pérdidas por centrifugación, dureza, elasticidad y masticabilidad los atributos más afectados. La metodología de la función conveniencia permitió encontrar la formulación óptima y las respuestas predichas fueron validadas experimentalmente. Las emulsiones cárnicas conteniendo el nivel óptimo de carragenanos (0.593 g/100g) y proteínas de leche (0.320 g/100g) mostraron un elevado rendimiento y estabilidad, presentando características fisicoquímicas similares a un producto comercial tradicional.
- Los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos de los productos conteniendo la formulación optimizada fueron adecuados durante su vida útil (almacenamiento refrigerado al vacío por 45 días). Resultó exitosa la incorporación de (3.75g/100g) tocoferoles naturales como alternativa al empleo de butilhidroxianisol para prevenir la oxidación de los geles cárnicos emulsionados con aceite de pescado. Se comprobó que los productos obtenidos presentaron un perfil de ácidos grasos de mejor calidad que los productos tradicionales. A su vez se incluyeron fitoesteroles sin observarse

ningún efecto negativo sobre la estabilidad.

- Se estudió la reducción del contenido de sodio del producto optimizado empleando satisfactoriamente un diseño de mezclas y metodología de superficie de respuesta para modelar matemáticamente diversos parámetros fisicoquímicos y de calidad de salchichas magras en una función del contenido de NaCl, KCl, TPP. Las respuestas de interés fueron el rendimiento, dureza, elasticidad, adhesividad, masticabilidad y luminosidad de las muestras. Estos atributos fueron los más afectados por los cambios en el contenido de sales. Se encontró la formulación óptima como una combinación de NaCl (0.608 g/100g), KCl (0.492 g/100g) y tripolifosfatos (0.500 g/100g) que permitió reducir más del 50% del sodio respecto a las formulaciones tradicionales comerciales, validándose satisfactoriamente las respuestas predichas por los modelos.
- La formulación optimizada, reducida en sodio, permitió obtener un producto con características fisicoquímicas y sensoriales similares a uno tradicional pero con una superior calidad nutricional, como consecuencia de la sustitución de la grasa con aceite de pescado y la incorporación de cloruro de potasio para reemplazar parcialmente las sales sódicas. Además se logró una buena estabilidad fisicoquímica y microbiológica durante el ensayo de almacenamiento.
- Se caracterizó el efecto de la modificación de las sales sobre la estructura de la matriz, empleando DSC y ensayos oscilatorios termo-reológicos y microscopía electrónica de barrido (SEM y ESEM), observándose que un incremento del nivel de potasio modificó las interacciones matriz-agua y la microestructura de los productos.
- Los productos optimizados reducidos en sodio presentaron modificaciones en algunos parámetros texturales y de exudado durante el almacenamiento respecto a la formulación conteniendo 1.4% NaCl. Sin embargo su estabilidad durante el almacenamiento refrigerado y al vacío resultó adecuada. Se observó además un efecto pro-oxidante del KCl siendo necesario un mayor nivel de tocoferoles (5 mg/100g) para lograr la misma estabilidad oxidativa que la formulación equivalente sin reemplazo de sodio.
- Los productos cárnicos magros gelificados desarrollados resultaron en una superior calidad nutricional, con bajos niveles de grasa, sodio y calorías, aportando además altos niveles de EPA y DHA, y conteniendo fitoesteroles. Por lo tanto, el reemplazo en la dieta de los productos tradicionalmente consumidos por estas alternativas disminuiría el riesgo de afecciones cardiovasculares.

Publicaciones realizadas

Los ensayos realizados en esta **Tesis** dieron lugar a los siguientes trabajos publicados:

- Trabajos en revistas internacionales con referato:
 - Marchetti, L.; Andrés S.C.; Califano A.N. (2014). Low-fat meat sausages with fish oil: optimization of milk proteins and carrageenan contents using response surface methodology. *Meat Science*, 96, 1297–1303.
 - Marchetti, L.; Andrés S.C.; Califano A.N. (2013). Textural and thermal properties of low-lipid meat emulsions formulated with fish oil and different binders. *LWT - Food Science and Technology*, 51(2), 514-523.

- Capítulos de libro:
 - Marchetti, L.; Andrés S.C.; Califano A.N. (2012). Rheological and textural characteristics of low-lipid meat emulsions with hydrocolloids as binders. En: (Ed. G. Mitchell) *Rheology: Theory, Properties and Practical Applications*. New York, Nova Publishers, pp. 444, ISBN: 978-1-62618-999-7.

- Trabajos en congresos Internacionales:
 - Marchetti, L.; Andrés S.C.; Califano A.N. (2011) “Physicochemical and textural characteristics of low-fat meat emulsions with fish oil and different binders” The 2011 IFT Annual Meeting & Food, New Orleans, Louisiana, EE.UU., 11-14 de junio de 2011. Resumen publicado en Libro de Resúmenes, ISSN: 1082-1236.

- Trabajos en congresos Nacionales y Jornadas:
 - Marchetti, L.; Andrés S.C.; Califano A.N. (2010). “Efecto del agregado de proteínas o hidrocoloides sobre las características físico-químicas de emulsiones cárnicas formuladas con aceite de pescado.” Lanús, Buenos Aires, Argentina: 2010. Artículo Breve. Congreso. XXVIII Congreso Argentino de Química y 4to Workshop de Química Medicinal. Asociación de Química Argentina. Resumen publicado en Libro de Resúmenes (formato CD).

- Marchetti, L.; Andrés S.C.; Califano A.N. (2010). “Efecto del agregado de proteínas o polisacáridos en las características térmicas y dinámica de gelación de emulsiones cárnicas formuladas con aceite de pescado.” Lanús, Buenos Aires, Argentina: 2010. Artículo Breve. Congreso. XXVIII Congreso Argentino de Química y 4to Workshop de Química Medicinal. Asociación de Química Argentina. Resumen publicado en Libro de Resúmenes (formato CD).
- Marchetti, L.; Andrés S.C.; Califano A.N. (2011). “Optimización de la formulación de productos cárnicos emulsionados saludables utilizando metodología de superficie de respuesta”. XIII Congreso CYTAL-AATA Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos 4º Simposio Internacional de Nuevas Tecnologías II Simposio Latinoamericano sobre Higiene y Calidad de Alimentos, Buenos Aires, Argentina, 19-21 de octubre de 2011. **Premio IPCVA a la Innovación Tecnológica en carne vacuna.**
- Marchetti, L.; Andrés S.C.; Califano A.N. (2012). “Efecto del almacenamiento sobre parámetros de calidad fisicoquímicos microbiológicos y oxidativos de salchichas magras con aceite de pescado y fitoesteroles”. IV Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos Córdoba 2012 “Desafíos para una producción sustentable y competitiva” 14-16 de noviembre de 2012.
- Marchetti, L.; Argel, N.; Andrés S.C.; Califano A.N. (2012). “Productos cárnicos emulsionados saludables”. 156º Jornada Científica, Alimentos Funcionales, Nutrición y Salud, Buenos Aires, 23 de Agosto de 2012. **Premio 156º Jornadas Científicas de la Academia Nacional de Farmacia y Bioquímica.**
- Argel, N.; Marchetti, L.; Andrés S.C.; Califano A.N. (2013). “Calidad de emulsiones magras cocidas de bajo contenido de sodio” Rosario, Santa Fe, 2013. XIV Congreso Argentino de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Libro de Resúmenes (formato CD).

Referencias bibliográficas

- Aguilera, J.M., Kinsella, J.E. y Liboff, M. (1993). Structure compressive stress relationships in mixed dairy gels. *Food Structure*, 12, 469-474.
- Ahmad, S., Rizawi, J.A. y Srivastava, P.K. (2010). Effect of soy protein isolate incorporation on quality characteristics and shelf-life of buffalo meat emulsion sausage. *Journal of Food Science and Technology*, 47, 290-294.
- Akkose, A. y Aktas, N. (2008). Determination of glass transition temperature of beef and effects of various cryoprotective agents on some chemical changes. *Meat Science*, 80, 875–878.
- Akse, L., Gundersen, B. Lauritzen, K., Ofstad, R. y Solberg, T. (1993). Salfisk: saltmodning av fiskemuskel, utproving av analysemetoder, misfarget salfisk. Rapport nr.1/1993, Tromsø, Noruega: Fiskeriforskning.
- Aksu, M.R. (2006). The effect of α -tocopherol, storage time and storage temperature on peroxide value, free fatty acids and ph of kavurma, a cooked meat product. *Journal of Muscle Foods*, 18, 370–379.
- Alderman, M.H. (2010). Reducing dietary sodium: the case for caution. *JAMA*, 303, 448-449.
- Alderman, M.H. y Cohen, H.W. (2012). Dietary sodium intake and cardiovascular mortality: controversy resolved?. *Current Hypertension Reports*, 14, 193-201.
- Aliño M., Grau R., Toldrá F., Blesa E., Pagán M.J. y Barat J.M. (2009). Influence of sodium replacement on physicochemical properties of dry-cured loin. *Meat Science*, 83, 423–430.
- Amadasi, A., Mozzarelli, A., Meda, C., Maggi, A. y Cozzini, P. (2009). Identification of xenoestrogens in food additives by an integrated in silico and in vitro approach. *Chemical Research in Toxicology*, 22, 52–63.
- Ambrosiadis, J., Vareltzis, K.P. y Georgakis, S.A. (1996). Physical, chemical and sensory characteristics of cooked meat emulsion style products containing vegetable oils. *International Journal of Food Science and Technology*, 31, 189-194.
- AHA - American Heart Assosiation (2013). 2013 AHA/ACC guideline on lifestyle management to reduce cardiovascular risk report of the american college of cardiology/american heart association task force on practice guidelines. *Journal of American Coll Cardiology*, 65-101.
- Anderson, C.A.M., Appel, L.J., Okuda, N., Brown, I.J., Chan, Q.E., Zhao, L.C. (2010). Dietary sources of sodium in China, Japan, the United Kingdom, and the United States, women and men aged 40 to 59 years: the INTERMAP Study. *Journal of American Dietetic Association*, 110, 736-745.
- Andrés, S. C., García, M. E., Zaritzky, N. E., y Califano, A. N. (2006). Storage stability of low-fat chicken sausages. *Journal of Food Engineering*, 72, 311-319.

- Andrés, S. C., Zaritzky, N. E. y Califano, A. N. (2008). Stress relaxation characteristics of low-fat chicken sausages made in Argentina. *Meat Science*, 79, 589-594.
- Andrés, S. C., Zaritzky, N. E., y Califano, A. N. (2009). Innovations in the development of healthier chicken sausages formulated with different lipid sources. *Poultry Science*, 88, 1755-1764.
- Andrés, S.C., Pennisi, S.C., Ranalli, N., Zaritzky, N.E. y Califano. (2012). Healthier Functional Beef Burgers. En: Hendriks, B.P. (Ed.) *Agricultural Research Updates - Volumen 2* (pp. 185 – 211) Nueva York: Nova Science Publishers, Inc. In-press
- Anese, M., y Gormley, R. (1996). Effects of dairy ingredients on some chemical, physico-chemical and functional properties of minced fish during freezing and frozen storage. *Lebensmittel-Wissenschaft y Technologie*, 29, 151–157.
- AOAC (1984). *Official methods of analysis* (14th ed.). Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC (1984).
- Appel, L.J., Miller, E.R., Seidler, A.J. y Whelton, P.K. (1993). Does supplementation of diet with “fish oil” reduce blood pressure? A meta-analysis of controlled clinical trials. *Archives of Internal Medicine*, 153, 1429-1438.
- Asís, A., Banzi, R., Buonocore, C.D., Muzio, M.F., Vitocolonna, M., y Garattini, S. (2006). Fish oil and mental health: the role of n-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in cognitive development and neurological disorders. *International Clinical Psychopharmacology*, 21, 319–336.
- Atughonu, A.G., Zayas, J.F., Herald, T.J., y Harbers, L.H. (1998). Thermo-rheology, quality characteristics, and microstructure of frankfurters prepared with selected plant and milk additives. *Journal of Food Quality*, 21, 223–238.
- Ayadi, M. A., Kechaou, A., Makni, I., y Attia, H. (2009). Influence of carrageenan addition on turkey meat sausages properties. *Journal of Food Engineering*, 93, 278-283.
- Ayo, J., Carballo M.T., y Jiménez-Colmenero F. (2005). High pressure processing of meat batters with added walnuts. *International Journal of Food Science and Technology*, 40, 47–54.
- Ayo, J., Carballo, M.T., Serrano, J., Olmedilla-Alonso, B., Ruiz-Capillas, C. y Jiménez-Colmenero, F. (2007). Effect of total replacement of pork backfat with walnut on the nutritional profile of frankfurters. *Meat Science*, 77, 173–181.
- Bais, D., Trevisan, A., Lapasin, R., Partal, P., y Gallegos, C. (2005). Rheological characterization of polysaccharide-surfactant matrices for cosmetic o/w emulsions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 290, 546-556.
- Barbut S., y Choy V. (2007) Use of dairy proteins in lean poultry meat batters – a comparative study. *International Journal of Food Science y Technology*, 42, 453–458.
- Barbut, S. (1995). Importance of fat emulsification and protein matrix characteristics in meat batter stability, *Journal of Muscle Foods*, 6, 161-177.
- Barbut, S., y Mittal, G. S. (1992). Use of carrageenans and xanthan gum in reduced fat breakfast sausages. *Lebensmittel-Wissenschaft y Technologie*, 25, 509–513.
- Barbut, S., y Mittal, G.S. (1996). Effects of three cellulose gums on the texture profile and sensory properties of low fat frankfurters. *International Journal of Food Science y Technology*, 31, 241–247.

- Barnes, H.A., Hutton, J.F., Walters, K., (1991). An Introduction to rheology. (3ra Edición) Amsterdam: Elsevier, pp. 210
- Baumgärtel, M., De Rosa, M.E., Machado, J., Masse, M., y Winter, H.H. (1992). The relaxation time spectrum of nearly monodisperse polybutadiene melts. *Rheologica Acta*, 31, 75-82.
- Baumgärtel, M., Schausberger, A., y Winter, H.H. (1990). The relaxation of polymer with linear flexible chains of uniform length. *Rheologica Acta*, 29, 400-408.
- Baumgärtel, M., y Winter H.H. (1989). Determination of discrete relaxation and retardation time spectra from dynamic mechanical data. *Rheologica Acta*, 28, 511-519.
- Baumgärtel, M., y Winter H.H. (1992). Interrlation between continuos and discrete relaxation time spectra. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 44, 15-36.
- BeMiller J.N. y Whistler, R.L. (1996). Carbohydrates. In: Fennema, O.R. (Ed.), *Food Chemistry*, 3rd Ed., Marcel Dekker, New York.
- BeMiller, F.S., y Daniels, J.R. (2002). LBG-xanthan gels. Disponible en: http://www.cfs.purdue.edu/class/FyN630/Virt_Class_2/guarandLBG.htm. Acceso 06-07-09.
- Bengochea, C., Puppo, M.C., Romero, A., Cordobés, F., Guerrero, A. (2008). Linear and non-linear viscoelasticity of emulsions containing carob protein as emulsifier. *Journal of Food Engineering*, 87, 124–135.
- Bernal, V.M., Smajda, C.H., Smith, J.L., y Stanley D.W. (1987). Interactions in protein/polysaccharide/calcium gels. *Journal of Food Science*, 52, 1121–1125.
- Bhattacharya, M., Hanna, M.A. y Mandigo, R.W. (1988). Effect of frozen storage conditions on yields, shear strength and color of ground beef patties. *Journal of Food Science*, 53, 696–700.
- Biesalski, H.K. (2005). Meat as a component of a healthy diet – are there any risks or benefits if meat is avoided in the diet?. *Meat Science*, 70, 509–524.
- Bigliardia, B. y Galatib, F. (2013). Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. *Trends in Food Science & Technology*, 31, 118–129.
- Bird, R.B., Armstrong, R., Hassager, O., 1977. *Dynamic of polymeric liquid*. Vol I. New York: John Wiley & Sons.
- Bishop, D.J., Olson, D.G. y Knipe, C.L. (1993). Pre-emulsified corn oil, pork fat or added moisture affect quality of reduced fat bologna quality. *Journal of Food Science* 58, 484-487.
- Bloukas J.G., Paneras E. D. y Fournitzis G. C. (1997). Effect of replacing pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 45, 133-144.
- Bloukas, J.G. y Paneras, E.D. (1993). Substituting olive oil for pork backfat affects quality of low-fat frankfurters. *Journal of Food Science* 58, 705–709.
- Bloukas, J.G. y Paneras, E.D. (1994). Vegetable oils replace pork backfat for low-fat frankfurters. *Journal of Food Science*, 59, 725–728.
- Boles J.A. y Parrish F.C. (1990). Sensory and chemical characteristics of precooked microwave-reheatable pork roasts. *Journal of Food Science*, 55, 618–620.
- Borch, E., Kant-Muemansb, M-L., Blixt, Y. (1996). Bacterial spoilage of meat products and cured meat International. *Journal of Food Microbiology*, 33, 103-120.

- Bourne, M.C. (1978). Texture profile analysis. *Food Technology*, 32, 62–66, 72.
- Box, G.E.P., y Draper, N.R. (1987). *Empirical model building and response surfaces*. (1era Ed.). New York: John Wiley y Sons, (Capítulo 4).
- Bragulat Baur, E. y de la Sierra Iserte, A. (2000). La hipertensión arterial en la diabetes mellitus tipo 2. *Hipertensión y Riesgo Vascular*, 17, 272-283.
- Brennan, J.G., y Bourne, M.C. (1994). Effect of lubrication on the compression behaviour of cheese and frankfurters. *Journal of Texture Studies*, 25, 139–150.
- Brewer, M.S. y Wu, S.Y. (1993). Display packaging and meat block location effects on colour lipid oxidation on frozen lean ground beef. *Journal of Food Science*, 58, 1219–1223.
- Brewer, M.S. (2012). Reducing the fat content in ground beef without sacrificing quality: A review. *Meat Science*, 91, 385-395.
- Brown, I.J., Tzoulaki, I., Candeias, V. y Elliott, P. (2009). Salt intakes around the world: implications for public health. *International Journal of Epidemiology*, 38, 791-813.
- Buzina, R., Suboticanec, K. y Saric, M. (1991). Diet patterns and health problems: diet in southern Europe. *Annals of Nutrition*, 35, 32-40.
- CAA - Código Alimentario Argentino (2013). Secretaría de Políticas, Regulación e Institutos y Secretaría de Agricultura, Ganadería y Pesca Código Alimentario Argentino. Resolución Conjunta 161/2013 y 213/2013 Modificaciones. Disponible en: <http://www.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/215000219999/216121/norma.htm>. Acceso 10-01-2014.
- CAA - Código Alimentario Argentino. (2010). Capítulo 6. De la Canale y Asociados. Buenos Aires.
- Cáceres, E., García, M. L., y Selgas, M. D. (2006). Design of a new cooked meat sausage enriched with calcium. *Meat Science*, 7, 368–377.
- Cáceres, E., García, M. L., y Selgas, M. D. (2008). Effect of pre-emulsified fish oil – as source of PUFA n-3 – on microstructure and sensory properties of mortadella, a Spanish bologna-type sausage. *Meat Science*, 80, 183-193.
- Çakır, E. y Foegeding, A. (2011). Combining protein micro-phase separation and protein polysaccharide segregative phase separation to produce gel structures. *Food Hydrocolloids*, 25, 1538-1546.
- Calder, P.C. (2006). n-3 Polyunsaturated fatty acids, inflammation and inflammatory diseases. *American Journal of Clinical Nutrition*, 83, 1505-1519.
- Calligaris, S. y Nicoli, M.C. (2006). Effect of selected ions from lyotropic series on lipid oxidation rate. *Food Chemistry*, 94, 130–134.
- Campo, M.M. y Nute G.R., Hughes S.I., Enser M., Wood J.D. y Richardson R.I. (2006). Flavour perception of oxidation in beef. *Meat Science*, 72, 303–311.
- Candogan, K., y Kolsarici, N. (2003). The effects of carrageenan and pectin on some quality characteristics of low-fat beef frankfurters. *Meat Science*, 64, 199-206.
- Cano-Medina, A., Jiménez-Islas, H., Dendooven, L., Patiño Herrera, R. González-Alatorre, G. y Escamilla-Silva, E.M (2011). Emulsifying and foaming capacity and emulsion and foam stability of sesame protein concentrates. *Food Research International*, 44, Pages 684–692.
- Carballo, J., Fernandez, P., Barreto, G., Solas, M.T. y Jimenez-Colmenero, F. (1996) Morphology and texture of bologna sausage as related to content of fat, starch and egg white. *Journal of Food Science*, 61, 652–665.

- Carballo, J., Barreto, G., y Jiménez-Colmenero, F. (1995). Starch and egg white influence on properties of bologna sausage as related to fat content. *Journal of Food Science*, 60, 673–677.
- Carp, D.J., y Pilosof, A.M.R. (2007). Comportamiento reológico de sistemas cárnicos con hidroxipropilmetilcelulosas. IV Jornadas Internacionales de Proteínas y Coloides Alimentarios (JIPCA IV). Buenos Aires, Argentina.
- Carraro, C.I., Machado, R., Espindola, V., Bastianello Campagnol, P.C. y Rodrigues Pollonio, M.A. (2012). The effect of sodium reduction and the use of herbs and spices on the quality and safety of bologna sausage. *Ciênc. Tecnol. Aliment*, 32, 225-231.
- Carreau, P.J., De Kee, D.C.R.; Chhabra, R.P. (1997). *Rheology of polymeric systems: principles and applications*. Hanser Gardner Publications Inc., Cincinnati.
- Cavestany, M., Jiménez-Colmenero, F., Solas, M.T. y Carballo, J. (1994). Incorporation of sardine surimi to bologna sausage containing different fat levels. *Meat Science*, 38, 27–37.
- Cayré, M.E., Garro, O. y Vignolo, G. (2005). Effect of storage temperature and gas permeability of packaging film on the growth of lactic acid bacteria and *Brochothrix thermosphacta* in cooked meat emulsions. *Food Microbiology*, 22, 505–512.
- Cengiz, E. y Gokoglu, N. (2007). Effects of fat reduction and fat replacer addition on some quality characteristics of frankfurter-type sausages. *International Journal of Food Science & Technology*, 42, 366–372.
- Chen, H.H., Xu, S.Y. y Wang, Z. (2007). Interaction between flaxseed gum and meat protein. *Journal of Food Engineering*, 80, 1051–1059.
- Chen, H.H., Xu, S.-Y., Wang, Z. (2007). Interaction between flaxseed gum and meat protein. *Journal of Food Engineering*, 80, 1051–1059.
- Chevance, F.F.V., Farmer, L.J., Desmond, E.M., Troy, D.J., y Chizzolini, R. (2000). Effect of some fat replacers on the release of volatile aroma compounds from low-fat meat products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3476–3484.
- Chin, K.B., Keeton, J.T., Longnecker, M.T., Lamkey, J.W. (1999). Utilization of soy protein isolate and konjac blends in a low-fat bologna (model system). *Meat Science*, 53, 45–57.
- Clandinin, M.T. (1999). Brain development and assessing the supply of polyunsaturated fatty acid. *Lipids*, 34, 131-137.
- Clarke, S.D., y Jump, D.B. (1994). Dietary polyunsaturated fatty acid regulation of gene transcription. *Annual Review of Nutrition*, 14, 83-98.
- Coates, A.M., Sioutis, S., Buckley, J.D. y Howe, P.R.C. (2009). Regular consumption of n-3 fatty acid-enriched pork modifies cardiovascular risk factors. *British Journal of Nutrition*, 101, 592-597.
- Coffmann, C.W. y Garcia, V.V. (1977). Functional properties and amino acid content of a protein isolate from mung bean flour. *International Journal of Food Science & Technology*, 12, 473–484.
- Cofrades, S., Guerra, M.A., Carballo, J., Fernandez-Martin, F. y Jimenez-Colmenero, F. (2000). Plasma protein and soy fiber content effect on bologna sausage properties as influenced by fat level. *Journal of Food Science*, 65, 281–287.

- Cornell, J.A. (1981). *Experiments with mixtures: Design models, and the analysis of mixture data*. New York: John Wiley & Sons (pp. 2–63).
- Crehan, C.M., Hughes, E., Troy, D.J., Buckley, D.J. (2000). Effects of fat level and maltodextrin on the functional properties of frankfurters formulated with 5, 12 and 30% fat. *Meat Science*, 55, 463-469.
- Cully K. (2007). Meat emulsion products and methods of making same Número de Patente: US 20070148323 A1, Clasificación internacional: A23L1/31.
- Cutler, J.A., Follmann, D. y Allender, P.S. (1997) Randomized trials of sodium reduction: an overview. *American Journal of Clinical Nutrition*, 65, 643-651.
- Dalgleish, D.G. (1998). Casein micelles as colloids. Surface structures and stabilities. *Journal of Dairy Science*, 81, 3013–3028.
- Damechki, M., Sotiropoulou, S. y Tsimidou, M. (2001). Antioxidant and pro-oxidant factors in oregano and rosemary gourmet olive oils. *Grasas y Aceites*, 52, 207-213.
- Danaei, G., Ding, E. L., Mozaffarian, D., Taylor, B., Rehm, J., Murray, C. J. L. y Ezzati, M. (2009). The preventable causes of death in the United States: Comparative risk assessment of dietary, lifestyle, and metabolic risk factors. *PLoS Medicine*, 6e1000058, 1–23.
- Daniels, R., y Barta, A. (1993). Preparation, characterization and stability assessment of oil-in-water emulsions with hydroxypropylmethyl cellulose as emulsifier. *Proceedings of Pharmacy Technicians Conference*. Elsinore, Dinamarca (pp. 51–60).
- Daniels, R., y Barta, A. (1994). Pharmacopoeial cellulose ethers as oil in water emulsifiers 1. Interfacial properties. *European Journal of Pharmaceutical and Biopharmaceutical*, 40, 128-133.
- Davey, C.L. y Gilbert, K.V. (1974). Temperature-dependant toughness in beef. *Journal of Science Food and Agriculture*, 25, 931-935.
- Decker, E.A y Park, Y. (2010) Healthier meat products as functional foods. *Meat Science* 86, 49–55.
- DeFreitas, Z., Sebranek, J.G, Olson, D.G, y Carr, J.M. (1997). Freeze/thaw stability of cooked pork sausages as affected by salt, phosphate, pH and carrageenan. *Journal of Food Science*, 62, 551–554.
- Dietary Guidelines Advisory Committee (2010). Department of Health and Human Services and Department of Agriculture. Adults and sodium: what is the relationship between sodium and blood pressure in adults aged 19 years and older?
- Derringer, G. C., y Suich, R. (1980). Simultaneous optimization of several response variables. *Journal of Quality Technology*, 12, 214-219.
- Desmond, E. (2006). Reducing salt: A challenge for the meat industry. *Meat Science*, 74, 188–196.
- Devittori, C., Gumy, D., Kusy, A., Colarow, L., Bertoli, C. y Lambelet P. (2000). Supercritical fluid extraction of oil from millet bran. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77, 573-579.
- Dexter, D. R., Sofos, J. N., y Schmidt, G. R. (1993). Quality characteristics of turkey bologna formulated with carrageenan, starch, milk and soy protein. *Journal of Muscle Foods*, 4, 207-223.

- Dickinson, E. (2003). Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids*, 17, 25–39.
- Dickinson, E. (2004). Effect of hydrocolloids on emulsion stability P.A. Williams, G.O. Phillips (Eds.), *Gums and stabilizers for the food industry*, Royal Society of Chemistry, Cambridge, Reino Unido, 394–404.
- Dickinson, E. (2012). Emulsion gels: The structuring of soft solids with protein-stabilized oil droplets School of Food Science and Nutrition, *Food Hydrocolloids*, 28, 224-241.
- Dickinson, H.O., Mason, J.M., Nicolson, D.J., Campbell, F., Beyer, F.R. y Cook, J.V. (2006). Lifestyle interventions to reduce raised blood pressure: a systematic review of randomized controlled trials. *Journal of Hypertension*, 24, 215-233.
- Eide, O., Børresen, T., y Strøm, T. (1982). Minced fish production from capelin (*Mallotus villosus*). A new method for gutting, skinning and removal of fat from small fatty fish species. *Journal of Food Science*, 47, 347–349.
- El-Magoli, S.B., Larola, S., Hansen, P.T. (1995). Ultrastructure of low-fat ground meat patties with added whey protein concentrate. *Food Hydrocolloids*, 9, 291–306.
- El-Magoli, S.B., Larola, S., Hansen, P.T. (1996). Flavor and texture characteristics of low fat ground beef patties formulated with whey protein concentrate. *Meat Science*, 42, 179-193.
- Ensor, S.A, Mandigo, R.W, Calkins, C.R y Quint, L.N. (1987). Comparative evaluation of whey protein concentrate, soy protein isolate and calcium reduced NFDM as binders in an emulsion type sausage. *Journal of Food Science*, 52, 1155–1158.
- Estévez, M., Ventanas, S. y Cava R. (2005). Physicochemical properties and oxidative stability of liver paté as affected by fat content. *Journal of Food Chemistry*, 92, 449-457.
- Estévez, M., Ventanas, S. y Cava R. (2006). Effect of natural and synthetic antioxidants on protein oxidation and colour and texture changes in refrigerated stored porcine liver pâté. *Meat Science*, 74, 396–403.
- European Commission (2012). Commission Regulation (EU) No 432/2012 of 16 May 2012 [Internet] Official Journal of the European Union [Acceso 23-06-2012] Disponible en: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2012:136:0001:0040:en:PDF>. Acceso 12-08-2013.
- FAO - Food and Agriculture Organization. (2010). Energy requirements of children and adolescents. En: *Human energy requirements: report of a joint FAO/WHO/UNU expert consultation*. Paris, pp.29-30.
- FDA - Food and Drug Administration. (2005). GRAS Notice 000181: Phytosterols. Disponible en: http://www.accessdata.fda.gov/scripts/fcn/gras_notices/grn000181.pdf. Acceso 22-01-2014.
- Fennema, O.R. (1996). *Química de los alimentos*. Quinta Edición. Editorial Acribia.
- Fernández, P., Cofrades, S., Solas, M.T., Carballo, J. and Colmenero, F. J. (1998). High pressure-cooking of chicken meat batters with starch, egg white, and iota carrageenan. *Journal of Food Science*, 63, 267–271.
- Fernández-Ginés, J.M., Fernández-López, J., Sayas-Barberá, E., Sendra, E. y Pérez-Alvarez, J.A. (2003). Effect of storage conditions on quality characteristics of Bologna sausages made with citrus fiber. *Journal of Food Science*, 68, 710-715.

- Fernández-Ginés, J.M., Fernández-Lopez, J., Sayas-Barbera, E., y Perez-Alvarez, J.A. (2005). Meat products as functional foods: A review. *Journal of Food Science*, 70, 37-43.
- Fernández-López, J., Sayas-Barberá, E., Sendra, E. y Pérez-Alvarez, J.A. (2004). Quality characteristics of ostrich liver pate. *Journal of Food Science*, 69, 85–91.
- Fernández-Martín, F. López-López, I., Cofrades, S., Jiménez-Colmenero, F. (2009). Influence of adding Sea Spaghetti seaweed and replacing the animal fat with olive oil or a konjac gel on pork meat batter gelation. Potential protein/alginate association. *Meat Science*, 83, 209–217.
- Fernández-Martín, F., Cofrades, S., Carballo, J., y Jiménez-Colmenero, F. (2002). Salt and phosphate effects on the gelling process of pressure/heat treated pork batters. *Meat Science*, 61, 15-23.
- Ferris, J.J., Sandoval, A.J., Barreiro, J.A., Sánchez, J. J., y Müller, A. J. (2009). Gelation kinetics of an imitation-mortadella emulsion during heat treatment determined by oscillatory rheometry. *Journal of Food Engineering*, 95, 677–683.
- Ferry, J. D. (1980). *Viscoelastic properties of polymers*. New York: John Wiley and Sons, (Capítulo 4).
- Findlay, C.J., Parkin, K.L. y Stanley D.W. (1989). Differential scanning calorimetry can determine kinetics of thermal denaturation of beef muscle proteins. *Journal of Food Biochemistry*, 10, 1–15.
- Fischer, P. y Windhab, E.J. (2011). Current opinion in colloid & interface science. *Rheology of Food Materials*, 16, 36–40.
- Flory, P.J. (1953). *Principles of polymer chemistry* (16th ed.). New York: Cornell University print, (Capítulo 9).
- Foegeding, E.A., y Ramsey, S.R. (1986). Effect of gums on low-fat meat matters. *Journal of Food Science*, 51, 33-46
- Foegeding, E.A., y Ramsey, S.R. (1987). Rheological and water holding properties of gelled meat batters containing iota carrageenan, kappa carrageenan or xanthan gum. *Journal of Food Science*, 52, 549–553.
- Folch, J., Lees, M. y Sloane-Stanley, G.H. (1957). A simple method for the isolation and purification of total lipids from animal tissues. *Journal of Biological Chemistry*, 497-509.
- Fox, J.A., Roosen, J., Lusk, J.L. (2003). Consumer demand for and attitudes toward alternative beef labeling strategies in France, Germany, and the UK. *Agribusiness*, 19, 77–90.
- Fox, P.F. (1995). Lactose, water, salts and vitamins. Capítulo 3. En: *Advanced dairy chemistry*, 2nd ed. Chapman and Hall: Nueva York, 1995.
- Franco, J.M., Berjano, M. y Gallegos, C. (1997). Linear viscoelasticity of salad dressing emulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 45, 713-719.
- Franco, J.M., Guerrero, A., Gallegos, C. (1995) Linear viscoelasticity of salad dressing emulsions. *Rheological Acta*, 34, 513-524.
- Frankel, E.N. (2005). *Lipid oxidation*. Oily Press Lipid Library, Volume 10 ,470 pp. ISBN 0-9531949-8-1
- Fuchs M. (2009). *Non-linear rheological properties of dense colloidal dispersions*. Springer, Berlin.

- Funahashi, H., Satake, M., Hasan, S., Sawai, H., Reber, H. A., Hines, O. J. y Eibl, G. (2006). The n-3 polyunsaturated fatty acid EPA decreases pancreatic cancer cell growth in vitro. *Pancreas*, 33, 462-462.
- Gan, H. E., Karim, R., Muhammad, S. K. S., Bakara, J.A., y Hashima, D. M., Abd Rahman R. (2007). Optimization of the basic formulation of a traditional baked cassava cake using response surface methodology. *Lebensmittel-Wissenschaft y Technologie*, 40, 611-618.
- García, P.T. (2009). Aspectos nutricionales de la carne porcina ISSN:1850-0900.
- García-García, E., Totosaus, A. (2008). Low-fat sodium-reduced sausages: Effects of the interaction between locust bean gum, potato starch and k-carrageenan by a mixture design approach. *Meat Science* 78, 406-413.
- Gelabert, J., Gou, P., Guerrero, L. y Arnau J. (2003). Effect of sodium chloride replacement on some characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 65, 833–839
- Georgantelis D. Ambrosiadis I., Katikou P., Blekas G. y Georgakis S.A. (2007). Effect of rosemary extract, chitosan and α -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. *Meat Science*, 76, 172–181.
- Gharavi, N. y El-Kadi, A. (2005). Tert-Butylhydroquinone is a novel aryl hydrocarbon receptor ligand. *Drug Metabolism and Disposal*, 33, 365–372.
- Gillette, M. (1985). Flavor effects of sodium chloride. *Food Technology*, 39, 47-52.
- Gimeno, O., Astiasarán, I. y Bello, J. (1999). Influence of partial replacement of NaCl with KCl and CaCl₂ on texture and color of dry fermented sausages. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 47, 873-877.
- GMC - Grupo Mercado Común (2013). Reglamento técnico Mercosur sobre información nutricional complementaria (declaraciones de propiedades intelectuales). Disponible en: http://www.puntofocal.gov.ar/doc/r_gmc_01-12.pdf. Acceso 10-11-2013.
- Golding, M. (2013). Utilizing dairy protein functionality in food microstructure design. En: *Advances in dairy ingredients* (Eds.: Smithers, GW, Augustin, M.A.). John Wiley and Sons.
- Gordon, A. y Barbut, S. (1992). Effect of chloride salts on the protein extraction and interfacial protein film formation in meat batters. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 58, 227-238.
- Gordon, A. y Barbut, S. (1991). Raw meat batter stabilization: morphological study of the role of interfacial protein film. *Can Inst Sci Technol J*, 24,136–42.
- Gou, P., Guerrero, L., Gelabert, J. y Arnau, J. (1996). Potassium chloride, potassium lactate and glycine as sodium chloride substitutes in fermented sausages and in dry-cured pork loin. *Meat Science*, 42, 37–48.
- Graber, R., Sumida, C. y Nunez, E.A. (1994). Fatty acids and cell signal transduction. *Journal of Lipid Mediators and Cell Signalling*, 9, 91-116.
- Graiver, N.G. (2006). Procesos difusionales en el curado de carne. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de La Plata, Facultad de Ciencias Exactas Departamento de Química pp.195.
- Graiver, N.G., Pinotti, A., Califano, A.N., y Zaritzky, N. (2006). Diffusion of sodium chloride in pork tissue. *Journal of Food Engineering*, 77, 910–918.

- Graudal, N.A., Hubeck-Graudal, T. y Jurgens, G. (2011). Effects of low sodium diet versus high sodium diet on blood pressure, renin, aldosterone, catecholamines, cholesterol, and triglyceride. *Cochrane Database Syst Rev*, 11, CD004022.
- Greene, B.E. y Cumuze, T.H. (1982), Relationship between TBA numbers and inexperienced panelists' assessments of oxidized flavor in cooked beef. *Journal of Food Science*, 47, 52–54.
- Gurr, M.I., Harwood, J.L., Frayn, K.N. (2002). *Lipid biochemistry. An introduction* (5th ed.) Blackwell Science, Oxford.
- Hallikainen, M. y Uusitupa, M. (1999). Effects of low-fat stanol ester-containing margarines on serum cholesterol concentrations as part of a low-fat diet in hypercholesterolemic subjects. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69, 403-410.
- Halliwell, B. (1997). Antioxidants and human disease: a general introduction. *Nutritional Reviews*, 55, S44-S52.
- Hamm, R. (1977). Changes of muscle proteins during the heating of meat. En: T. Höyem, O. Kvåle (Eds.), *Physical, chemical and biological changes in food caused by thermal processing*, Applied Science Publishing, pp. 101–134.
- Hammer, G.F. (1992). Substancias aditivas y aditivos. In F. Wirth, (Ed.), *Tecnología de los embutidos escaldados* (pp. 83-106). Zaragoza: Acribia S.A.
- Hand, L. W., Hollingsworth, C. A., Calkins, C. R., y Mandigo, R. W. (1987). Effects of preblending, reduced fat and salt levels on frankfurter characteristics. *Journal of Food Science* 52, 1149-1151.
- Hansen, K.M.J., Bautista, D.A. (2000). Spoilage problems, problems caused by bacteria En.: K. Robinson, C.A. Batt, P.D. Patel (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiology*, vol. 3 Academic Press, Bath, pp. 2051–2056
- Harrington, E. (1965). The desirability function. *Industrial Quality Control*, 21, 494-498.
- Hassaballa, A. Z., Mohamed, G. F., Ibrahim, H. M. y Abdelmageed, M.A. (2009). Frozen cooked catfish burger: Effect of different cooking methods and storage on its quality. *Global Veterinaria*, 3, 216-226.
- He F.J. y MacGregor G.A. (2003). How far should salt intake be reduced? *Hypertension*, 42, 1093-1099.
- He F.J. y MacGregor G.A. (2004). Effect of longer-term modest salt reduction on blood pressure. *Cochrane Database Syst Rev*, 3, CD004937.
- He F.J. y MacGregor G.A. (2009). A comprehensive review on salt and health and current experience of worldwide salt reduction programmes. *Journal of Human Hypertension* 23, 363-384.
- Heinemann, T., Leiss, O. and Von Bergmann, K. (1986). Effect of low-dose of sitostanol on serum cholesterol in patients with hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*, 61, 219-223.
- Heinemann, T., Pietruk, B., Kullak-Ublick, G., Pietruk, B. y Von Bergmann, K. (1991). Mechanism of action of plant sterols on inhibition of cholesterol absorption: comparison of sitosterol and sitostanol. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 40, S59-S63.
- Hermansson, A.M. y Langton, M. (1988). Filamentous structures of bovine myosin in diluted suspensions and gels. *Journal of Science Food and Agriculture*, 42, 355–369.

- Hermansson, A-M., Eriksson, E. y Jordansson, E. (1991). Effects of potassium, sodium and calcium on the microstructure and rheological behaviour of kappa-carrageenan gels
- Hills, B. (2007). Water transport and dynamics of foods, in the chemical physics of food. In P. S. Belton (Ed.), *The Chemical Physics of Food*. (pp. 230 - 232). Oxford: Blackwell Publishing Inc.
- Hoenselaar, R. (2012). Saturated fat and cardiovascular disease: The discrepancy cognitive development and neurological disorders. *International Clinical Psychopharmacology*, 21, 319-336.
- Hofmeister, F. (1888) *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* 24, 247-260.
- Holbrook, J.T., Patterson, K.Y., Bodner, J.E., Douglas, L.W., Veillon, C. y Kelsay, J.L. (1984). Sodium and potassium intake and balance in adults consuming self-selected diets. *American Journal of Clinical Nutrition*, 40, 786-793.
- Hongsprabhas, P., y Barbut, S. (1997). Effect of pre-heated whey protein level and salt on texture development of poultry meatbatters. *Food Research International* 32, 145-149.
- Hoogenkamp, H.W. (2011). Protein performance in emulsion stability. *Fleischwirtschaft International*, 3, 54-59.
- Horita, C., Morgano, M., Celeghini, R. y Pollonio, M. (2011). Physico-chemical and sensory properties of reduced-fat mortadella prepared with blends of calcium, magnesium and potassium chloride as partial substitutes for sodium chloride. *Meat Science*, 89, 426-433.
- Hsu, S. Y., Sun, L-Y. (2006). Comparisons on 10 non-meat protein fat substitutes for low-fat Kung-wans. *Journal of Food Engineering*, 74, 47-53.
- Huff-Lonergan, E. y Lonergan, S.M. (2005). Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science*, 71, 194–204.
- Hughes, E., Cofrades, S., y Troy, D.J. (1997). Effects of fat level, oat fibre and carrageenan on frankfurters formulated with 5, 12 and 30g/100 g fat. *Meat Science*, 45, 273-281.
- Huntington JA, Stein PE (2001) Structure and properties of ovalbumin. *Journal of Chromatography B* 756(1-2): 189-198.
- Hutton, T. (2002). Sodium technological functions of salt in the manufacturing of food and drink products. *British Food Journal*, 104, 126 – 152.
- Ibáñez, C., Quintanilla, L., Cid, C., Astiasarán, I. y Bello J. (1996). Dry fermented sausages elaborated with *Lactobacillus plantarum*–*Staphylococcus carnosus*. Part I: Effect of partial replacement of NaCl with KCl on the stability and the nitrosation process *Meat Science*, 44, 227–234.
- Ibáñez, C., Quintanilla, L., Cid, C., Astiasarán, I. y Bello J. (1997). Dry fermented sausages elaborated with *Lactobacillus plantarum*–*Staphylococcus carnosus*. Part II: Effect of partial replacement of NaCl with KCl on the proteolytic and insolubilization processes. *Meat Science*, 46, 277–284.
- Ibáñez, C., Quintanilla, L., Irigoyen, A., Garcia-Jalón, I., Cid, C. y Astiasarán I. (1995). Partial replacement of NaCl with KCl in dry fermented sausages: Influence on carbohydrate fermentation and the nitrosation process. *Meat Science*, 40, 45–53
- INDEC (2005). Programa de vigilancia de la salud y control de enfermedades. Disponible en: http://www.indec.gov.ar/principal.asp?id_tema=7356. Acceso 17-11-2011.

- IOM - Institute of Medicine (2012). Accelerating progress in obesity prevention: Solving the weight of the nation. National Academy of Sciences (pp. 462).
- IARC - International Agency for Research on Cancer (1986). Butylated hydroxytoluene (BHT), IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 41, 161-206.
- Jacobsen, C., Let, M.B., Nielsen, N.S. y Meyer, A.S. (2008). Antioxidant strategies for preventing oxidative flavour deterioration of foods enriched with n-3 polyunsaturated lipids: A comparative evaluation. *Trends in Food Science and Technology*, 19, 76-93.
- Jimenez-Colmenero, F. (2013). Potential applications of multiple emulsions in the development of healthy and functional foods. *Food Research International*, 52, 64-74.
- Jiménez-Colmenero, F. (2000). Relevant factors in strategies for fat reduction in meat products. *Trends in Food Science & Technology*, 11, 56-66.
- Jiménez-Colmenero, F. (2007). Healthier lipid formulation approaches in meat-based functional foods. Technological options for replacement of meat fats by non-meat fats. *Trends in Food Science & Technology*, 18, 567-578.
- Jiménez-Colmenero, F., Ayo, M.J. y Carballo J. (2005). Physicochemical properties of low sodium frankfurter with added walnut: effect of transglutaminase combined with caseinate, KCl and dietary fibre as salt replacers. *Meat Science*, 69, 781-788
- Jiménez-Colmenero, F., Carballo J. y Cofrades S. (2001). Healthier meat and meat products: their role as functional foods *Meat Science*, 59, 5-13.
- Jiménez-Colmenero, F., Cofrades, S., López-López, I., Ruiz-Capillas, C., Pintado T. y Solas, M.T. (2010). Technological and sensory characteristics of reduced/low-fat, low-salt frankfurters as affected by the addition of konjac and seaweed. *Meat Science*, 84, 356-363.
- Jiménez-Colmenero, F., Fernández, P., Carballo, J. y Fernández, F. (1998). High-pressure-cooked low-fat pork and chicken batters as affected by salt levels and cooking temperature. *Journal of Food Science*, 63, 656-659.
- Jones, K.W. (1984) Protein-lipid interactions in processed meats. *Proceedings Recipe Meat Conference*, 37, pp. 52.
- Jones, P.J., Howell, T., MacDougall, D., Feng, J.Y. y Parsons, W. (1998). Short term administration of tall oil phytosterols improves plasma lipid profiles in subjects with different cholesterol levels. *Metabolism*, 47, 751-756.
- Jones, P.J., MacDougall, D.E., Ntanios, F. y Vanstone, C.A. (1997). Dietary phytosterols as cholesterol-lowering agents in humans. *Canadian Journal of Physiological Pharmacology*, 75, 217-227.
- Jones, R.W., y Mandigo, K. W. (1982). Effects of chopping temperature on the microstructure of meat emulsions. *Journal of Food Science*, 47, 1930-1935.
- Jung, M.Y. y Min, D. B. (1990), Effects of α -, γ -, and δ -Tocopherols on Oxidative Stability of Soybean Oil. *Journal of Food Science*, 55: 1464-1465.
- Kanner, J., Harel, S. y Joffe, R. (1991). Lipid peroxidation of muscle food as affected by NaCl. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 39, 1017-1024.
- Katsaras, K. y Peetz, P. (1989). Scanning electron microscopy in meat research. *Alimenta*, 6, 119-122.

- Keeton J.T. (1984). Effects of potassium chloride on properties of country-style hams. *Journal of Food Science*, 49, 146–148.
- Keeton J.T. (1994). Low-fat meat products-technological problems with processing. *Meat Science*, 36, 261-276.
- Keeton, J.T. (1993). Effects of fat and NaCl/Phosphate levels on the chemical and sensory properties of pork patties. *Journal of Food Science*, 48, 878–881.
- Kijowski, J.M., y Mast, M.G.E. (1988). Effect of sodium chloride and phosphates on the thermal properties of chicken meat proteins. *Journal of Food Science*, 53, 367–370, 387.
- Kim, J.Y., Park, H.D., Park, E.J., Chon, J.W. y Park, Y.K. (2009). Growth-inhibitory and proapoptotic effects of alpha-linoleic acid on estrogen-positive breast cancer cells: second look at n-3 fatty acid. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1171, 190-195.
- Kim, Y-J. y Choi I-H. (2012). Utilization of dried garlic powder and α -Tocopherol to improve the shelf-life of emulsion-type sausage during refrigerated storage. *Korean Journal of Food Science*, 32, 725-731.
- Knight, P. y Parsons, N. (1988), Action of NaCl and polyphosphates in meat processing: Responses of myofibrils to concentrated salt solutions, *Meat Science*, 24, 275–300.
- Kobayashi, K., Huang, C., Lodge, T.P. (1999). Thermoreversible Gelation of Aqueous Methylcellulose Solutions. *Macromolecules*, 32 (21), 7070–7077.
- Kokini, J.L., 1992, Rheological properties of foods. In Heldman, D.R. and Lund, D.B.
- Kokini, J.L., Wang, C-F., Huang, H., Shrimanker, S. (1995). Constitutive models of foods. *Journal of Texture Studies*, 26, 421-455.
- Korkeala, H. y Björkroth, K.J. (1997). Microbiological spoilage and contamination of vacuum-packaged cooked sausages: a review. *Journal of Food Protection*, 60, 724–734.
- Kovalskys, I., Bay, L., Rausch Herscovici, C. y Berner, E. (2003). Prevalencia de obesidad en una población de 10 a 19 años en la consulta pediátrica. *Archivos Argentinos de Pediatría*, 101, 441-447.
- Kumano, H., Tatsunori, A., Akio, S., y Seiji, O. (2007). Study on latent heat of fusion of ice in aqueous solutions. *International Journal of Refrigeration*, 30, 267-273.
- Kurozawa, L.E., Park, K.J., Hubinger, M.D. (2009). Effect of maltodextrin and gum arabic on water sorption and glass transition temperature of spray dried chicken meat hydrolysate protein. *Journal of Food Engineering*, 91, 287-296.
- Kwon, B.D., Foss, P.A. y Rha, C. (1987) .Rheological characteristics of high viscosity polysaccharides. En: Yalpani M., editor. *Industrial polysaccharides: genetic engineering, structure/property relations mand applications*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers, p. 253–66.
- Labadie, J. (1999). Consequences of packaging on bacterial growth. Meat is an ecological niche. *Meat Science*, 52, 299–305.
- Labuza, T.P. y Zhou, P. (2007). Effect of water content on glass transition and protein aggregation of whey protein powders during short-term storage. *Food Biophysics* 2, 108-116.
- Ladeira, M.M., Santarosa, L.C., Chizzotti, M.L., Ramos, E.M., Machado, Neto, O.R., Oliveira, D.M., Carvalho, J.R.R., Lopes, L.S. y Ribeiro, J.S. (2014). Fatty acid profile, color and

- lipid oxidation of meat from young bulls fed ground soybean or rumen protected fat with or without monensin. *Meat Science*, 96, 597–605.
- Ladwig, K.M., Knipe, C.L. y Sebrancek, J.G. (1989). Effects of collagen and alkaline phosphate on the time of chopping, emulsion stability and protein solubility of fine cut meat systems. *Journal of Food Science*, 54, 541-544.
- Lanari, M.C., Cassens R.G., Schaefer, D.M. y Scheller K.K. (1994). Effect of dietary vitamin E on pigment and lipid stability of frozen beef: A kinetic analysis. *Meat Science*, 38, 3–15.
- Lanari, M.C., Schaefer, D.M., Cassens, R.G. y Scheller, K.K. (1995). Atmosphere blooming time affect colour and lipid stability of frozen beef from steers supplemented with vitamin E. *Meat Science*, 40, 33–44.
- Larson, R.G., Sridhar, T., Leal, L.G., McKinley, G.H., Likhtman, A.E. y McLeish T.C.B. (2003). Definitions of entanglement spacing and time constants in the tube model. *Journal of Rheology*, 47, 809-816
- Ledward, D.A. (1994). Protein-polysaccharide interactions. En: Editores: Hettiarachchy, N.S. y Ziegler G.R. *Protein Functionality in Food Systems*. Nueva York: Marcel Dekker. (pp 225-259).
- Lee, K. H., Joaquin, H., y Lee, C. M. (2007). Improvement of moistness and texture of high omega-3 fatty acid mackerel nuggets by inclusion of moisture-releasing ingredients. *Journal of Food Science*, 72, 119-124.
- Lee, S., Decker, E.A., Faustman, C., Mancini, R.A. (2005). The effects of antioxidant combinations on color and lipid oxidation in n-3 oil fortified ground beef patties. *Meat Science*, 70, 683–689.
- Lee, S., Hernandez, P., Djordjevic, D., Faraji, H., Hollender, R., Faustman, C., y Decker E.A. (2006a). Effect of antioxidants and cooking on stability of n-3 fatty acids in fortified meat products. *Journal of Food Science*, 71, 233-238.
- Lee, S., Hernandez, P., Djordjevic, D., Faraji, H., Hollender, R., Faustman, C., y Decker E.A. (2006b). Effect of antioxidants on stabilization of meat products fortified with n-3 fatty acids *Meat Science*, 72, 18–24.
- Li, J.Y., Yeh, A.L. y Fan, K.L., (2007). Gelation characteristics and morphology of corn starch/soy protein concentrate composites during heating. *Journal of Food Engineering*, 78, 1240-1247.
- Li, Y.T. y Jiang, Y.M. (2004). Carrageenan and cooked meat products. *Chinese Journal of Meat Research*, 9, 46-47.
- Lin, K. W., Mei, M. Y. (2000). Influences of gums, soy protein isolate, and heating temperatures on reduced-fat meat batters in a model system. *Journal of Food Science*, 65, 48-52.
- Lindsay, R.C. (1996). Food additives En.; O.R. Fennema (Ed.), *Food Chemistry*, Marcel Dekker Inc., New York, pp. 778–780 (Capítulo 12)
- Ling, W.H. and Jones, P.J. (1995). Dietary Phytosterols: A review of metabolism, benefits and side effects. *Life Science*, 57, 195-206.
- Liu, H.F., Booren, A.M., Gray, J.I. y Crackel, R.L.(1992). Antioxidant efficacy of oleoresin rosemary and sodium tripolyphosphate in restructured pork steaks. *Journal of Food Science*, 57, 803-806.

- López-López, I., Cofrades, S. y Jiménez-Colmenero, F. (2009). Low-fat frankfurters enriched with n-3 PUFA and edible seaweed: Effects of olive oil and chilled storage on physicochemical, sensory and microbial characteristics. *Meat Science*, 83, 148–154.
- Lorenzo, G., Zaritzky, N. y Califano, A. (2013). Rheological analysis of emulsion-filled gels based on high acyl gellan gum. *Food Hydrocolloids*, 30, 672-680.
- Luo Y.K., Kuwahara R., Kaneniwa M., Murata Y., y Yokoyama M. (2001). Comparison of Gel Properties of surimi from Alaska Pollock and Three Freshwater Fish Species: Effects of Thermal Processing and Protein Concentration. *Journal of Food Science*, 66, 548-544.
- Lurueña-Martínez, M.A., Vivar-Quintana, A.M., y Revilla I. (2004). Effect of locust bean/xanthan gum addition and replacement of pork fat with olive oil on the quality characteristics of low-fat frankfurters. *Meat Science*, 68, 383-389.
- Ma, F., Chen, C., Sun, G., Wang, W., Fang, H. y Han Z. (2012). Effects of high pressure and CaCl_2 on properties of salt-soluble meat protein gels containing locust bean gum. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 14, 31–37.
- Mackay, J. y Mensah G. (2004) The atlas of heart disease and stroke. OMS. Disponible en: http://www.who.int/cardiovascular_diseases/resources/atlas/en/. Acceso: 21-10-2013.
- Man, C.M.D. (2007). Technological functions of salt in food products. En: Kilcast, D. y Angus, F. (Eds.). *Reducing salt in foods*. Boca Raton, pp. 157–73.
- Marangoni, A. (2009). Novel strategies for nanostructuring liquid oils into functional fats. *Proceedings of the 5th International Symposium on Food Rheology and Structure*, 38–45
- Marchessault, R.H. y Sundararajan, P.R. (1983). Cellulose. En: Aspinall, G.O. (Ed.), *The polysaccharides*. Academic Press, Nueva York.
- Márquez, E.J., Ahmed, E.M., West, R.L. y Johnson, D.D. (1989). Emulsion stability and sensory quality of beef frankfurters produced at different fat or peanut oil levels. *Journal of Food Science*, 54, 867-870.
- Marriott, N.G., Wang, H., Claus, J.R. y Graham, P.P. (1998). Evaluation of restructured low-fat ham containing whey. *Journal of Muscle Foods*, 9, 201–207.
- Martens, H. y Vold, E. (1976). DSC studies of muscle protein denaturation. 22nd Eur. Meet. Meat Research. Work Malmö, J 9.
- Martens, H. y Vold, E. (1976). DSC studies of muscle protein denaturation. En: *Proceedings of the 22nd European meeting of meat research workers, Malmö, Sweden* (p. J 9.3).
- Martens, H.E., Stabursvik, M. (1982). Texture and colour changes in meat during cooking related to thermal denaturation of muscle proteins. *Journal of Texture Studies*, 13, 291–309.
- Martinez, M. y Ballabriga, A. (1987). Effects of parenteral nutrition with high doses of linoleate on the developing human liver and brain. *Lipids*, 22, 133-138.
- Matlock, R.G., Terrell, R.N., Savell, J.W., Rhee, K.S., y Dutson, T.R. (1984). Factors affecting properties of raw-frozen pork sausage patties made with various NaCl/ phosphate combinations. *Journal of Food Science*, 49, 1363-1371
- Matthews, K. y Strong, M. (2005). News and views: Salt industry – its role in meat products and the industry's action plan to reduce it. En: Milton Keynes (Ed) *The meat and livestock commission. British Nutrition Foundation Nutrition Bulletin*, 30, 55–61.

- Matulis, R., McKeith, F., Sutherland, J. y Brewer, M. (1995). Sensory characteristics of frankfurters as affected by fat, salt and pH. *Journal of Food Science*, 60, 42-47.
- Maugey, J., Van Nuland, T. y Navard, P. (2001). Small angle light scattering investigation of polymerisation induced phase separation mechanisms. *Polymer*, 42, 4353–4366.
- McGough, M.M., Sato, T., Rankin, S.A. y Sindelar, J.J. (2012). Reducing sodium levels in frankfurters using naturally brewed soy sauce. *Meat Science*, 91, 69–78
- McNeill, S. y Van Elswyk, M.E. (2012). Red meat in global nutrition. *Meat Science*, 92, 166–173.
- Mei, L., Decker, E.A. y McClemens, D.J. (1998). Evidence of iron association with emulsion droplets and its impact on lipid oxidation. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 46, 5072-5077.
- Meindert Pelser, W., Linssen, J.P.H, Leggera, A. y Houbenc J.H. (2007) .Lipid oxidation in n–3 fatty acid enriched Dutch style fermented sausages. *Meat Science Volume 75*, 1–11.
- Mercadante, A.Z., Capitani, C.D., Decker, E.A. y Castro, I.A. (2010). Effect of natural pigments on the oxidative stability of sausages stored under refrigeration. *Meat Science*, 84, 718–726.
- Mewis J.y Dullaert K. (2006). A structural kinetics model for thixotropy. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 139, 21–30
- Meyer, B.J., Mann, N.J., Lewis, J.L., Milligan, G.C., Sinclair, A.J. y Howe, P.R.C. (2003). Dietary intakes and food sources of omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids. *Lipids*, 38, 391-398.
- Micha, R., Wallace, S. K. y Mozaffarian, D. (2010). Red and processed meat consumption and risk of incident coronary heart disease, stroke, and diabetes mellitus. A systematic review and meta-analysis. *Circulation*, 121, 2271–2283.
- Mielnik, J. y Slinde, E. (1983). Sausage color measured by integrating sphere reflectance spectrophotometry when whole blood or blood cured by nitrite is added to sausages. *Journal of Food Science*, 48, 1723-1725.
- Mine, Y. (1995). Recent advances in the understanding of egg white protein functionality. *Trends in Food Science & Technology*, 6, 225-232.
- Ministerio de Salud de la Nación (2010). Indicadores básicos Argentina 2010. http://www.deis.gov.ar/Publicaciones/archivos/indicadores_2010.pdf. Acceso: 14-02-2011.
- Ministerio de Salud de la Nación (2013). Estadísticas Vitales - Información Básica Año 2012. Serie 5 - Número 56. Disponible en: <http://www.deis.gov.ar/Publicaciones/Archivos/Serie5Nro56.pdf>. Acceso: 29-01-2013.
- Ministerio de Salud de la Nación (2011a). Información de los acuerdos voluntarios con la industria para la reducción progresiva de sodio en los alimentos. Disponible en: <http://msal.gov.ar/ent/MenosSalMasVida/PDF/Iniciativa.pdf>. Acceso: 20-11-2013.
- Ministerio de Salud de la Nación (2011b). Programa Menos Sal +Vida. Disponible en: <http://www.msal.gov.ar/ent/index.php/informacion-para-ciudadanos/menos-sal-vida>. Acceso: 20-11-2013.
- Miura, K., Greenland, P., Stamler, J., Liu, K., Daviglius, M. L. y Nakagawa, H. (2004). Relation of vegetable, fruit, and meat intake to 7-year blood pressure change in middle-aged men: The Chicago Western Electric Study. *American Journal of Epidemiology*, 159, 572–580.

- Monahan, F.J., McClements, D.J. y German, J.B. (1996). Effects of heating on the physical properties of whey protein isolate stabilised emulsions. *J Food Sci* 61:504-509.
- Montejano, J.G., Hamann, D.D. y Lanier, T.C. (1984). Thermally induced gelation of selected comminuted muscle systems—rheological changes during processing, final strengths and microstructure. *Journal of Food Science*, 49, 1496–1505.
- Montero, P., Hurtado, J.L., Pérez-Mateos, M. (2000). Microstructural behaviour and gelling characteristics of myosystem protein gels interacting with hydrocolloids. *Food Hydrocolloids*, 14, 455–461.
- Montes, S., y White, J.L. (1993) Rheological models of rubber-carbon black compounds: low interaction viscoelastic models and high interaction thixotropic - plastic - viscoelastic models. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 49, 277–298.
- Moros, J.E., Franco, J.M. y Gallegos, C. (2002). Rheology of spray-dried egg yolk-stabilized emulsions. *International Journal of Food Science and Technology*, 37, 307-297.
- Morris, E., Rees, D., Robinson, G. y Young G. (1980). Competitive inhibition of interchain interactions in polysaccharide systems. *Journal of Molecular Biology*, 138, 363-374.
- Mours, M., y Winter, H.H. (2000). Mechanical spectroscopy. En: T. Tanaka (Ed.), *Experimental methods in polymer science: modern methods in polymer research and technology* (pp. 495 – 546). San Diego: Academic Press.
- Muchenje, V., Dzama, K., Chimonyo, M., Strydom, P. E., Hugo, y A., Raats, J. G. (2009). Some biochemical aspects pertaining to beef eating quality and consumer health: a review. *Food Chemistry*, 112, 279-289.
- Muguerza E., Ansorena D., Astiasarán I. (2004). Functional dry fermented sausages manufactured with high levels of n-3 fatty acids: nutritional benefits and evaluation of oxidation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 1061–1068,
- Muguerza, E., Fista, G., Ansorena, D., Astiasaran, I., y Bloukas, J. G. (2002). Effect of fat level and partial replacement of pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 61, 397–404.
- Mulvihill, D.M. y Kinsella, J.E. (1987). Gelation characteristics of whey proteins and β -lactoglobulin. *Food Technology*, 41, 102–111.
- Murphy, S.C., Gilroy, D., Kerry, J.F., Buckley, D.J., y Kerry, J.P. (2004). Evaluation or surimi, fat and water content in a low/no added pork sausage formulation using response surface methodology. *Meat Science*, 66, 689-701.
- Myers, R.H., Montgomery, D.C. (2002). *Response surface methodology: Process and product optimization using designed experiments*. (2nd ed.). New York: Wiley, (Capítulo 3).
- NIH - National Institute of Health. (2013). Butylated Hydroxyanisole (BHA). Report on Carcinogens, Eleventh Edition, National Institutes of Health. CAS No. 25013-16-5.
- Nychas, G.J., Drosinos, E.H., 2000. Spoilage of meat. In: Robinson, K., Batt, C.A., Patel, P.D. (Eds.), *Encyclopedia of Food Microbiolog.*, Vol. 2. Academic Press, Bath, pp. 1253–1260.
- Ochoa, E. y Buckton, G. (1996). Dynamic surface tension studies of hydroxypropylmethylcellulose film-coating solutions. *International Journal of Pharmaceutics* Volume 145, Issues 1–2, 6 December 1996, Pages 197–201

- Oellingrath, I.M. y Slinde, E. (1985). Color, pigment and iron content of meat loaves with blood, blood emulsion, or mechanically deboned meat added. *Journal of Food Science*, 50, 1551–1555.
- Offer, G. y Knight, P. (1988). The structural basis of water-holding in meat. Part 2: Drip losses. *Developments in Meat Science*, 4, 173-243.
- Okiy, D.A. y Oke, O.L. (1984). A study on the effects of salt and pepper on palm oil used as a frying medium. *Food Chemistry*, 14, 251–261.
- OMS - Organización Mundial de la Salud. (2003). Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases. Joint WHO/FAO Expert Consultation. WHO Technical Report Series no. 916. Geneva: WHO.
- OMS - Organización Mundial de la Salud. (2004). World Health Report. WHA57.17. Disponible en: <http://www.who.int/entity/healthinfo/bodgbddeathdalyestimates/en/index.html>. Acceso: 25-02-2009.
- OMS - Organización mundial de la salud. (2007). Prevention of cardiovascular disease: guidelines for assessment and management of cardiovascular risk.
- OMS - Organización Mundial de la Salud. (2008). Organización Mundial de la Salud. WHO/World Economic Forum Report of a Joint Event. Disponible en: http://www.who.int/entity/dietphysiocalactivity/WHOWEF_report_Jan2008_FINAL.pdf. Acceso: 25-02-2009.
- OMS - Organización mundial de la salud. (2010a). Global status report on non- communicable diseases. WHO, 164. Acceso: 15-02-2011.
- OMS - Organización Mundial de la Salud. (2013). The top 10 causes of death, Fact sheet N°310, Updated July 2013, OMS, Disponible en: <http://who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/>. Acceso: 20-11-2013.
- OPS - Organización Panamericana de la Salud (2011). Informe final del grupo de expertos de la oms/ops sobre la prevención de las enfermedades cardiovasculares mediante la reducción de la ingesta de sal alimentaria de toda la población. Disponible en: http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=21559&Itemid=.pp. 1-54. Acceso: 13-01-2014.
- Orellana C., Peña, F., García, A., Perea, J., Martos, J., Domenech V. y Acero, R. (2009). Carcass characteristics, fatty acid composition, and meat quality of Criollo Argentino and Braford steers raised on forage in a semi-tropical region of Argentina. *Meat Science*, 81, 57–64.
- Orlien, V., Anderson, M. L., Jouhtimaki, S., Risbo, J., & Skibsted, L. H. (2004). Effect of temperature and glassy states on the molecular mobility of solutes in frozen tuna muscle as studied by electron spin resonance spectroscopy with spin probe detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 2269–2276.
- Osinchak, J.E., Hultin, H.O., Olver, T.Z., Zajicek, O.T., Kelleher, S.D. y Huang, C.H. (1992). Effect of NaCl on catalysis of lipid oxidation by the soluble fraction of fish muscle. *Free Radical Biobiological Med*, 12, 35-41.
- Ostlund, R.E. (2007). Phytosterols, cholesterol absorption and healthy diets. *Lipids*, 42, 41–45.
- Owusu-Apenten, R.K. (2000). Testing protein functionality. En: Woodhead, R.Y. (Ed), *Proteins in Food Processing*. Publishing Limited, Cambridge Reino Unido.

- Pacheco Pérez, W.A., Arias Muñoz, C.E. y Restrepo Molina D.A. (2012). Efecto de la reducción de cloruro de sodio sobre las características de calidad de una salchicha tipo seleccionada. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín*, 65, 202-212.
- Paneras, E.D. y Bloukas, J.G. (1994). Vegetable oils replace pork backfat for low-fat frankfurters. *Journal of Food Science*, 59, 725–728.
- Park, J.W. (1994). Functional protein additives in surimi gels. *Journal of Food Science*, 59, 525–527.
- Park, J.W., Rhee, K., Keeton, J., y Rhee, K. (1989). Properties of low-fat frankfurters containing monounsaturated and omega-3 polyunsaturated oils. *Journal of Food Science*, 54, 500-504.
- Park, J.W., Rhee, K., y Zipri, Y. (1990). Low-fat frankfurters with elevated levels of water and oleic acid. *Journal of Food Science*, 55, 871-74.
- Pennisi Forell, S.C., Ranalli, N., Zaritzky, N.E., Andrés, S.C., Califano, A.N. (2010). Effect of type of emulsifiers and antioxidants on oxidative stability, colour and fatty acid profile of low-fat beef burgers enriched with unsaturated fatty acids and phytosterols. *Meat Science*, 86, 364-370.
- Pérez, O.E., Wargon, V. y Pilosof, A.M.R. (2006). Gelation and structural characteristics of incompatible whey proteins/hydroxypropylmethylcellulose mixtures. *Food Hydrocolloids*, 7, 966–974.
- Pietrasik, Z. (2003). Binding and textural properties of beef gels processed with κ -carrageenan, egg albumin and microbial transglutaminase. *Meat Science*, 63, 317-324.
- Pietrasik, Z. y Jarmoluk, A. (2003). Effect of sodium caseinate and κ -carrageenan on binding and textural properties of pork muscle gels enhanced by microbial transglutaminase addition. *Food Research International*, 36, 285–294.
- Pietrasik, Z., y Duda, Z. (2000). Effect of fat content and soy protein/carrageenan mix on the quality characteristics of comminuted, scalded sausages. *Meat Science*, 56, 181-188.
- Pietrasik, Z., y Li-Chan, E. C. Y. (2002). Response surface methodology study on the effects of salt, microbial transglutaminase and heating temperature on pork batter gel properties. *Food Research International*, 35, 387-396.
- Ping-Mei, Y., Wen-Tong, X., Sze-Sze, T., Hui, Z., Xiao-Hui, C. (2008). Effect of inoculating lactic acid bacteria starter cultures on the nitrite concentration of fermenting Chinese paocai. *Food Control*. 19, 50–55.
- Pitsavos, C., Milias, G.A., Panagiotakos, D.B., Xenaki, D., Panagopoulos, G. y Stefanadis, C. (2006). Prevalence of self-reported hypertension and its relation to dietary habits; a nutrition & health survey in Greece. *BMC Public Health*, 6, 206.
- Pollard, M., Kelly, R., Fischer, P., Windhab, E., Eder, B. y Amadò, R. (2008). Investigation of molecular weight distribution of LBG galactomannan for flours prepared from individual seeds, mixtures, and commercial samples. *Food Hydrocolloids*, 22, 1596-606.
- Prajapati, V.D., Girish K.J., Naresh G.M., Narayan, P., Randeria, B. y Nagar, J. (2013). Locust bean gum: A versatile biopolymer. *Carbohydrate Polymers*, 94, 814–821.
- Quintana, M., Califano, A., Zaritzky, N., Partal, P., Franco, J.M. (2002). Linear and nonlinear viscoelastic behavior of oil-in-water emulsions stabilized with polysaccharides. *Journal of Texture Studies*, 33, 215–236.

- Rakosky, J. (1970). Soy products for the meat industry. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 18, 1005-1011.
- Ramirez, J.A., Barrera, M., Morales, O.G. y Vázquez, M. (2002) Effect of xanthan and locust bean gums on the gelling properties of myofibrillar protein. *Food Hydrocolloids*, 55, 696-701.
- Ranalli, N., Andrés, S., y Califano, A. (2012). Physicochemical and rheological characterization of "Dulce de Leche". *Journal of Texture Studies*, 43, 115–123.
- Reagan, J.O., Liou, F.H., Reynolds, A.E. y Carpenter, J.A. (1983). Effect of processing variables on the microbial, physical and sensory characteristics of pork sausage. *Journal of Food Science*, 48, 146–149.
- Renou, F., Petibon O., Malhiac C. y Grisel, M. (2013). Effect of xanthan structure on its interaction with locust bean gum: Toward prediction of rheological properties. *Food Hydrocolloids*, 32, 331–340.
- Riera, J.B., Martínez, M. R., Salcedo, R. C., Juncosa, G. M., & Sellart, J. C. (1996). Process for producing a low sodium meat product. US Patent 5534279.
- Rodríguez Castellanos, F.E. (2006). Hipertensión arterial sistémica y sensibilidad a la sal (Salt-sensitive hypertension). *Archivos de Cardiología Mexicanos*, 76, 642-649.
- Roos, K.D. (1978). Differential scanning calorimetry of nonfreezable water in solute-macromolecule-water systems. *Journal of Food Science*, 43, 1812–1815.
- Ross-Murphy, S.B. (1984). Rheological Methods. En Chan, H.W.S. (Ed.), *Biophysical Methods in Food Research* (pp. 138 - 199). Alden Press, Oxford, Reino Unido.
- Rowe, R., Sheskey, P. y Owen, S. (2006). *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. 5ta edición. Pharmaceutical Press, Londres, Reino Unido.
- Rust, R.E. (1987). Science of meat and meat products. En J.F. Schweigert y B.S. Schweigert (Eds), *Food and Nutrition 3rd ed.* Press Inc., Trumbull, CT. pp. 457–485.
- Ruusunen M. y Puolanne E. (2005). Reducing sodium intake from meat products. *Meat Science*, 70, 531–541.
- Samejima, K., Ishioroshi, M., Yasui, T. (1981). Relative roles of the head and tail portions of the molecule in heat-induced gelation of myosin. *Journal of Food Science*, 46, 1412–1418.
- Samelis, J., Aggelis, G. y Metaxopoulo, J. (1993). Lipolytic and microbial changes during the natural fermentation and ripening of Greek dry sausages. *Meat Science*, 35, 371-385.
- Sanhueza, J., Nieto, S., Valenzuela, A. (2004). Docosahexaenoic acid (DHA), brain development, memory and learning: the importance of perinatal supplementation. *Revista Chilena Nutricion*, 31, 84-92.
- Sarkar, N. y Walker, L.C. (1995). Hydration-dehydration properties of methylcellulose and hydroxypropylmethylcellulose. *Carbohydrates Polymers*, 27, 177-185.
- Satia-About., J., Patterson, R.E., Neuhouser, M.L. y Elder, J. (2002). Dietary acculturation: applications to nutrition research and dietetics. *Journal of American Diet Association*, 102, 1105-1118.
- Savadkoochi, S., Shamsi, K., Hoogenkamp, H. Javadi, A., Farahnaky, A. (2013). Mechanical and gelling properties of comminuted sausages containing chicken MDM. *Journal of Food Engineering*, 117, 255–262.

- Schuh, V., Allard, K., Herrmann, K., Gibis, M., Kohlus, R. y Weiss J. (2013). Impact of carboxymethyl cellulose (CMC) and microcrystalline cellulose (MCC) on functional characteristics of emulsified sausages. *Meat Science*, 93, 240-247.
- Seman, D.L., Olson, D.G., y Mandigo, R.W. (1980). Effect of reduction and partial replacement of sodium on bologna characteristics and acceptability. *Journal of Food Science*, 45, 1116-1121.
- SENASA (1999). Resolución SENASA N° 1128/99 Anexo nomenclador para carnes bovinas. Disponible en: <http://www.senasa.gov.ar/Archivos/File/File4400-rs-1128-99.pdf> Acceso 10-01-2014. pp. 1-22. Acceso 17-01-2014.
- Serrano, S., Cofrades, C., Ruiz-Capillas, B., Olmedilla-Alonso, C., Herrero-Barbudo, F. y Jiménez-Colmenero, F. (2005).
- Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria (SENASA). (1999). Nomenclador para carnes bovinas. Disponible en: <http://www.senasa.gov.ar/Archivos/File/File723-Nomenclador%20para%20carnes%20bovinas.pdf>. Acceso: 01-11-2010.
- Shahidi, F. (1992). Current and novel methods for stability testing of canola oil. *Inform*, 3, 543-544.
- Sharp, A. y Offer, G. (1992). The mechanism of formation of gels from myosin molecules *Journal of Science Food and Agriculture*, 58, 63–73.
- Sindelar, J. y Milkowski, A. (2012). Human safety controversies surrounding nitrate and nitrite in the diet. *Nitric Oxide*, 26, 259–266.
- Siripurapu, S.C.B., Mittal, G.S. y Blaisdell, J.L. (1987). Textural and viscoelastic characteristics of meat emulsion products during cooking. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 20, 68–73.
- Siri-Tarino, P.W., Sun, Q., Hu, F.B. y Krauss, R.M. (2010). Meta-analysis of prospective cohort studies evaluating the association of saturated fat with cardiovascular disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 91, 535–546.
- Sittikijyothin, W., Sampaio P. y Gonçalves, M.P. (2010). Microstructure and rheology of β -lactoglobulin–galactomannan aqueous mixtures. *Food Hydrocolloids*, 24, 726-734.
- Sliwinski, E.L., Roubos, P.J., Zoet, F.D., Van Boekel. M.A.J.S. y Wouters, J.T.M. (2003). Effects of heat on physicochemical properties of whey protein-stabilised emulsions. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 31, 231–42.
- Smith, D.M. (1988). Meat proteins: functional properties in comminuted meat products. *Food Technology*, 42, 116–21.
- Smith, D.M. y Alvarez, V. (1988). Stability of vacuum cook-in-bag turkey breast rolls during refrigerated storage. *Journal of Food Science*, 53, 46-53.
- Sociedad Argentina de Pediatría (2005). Consenso sobre factores de riesgo de enfermedad cardiovascular en pediatría. Obesidad. Subcomisión de Epidemiología y Comité de Nutrición. *Archivos argentinos de pediatría*, 103, 262-281
- Sofos, J.N. (1983). Effects of reduced salt (NaCl) levels on sensory and instrumental evaluation of frankfurters. *Journal of Food Science*, 48, 1692-1696.
- Sofos, J.N. (1983). Effects of reduced salt (NaCl) levels on the stability of frankfurters. *Journal of Food Science*, 48, 1684–1691.

- Sofos, J.N., y Allen, C.E. (1977). Effects of lean meat source and levels of fat and soy protein on the properties of wiener-type products. *Journal of Food Science*, 42, 876-878.
- Stabursvik, E. y Martens, H. (1980). Thermal denaturation of proteins in post rigor muscle tissue as studied by differential scanning calorimetry. *Journal of Science Food and Agriculture*, 31, 1034–1042.
- Steffe J. F. *Rheological methods in food process engineering* Second Edition. 1996.
- Stokes J. y Frith W. (2008). Rheology of gelling and yielding soft matter systems. *Soft Matter*, 4, 1133–1140.
- Stone, A.K. y Nickerson, M.T. (2012). Formation and functionality of whey protein isolate–(kappa-, iota-, and lambda-type) carrageenan electrostatic complexes. *Food Hydrocolloids*, 27, 271–277.
- Stone, D.W. y Stanley, A.P. (1992). Gelation of fish muscle proteins. *Food Research International*, 25, 381–388.
- Strazzullo, P., D’Elia, L., Kandala, N.B. y Cappuccio, F.P. (2009). Salt intake, stroke, and cardiovascular disease: meta-analysis of prospective studies. *BMJ*, 339-4567.
- Su, Y.K., Bowers, J.A., Zayas, J.F. (2008). Physical characteristics and microstructure of reduced-fat frankfurters as affected by salt and emulsified fats stabilized with nonmeat proteins. *Journal of Food Science*, 65, 123–128.
- Subhadra, B., Lochmann, R., Rawles, S., y Chen, R. (2006). Effect of dietary lipid source on the growth, tissue composition and hematological parameters of largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Aquaculture*, 255, 210–222.
- Sun, X.D. y Holley, A.H. (2011). Factors influencing gel formation by myofibrillar proteins in muscle foods. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 10, 33-51.
- Syrbe, A., Bauera, W.J., Klostermeyer, H. y Cornell, J.A. (1981). An overview of milk protein and food hydrocolloid interaction experiments with mixtures designs models, and the analysis of mixture data. John Wiley y Sons, Nueva York, Estados Unidos.
- Szczesniak, A.S. (1963). Classification of textural characteristics. *Journal Food Science*, 28, 285-289.
- Taal, M.W., Chertow, G.M., Marsden, P.A., Skorecki, K., Yu A.S.L., Brenner, B.M. (2011). Brenner and Rector’s the kidney In: Saunders Elsevier.
- Tabilo-Munizaga, G. R. y Barbosa Cánovas G.V. (2005). Rheology for the food industry. *Journal of Food Engineering*, 67, 147–156.
- Tako, M., Asato, A., Nakamura, S. (1984). Rheological aspects of the intermolecular interaction between xanthan and locust bean gum in aqueous media. *European Polymer Journal*, 48, 2995-3000.
- Taylor, R.S., Ashton, K.E., Moxham, T., Hooper, L. y Ebrahim, S. (2011). Reduced dietary salt for the prevention of cardiovascular disease. *Cochrane Database Syst Rev*, 7, CD009217.
- Thorarinsdottir, K.A, Arason, S., Geirsdottir, M., Bogason, S.G., y 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.

- Tolstoguzov, V.B. (1990). Thermodynamic parameters of the junction zones in thermoreversible maltodextrin gels. *Carbohydrate Polymers*, 12, 245-253
- Tolstoguzov, V.B. (1996). Structure-Property Relationships in Foods. ACS Symposium Series 650, X-14.
- Tolstoguzov, V.B. (1997). Thermodynamic aspects of dough formation and functionality. *Food Hydrocolloids*, 11, 181-193.
- Tolstoguzov, V.B. (1998). Physico-chemical modification of food proteins: food emulsions. *Die Nahrung*, 42, 205-209.
- Tolstoguzov, V.B. (2003). Some thermodynamic considerations in food formulation. *Food Hydrocolloids*, 17, 1–23.
- Tornberg, E. (2005). Effects of heat on meat proteins – Implications on structure and quality of meat products. *Meat Science*, 70, 493–508.
- Totosaus, A. y Pérez-Chabela, M.L. (2009). Textural properties and microstructure of low-fat and sodium-reduced meat batters formulated with gellan gum and dicationic salts. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 563–569.
- Totosaus, A., Alfaro-Rodriguez, R.H. y Pérez-Chabela, M.L. (2004). Fat and sodium chloride reduction in sausages using kappa-carrageenan and other salts. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 55, 371-380.
- Trius, A., Sebranek, J. G., Rust, R.E., y Carr, J.M. (1994a). Low-fat bologna and beaker sausage: Effect of carrageenans and chloride salts. *Journal of Food Science*, 59, 941-945.
- Trius, A., Sebranek, J.G., Rust, R.E., y Carr, J.M. (1994b). Carrageenans in beaker sausage as affected by pH and sodium tripolyphosphate. *Journal of Food Science*, 59, 946-951.
- Trout, G.R., Hanrahan, B., Dinh, J. y Chai, J. (1998) Incidence of fish-oil fatty acids in Australian ham and effects on rancidity development during frozen storage. *Proceedings*. En: *Proceedings of 44th international congress of meat science and technology*, Barcelona, Spain.
- Tsai, S-J., Unklesbay, N., Unklesbay, K., y Clarke, A. (1998). Water and absorptive properties of restructured beef products with five binders at four isothermal temperatures. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 31, 78-83.
- Tschoegel, N.W. (1997). Time dependence in material properties: An overview. *Mechanics of Time Dependent Materials*, 1, 3-31.
- Turgeon, S.L. Beaulieu, M., Schmitt, C. y Sanchez, C. (2003). Protein–polysaccharide interactions: phase-ordering kinetics, thermodynamic and structural aspects. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 8, 401–414.
- Ulbricht, T.L.V., y Southgate, D.A.T. (1991). Coronary heart-disease – 7 dietary factors. *Lancet*, 338, 985-992.
- Ulu, H. (2004). Evaluation of three 2-thiobarbituric acid methods for the measurement of lipid oxidation in various meats and meat products. *Meat Science*, 67, 683–687.
- USDA, (2013). National nutrient database for standard reference release 26. Disponible en: <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/search/list>. Acceso 15-07-2013.
- USDA-FSIS (2008). USDA-Food Safety and Inspection service strategic plan 2008-2013. pp-56. Acceso 16/5/2013.

- USDA-FSIS. (2006). Serotypes profile of Salmonella isolates from meat and poultry products January 1998 through December 2005 No. 2007. USDA-FSIS, Washington, DC.
- Valencia, I., Ansorena, D. y Astiasarán, I. (2006a). Nutritional and sensory properties of dry fermented sausages enriched with n-3 PUFAs. *Meat Science*, 72, 727–733.
- Valencia, I., Ansorena, D., y Astiasarán, I. (2006b). Stability of linseed oil and antioxidants containing dry fermented sausages: A study of the lipid fraction during different storage conditions. *Meat Science*, 63, 269-277.
- Valencia, I., Ansorena, D., y Astiasarán, I. (2007). Development of dry fermented sausages rich in docosahexaenoic acid with oil from the microalgae *Schizochytrium* sp.: Influence on nutritional properties, sensorial quality and oxidation stability. *Food Chemistry*, 39, 1087–1096.
- Valenzuela, A. y Ronco, A.M. (2004). Fitoesteroles y fitoestanoles: aliados naturales para la protección de la salud cardiovascular. *Revista Chilena de Nutrición*, 21, 161-169.
- Valenzuela, A. y Nieto, S. (2001). Acido docosahexaenoico (DHA) en el desarrollo fetal y en la nutrición materno-infantil. *Revista de Medicina de Chile*, 129, 1203-1211.
- Valenzuela, A., Ronco, C. y Nieto, S. (1995). Tecnologías aplicables a la industrialización de los aceites marinos para permitir su aplicación en la alimentación. *Alimentos*, 20, 1-14.
- Vandendriessche, F. (2008). Meat products in the past, today and in the future. *Meat Science*, 78, 104–113.
- Varnalis, A. I., Brennan, J. G., Macdougall, D. B., y Gilmour, S. G. (2004). Optimization of high temperature puffing of potato cubes using response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, 61, 153-163.
- Varnam, A.H. y Sutherland, J.P. (1995). Cured meats. En *Meat and meat products – technology, chemistry and microbiology* (pp. 167–210). Londres, RU: Chapman & Hall
- Vaudagna, S. R., Pazos, A. A., Guidi, S. M., Sánchez, G., y Gonzalez, C. B. (2008). Effect of salt addition on sous vide cooked whole beef muscles from Argentina. *Meat Science*, 79, 470-482.
- Velioğlu, H. M., Velioğlu, S. D., Boyaci, I. H., Yilmaz, I., y Kurultay, Ş. (2010). Investigating the effects of ingredient levels on physical quality properties of cooked hamburger patties using response surface methodology and image processing technology. *Meat Science*, 84, 477-483.
- Venegas Fornias, O., Pérez Dubé, D. *Pastas Finas Cárnicas*, 2006. 69 p. ISBN 959- 7003-17-1.
- Verbeken, D., Neirinck, N., Van Der Meeren, P., y Dewettinck, K. (2005). Influence of κ-carrageenan on the thermal gelation of salt-soluble meat proteins. *Meat Science*, 70, 161-166.
- Wagemakers, J. J. M. F., Prynne, C. J., Stephen, A. M. y Wadsworth, M. E. J. (2009). Consumption of red or processed meat does not predict risk factors for coronary heart disease; results from a cohort of British adults in 1989 and 1999. *European Journal of Clinical Nutrition*, 63, 303–311.
- Wagner J.R. y Añón M.C. (1986). Effect of frozen storage on protein denaturation in bovine muscle. Myofibrillar ATPase activity and differential scanning calorimetric studies. *Journal of Food Technology*, 21, 9–14.

- Waldir, H. y Walstra, G.D. (2003). Bonds and interaction forces. En.: P. Walstra (Ed.), *Physical chemistry of foods*, Marcel Dekker Inc., New York, pp. 46–58
- Wang, L., Manson, J. E., Buring, J. E. y Sesso, H. D. (2008). Meat intake and the risk of hypertension in middle-aged and older women. *Journal of Hypertension*, 26, 215–222.
- Weiss, J., Gibis, M., Schuh, V. y Salminen, H. (2010). Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. *Meat Science*, 86, 196–213
- Westphalen, A.D., Briggs, J.L., y Lonergan, S.M. (2005). Influence of pH on rheological properties of porcine myofibrillar protein during heat induced gelation. *Meat Science*, 70, 293-299.
- White, P.J. y Xing, Y. (1997). Antioxidants from cereals and legumes. En: F. Shahidi (Ed.), *Natural antioxidants*, AOCS Press, Champaign, pp. 25–63
- Whiting R.C. (1984), Addition of phosphates, proteins, and gums to reduced-salt frankfurter batters. *Journal of Food Science*, 49, 1355–1357.
- Winter, H.H., Mours, M., 2006. The cyber infrastructure initiative for rheology. *Rheologica Acta*, 45, 331–338.
- Wollenweber, E., Wehde, R., Dörr, M., Lang, G. y Stevens F.J. (2000). C-methyl-flavonoids from leaf exudates of some Myrtaceae *Phytochemistry*, 55 (2000), pp. 965–970
- Wright D.J. y Wilding P. (1984). Differential scanning calorimetric study of muscle and its proteins: myosin and its subfragments. *Journal of Science Food and Agriculture*, 35, 357–372.
- Wright D.J., Leach I.B. y Wilding P. (1977). Differential scanning calorimetric studies of muscle and its constituents. *Journal of Science Food and Agriculture*, 557-561.
- Xiong, Y.L. (1997). Structure/function relationship of muscle proteins. En: (Eds S. Damodaran y A. Paraf) *Food Proteins and their Application*, pp. 359-/364. New York, Marcel Dekker.
- Xiong, Y.L., Noel, D.C. y Moody, W.G. (2000). Textural and sensory properties of low-fat beef sausages with added water and polysaccharides as affected by pH and salt. *Journal of Food Science*, 64, 550-554.
- Yang, A., Keeton, J.T., Beilken, S.L. y Trout, G.R. (2001) Sensory and nutritive qualities of food evaluation of some binders and fat substitutes in low-fat frankfurters. *Journal of Food Science*, 66, 1039-1046.
- Yang, A., Lanari, M.C, Brewster, M y Tume, R.K. (2002). Lipid stability and meat colour of beef from pasture and grain fed cattle with or without vitamin E supplement. *Meat Science*, 60, 41–50.
- Yasui, T., Ishioroshi, M. y Samejima, K. (1980). Heat-induced gelation of myosin in the presence of actin. *Journal of Food Biochemistry*, 4, 61–78.
- Yetim, H., Müller, W.D., Dogan, M. y Klettner, P.G. (2006). Using fluid whey in comminuted meat products: effects on textural properties of frankfurter-type sausages. *Food Research International*, 34, 97–101.
- Yılmaz, I., Şimşek, O. y Işıklı, M. (2002). Fatty acid composition and quality characteristics of low-fat cooked sausages made with beef and chicken meat, tomato juice and sunflower oil. *Meat science*, 62, 253-258.
- Youssef, M. K. y Barbut, S. (2009). Effects of protein level and fat/oil on emulsion stability, texture, microstructure and color of meat batters. *Meat Science*, 82, 228-233.

- Youssef, M. K. y Barbut, S. (2010). Effects of caseinate, whey and milk proteins on emulsified beef meat batters prepared with different protein levels. *Journal of Muscle Foods*, 21, 785-800.
- Youssef, M. K. y Barbut, S. (2011). Effects of two types of soy protein isolates, native and preheated whey protein isolates on emulsified meat batters prepared at different protein levels. *Meat Science* 87, 54-60.
- Zanardi, E., Ghidini, S., Conter, M. y Ianieri, A. (2010). Mineral composition of Italian salami and effect of NaCl partial replacement on compositional, physico-chemical and sensory parameters. *Meat Science*, 86, 742–747.
- Zhang, Y. y Cremer, P.S. (2006). Interactions between macromolecules and ions: The Hofmeister series. *Current Opinion in Chemical Biology*, 10, 658–663.
- Zhou, P. y Labuza, T.P. (2007). Effect of water content on glass transition and protein aggregation of whey protein powders during short-term storage. *Food Biophysics*, 2, 108-116.