



UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA
Departamento de Ingeniería

“Fuente alternativa de nitratos para la industria cárnica:
Influencia del extracto de apio y cultivos iniciadores
sobre el color del jamón cocido tipo Medellín”

Memoria realizada para optar al grado de Doctor

Presentada por: **JORGE ANDRÉS GALLEGO RESTREPO**

Dirigida por: **Dr. JOSÉ ÁNGEL PÉREZ ÁLVAREZ**



**RICARDO ABADÍA SÁNCHEZ, DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE
INGENIERÍA DE LA UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE**

INFORMA: Favorablemente que la Tesis titulada “**FUENTE ALTERNATIVA DE NITRATOS PARA LA INDUSTRIA CÁRNICA: INFLUENCIA DEL EXTRACTO DE APIO Y CULTIVOS INICIADORES SOBRE EL COLOR DEL JAMÓN COCIDO TIPO MEDELLÍN**”, de la que es autor el doctorando **D. JORGE ANDRES GALLEGO RESTREPO** y dirigida por el Dr. José Ángel Pérez Álvarez, tiene la conformidad de este Departamento para que sea depositada, ya que cumple con los requisitos en cuanto forma y contenido.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmo la presente en Orihuela, a once de septiembre de dos mil trece.

Fdo. Dr. Ricardo Abadía Sánchez
Departamento Ingeniería
Universidad Miguel Hernández



ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA
DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA
GRUPO INDUSTRIALIZACIÓN DE PRODUCTOS DE ORIGEN ANIMAL (IPOA)

JOSÉ ANGEL PÉREZ ALVAREZ, CATEDRÁTICO DE UNIVERSIDAD, ADSCRITO AL DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA, ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA DE LA UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE.

CERTIFICA: Que la Tesis Doctoral titulada “FUENTE ALTERNATIVA DE NITRATOS PARA LA INDUSTRIA CÁRNICA: INFLUENCIA DEL EXTRACTO DE APIO Y CULTIVOS INICIADORES SOBRE EL COLOR DEL JAMÓN COCIDO TIPO MEDELLÍN”, de la que es autor el doctorando **D. JORGE ANDRES GALLEGO RESTREPO** ha sido realizada bajo mi dirección, que dicha tesis es un trabajo original que cumple con los requisitos establecidos en la Legislación vigente, que autoriza su presentación y defensa pública.

Y para que conste a los efectos oportunos, firmo la presente en Elche, a 11 de septiembre de dos mil trece.

Fdo. Prof. Dr. José Ángel Pérez Álvarez
Departamento Tecnología Agroalimentaria
Universidad Miguel Hernández

Departamento de Tecnología Agroalimentaria
Escuela Politécnica Superior de Orihuela
Universidad Miguel Hernández de Elche
Carretera a Beniel km. 3,2 03312 Orihuela Alicante
ja.perez@umh.es

1



Industrialización de productos de origen animal

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi profundo agradecimiento a todas las personas que hicieron posible este proyecto. Gracias por la paciencia, el apoyo y la comprensión para todos esos seres maravillosos que acompañaron mi camino a la obtención del título de Doctor. Ellos son:

Oscar Alberto Ochoa: Un jefe excepcional y un gran amigo, por su pertinente acompañamiento y orientación en todo el desarrollo del trabajo.

José Ángel Pérez Álvarez: Mi director, por todo su apoyo incondicional y por guiar mi camino en el mundo de la ciencia.

Yaneth Montes y Elly Vanessa Acosta: Por apoyar incondicionalmente el desarrollo de este trabajo.

Carlos Diosa, Juan Guillermo Puerta, Juan Carlos Gutiérrez y Alejandro Naranjo: Por colaborar en la ejecución de las pruebas experimentales.

Juan Camilo Ospina y Gustavo Zapata: Compañeros de viaje, compañeros de vida.

Industria de Alimentos Zenú: Por facilitar los recursos necesarios para este recorrido académico.

Finalmente a Dios y a mi familia: Mis padres Jorge Gallego y Cecilia Restrepo; a mi hermana Paula y mi sobrino Simón. A mi amada esposa Marcela García, mi futuro hijo (a) y Ruffito. Todos ellos dignos de los más altos calificativos y mi más sincero cariño. Gracias.



Tabla de contenido

1	ESTRUCTURA DE LA TESIS	9
2	INTRODUCCIÓN	10
2.1	Generalidades	10
2.2	Química del curado	13
2.3	Utilización de nitrito de sodio para productos cárnicos	15
2.3.1	Desarrollo del color.....	15
2.3.2	Capacidad antioxidante.....	18
2.3.3	Función antimicrobiana	20
2.3.4	Desarrollo de Flavor	21
2.3.5	Otros efectos	22
2.4	Posibilidades de sustitución o reducción del Nitrito de Sodio en productos cárnicos	22
2.4.1	Sustitución del nitrito de sodio.	23
2.4.2	Reducción del Nitrito de Sodio	32
2.5	Conclusiones.....	38
3	OBJETIVOS	45
3.1	Objetivo General.....	45
3.2	Objetivos Específicos	45
4	MATERIALES Y MÉTODOS	46
4.1	Formulación.....	46
4.2	Proceso de elaboración.....	46
4.3	Análisis del color.....	49
4.4	Análisis de nitritos y nitratos residuales.....	49
4.5	Análisis de pH.....	50
4.6	Determinación instrumental de la dureza.....	50
4.7	Análisis químico.....	50
4.8	Análisis sensorial – Prueba triangular	51
4.9	Análisis sensorial – Perfil sensorial	51
4.10	Análisis microbiológico	51
4.11	Análisis estadístico	52
5	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	53
5.1	Utilización de cultivos iniciadores y fuentes alternativas de nitrito sódico en el proceso de elaboración de un Jamón Cocido tipo Medellín: Influencia sobre el color.....	53
5.1.1	Resumen	53
5.1.2	Generalidades	53
5.1.3	Diseño experimental.....	55
5.1.4	Resultados.....	57
5.1.5	Conclusiones.....	66
5.2	Efecto del tratamiento térmico realizado a temperatura constante sobre el color, nitratos, nitritos residuales, pH y atributos sensoriales en un jamón cocido tipo Medellín, curado naturalmente.....	68
5.2.1	Resumen	68
5.2.2	Generalidades	68
5.2.3	Diseño experimental.....	69
5.2.4	Resultados.....	72
5.2.5	Conclusiones.....	84
5.3	Efecto del proceso térmico realizado a temperatura escalonada sobre el color, nitratos, nitritos residuales, pH y atributos sensoriales en un Jamón Cocido Tipo Medellín, curado naturalmente.....	86
5.3.1	Resumen	86
5.3.2	Generalidades	86
5.3.3	Diseño experimental.....	87
5.3.4	Resultados.....	89
5.3.5	Conclusiones.....	99

5.4	Utilización de una fuente natural alternativa de nitrito de sodio en el proceso de elaboración de un jamón cocido tipo Medellín: Influencia sobre la vida útil.....	101
5.4.1	Resumen	101
5.4.2	Generalidades	101
5.4.3	Diseño experimental.....	103
5.4.4	Resultados.....	104
5.4.5	Conclusiones.....	113
6	CONCLUSIONES GENERALES	115
7	BIBLIOGRAFÍA	117
8	PUBLICACIONES RELACIONADAS CON LA TESIS	136
8.1	Revistas no Indexadas:	136
8.1.1	Alimentación Equipos y Tecnología:	136
8.1.2	Journal of Meat Science and Technology	136



Índice de tablas

Tabla 1. Concentración de nitratos para algunos vegetales, cereales, leguminosas y algas.....	24
Tabla 2. Sustitución o reducción de nitrito de sodio en Productos Cárnicos.	39
Tabla 3. Modelo estadístico aleatorio 2*2 con punto central y un control para la elaboración de un Jamón cocido tipo Medellín (JCM) usando diferentes concentraciones de extracto de apio (EA) y tiempo de reposo.....	56
Tabla 4. Valores medios y sus respectivas desviaciones estándar para los parámetros de color CIELAB, Luminosidad (L*), rojo - verde (a*), amarillo - azul (b*), croma (C* _{ab}) y tono (h° _{ab}) en la zona central y la zona periférica de un Jamón cocido tipo Medellín (JCM) elaborado con diferentes concentraciones de extracto de apio (EA).	58
Tabla 5. Valores medios y sus respectivas desviaciones estándar para el nivel de nitrito residual en un Jamón cocido tipo Medellín (JCM).....	64
Tabla 6. Valores medios y sus respectivas desviaciones estándar de pH en muestras de Jamón cocido tipo Medellín (JCM) utilizando diferentes concentraciones de extracto de apio (EA).....	66
Tabla 7. Valores promedio y sus respectivas desviaciones estándar de las coordenadas de color CIEL*a*b* y los parámetros C* _{ab} y h° _{ab} en la zona central.....	72
Tabla 8. Valores promedio y sus respectivas desviaciones de las coordenadas de color CIEL*a*b* y los parámetros C* _{ab} y h° _{ab} en la zona periférica.....	73
Tabla 9. Relación entre las longitudes de onda 650/570 para el PCTRL y para cada tratamiento (PTC-85°C, PTC-80°C, PTC-75°C): Valores promedio y errores cuadrados medios.	77
Tabla 10. Valores promedio y sus respectivas desviaciones estándar de las concentraciones de Nitratos y nitritos y relación nitrito/nitrato con sus errores cuadrados medios.....	78
Tabla 11. Valores promedio con sus respectivas desviaciones estándar de los valores de pH para cada tratamiento (TC-75°C, TC-80°C, TC-85°C) comparados con el PCTRL.	81
Tabla 12. Valores promedio y sus respectivas desviaciones estándar del perfil de textura de los tratamientos (PTC-75°C, PTC-80°C, PTC-85°C) comparados con el PCTRL.	82
Tabla 13. Valores promedio y sus respectivas desviaciones estándar del análisis químico de los tratamientos (PTC-75°C, PTC-80°C, PTC-85°C) comparados con el CTRL.....	82
Tabla 14. Resultados de los Análisis microbiológico para Mesófilos aerobios, bacterias ácido lácticas (BAL), coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF), <i>Staphylococcus aureus</i> , Esporas de <i>Clostridium</i> sulfitorreductores(EC), <i>Salmonella Sp</i> y <i>Listeria monocytogenes</i> realizados a las lonchas de Jamón, sometida a (PTC-75°C, PTC-80°C, PTC-85°C) y al CTRL. (UFC/ g)	83
Tabla 15. Prueba triangular para detectar diferencias respecto al PCTRL.....	83
Tabla 16. Valores promedio y sus respectivas desviaciones estándar de las coordenadas de color CIEL*a*b* y los parámetros C* _{ab} y h° _{ab} en la zona periférica.....	90

Tabla 17. Valores promedio y sus respectivas desviaciones estándar de las coordenadas de color CIEL *a*b* y los parámetros C* _{ab} y h° _{ab} en la zona central.....	90
Tabla 18. Relación entre las longitudes de onda 650/570 para el PCTRL y para cada tratamiento (PTE-85°C, PTE-80°C, PTE-75°C): Valores promedio y Errores cuadrados medios	94
Tabla 19. Valores promedio y sus respectivas desviaciones estándar de las concentraciones de Nitratos y nitritos, y relación nitrito/nitrato con sus errores cuadrados medios.....	95
Tabla 20. Valores promedio y sus respectivas desviaciones estándar de los valores de pH para cada tratamiento (PTE-75°C, PTE-80°C, PTE-85°C) comparados con el PCTRL.....	97
Tabla 21. Valores promedio y sus respectivas desviaciones estándar de la medición de la variable dureza de los tratamientos (PTE-75°C, PTE-80°C, PTE-85°C)	97
Tabla 22. Valores promedio y sus respectivas desviaciones estándar del análisis fisicoquímico de los tratamientos (PTE-75°C, PTE-80°C, PTE-85°C) comparados con el PCTRL.	98
Tabla 23. Resultados de los Análisis microbiológico para Mesófilos aerobios, bacterias ácido lácticas (BAL), coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF), <i>Staphylococcus aureus</i> , Esporas de <i>Clostridium</i> sulfitorreductores(EC), <i>Salmonella Sp</i> y <i>Listeria monocytogenes</i> realizados a las lonchas de Jamón, sometida a (PTC-75°C, PTC-80°C, PTC-85°C) y al CTRL. (UFC / g)	98
Tabla 24. Prueba triangular para detectar diferencias respecto al PCTRL.....	99
Tabla 25. Valores promedio de las coordenadas de color CIEL *a*b* y los parámetros C* _{ab} y h° _{ab}	105
Tabla 26. Valores promedio para el comportamiento del nitrito residual (mg / kg).....	106
Tabla 27. Valores promedio para el comportamiento del pH.	108
Tabla 28. Resultados microbiológicos (Expresado en unidades formadoras de colonia (UFC / g).....	109
Tabla 29. Calificaciones promedio de cada atributo sensorial de las muestras de Jamón control y las tres réplicas del tratamiento elaborado con Extracto de Apio y cultivo iniciador para el tiempo 0 días.....	110
Tabla 30. Calificaciones promedio de cada atributo sensorial para el tiempo 50 días.	111

Índice de figuras

Figura 1. Estructura tridimensional de la mioglobina	16
Figura 2. Estructura del grupo Hemo (Tomada de Young y West, 2001)	16
Figura 3. Diagrama del flujo de proceso en la elaboración de un Jamón Cocido tipo Medellín	48
Figura 4. Imágenes de un Jamón Cocido tipo Medellín (JCM). (a) Control (b) Muestra ilustrativa del fenómeno para los tratamientos 2 al 6.....	57
Figura 5. Espectros de reflexión para la zona central de las lonchas para un Jamón cocido tipo Medellín (JCM) con diferentes adiciones de extracto de apio (EA) y tiempos de reposo (Tto 1: 0% EA y 24 h (control); Tto 2: 0,2% EA y 12h; Tto 3: 0,3% EA y 18 h; Tto 4: 0,4% EA y 12 h; Tto 5: 0,2% EA y 24 h; Tto 6: 0,4% EA y 24 h).....	62
Figura 6. Espectros de reflexión de la zona periférica de las lonchas para un Jamón Cocido tipo Medellín (JCM) con diferentes adiciones de extracto de apio (EA) y tiempos de reposo (Tto 1: 0% EA y 24 h (control); Tto 2: 0,2% EA y 12h; Tto 3: 0,3% EA y 18 h; Tto 4: 0,4% EA y 12 h; Tto 5: 0,2% EA y 24 h; Tto 6: 0,4% EA y 24 h).....	62
Figura 7. Espectros de reflexión de la zona periférica de las lonchas para un Jamón Cocido tipo Medellín (JCM) considerando solo las muestras con diferentes adiciones de extracto de apio (EA) y tiempos de reposo (Tto 2: 0,2% EA y 12h; Tto 3: 0,3% EA y 18 h; Tto 4: 0,4% EA y 12 h; Tto 5: 0,2% EA y 24 h; Tto 6: 0,4% EA y 24 h).....	63
Figura 8. Comparación visual de los tratamientos (TC-85°C, TC-80°C, TC-75°C) con respecto al CTRL en la zona central y zona periférica.....	72
Figura 9. Espectros de Reflexión de cada tratamiento (PTC-85°C, PTC-80°C, PTC-75°C y PCTRL) en la zona central y zona periférica.....	75
Figura 10. Valor p de la ANOVA de igualdad de medias, con un nivel de referencia $\alpha = 0,05$ (PTC-85°C, PTC-80°C, PTC-75°C respecto al PCTRL) en la zona central y zona periférica.....	76
Figura 11. Modelo predictivo de las concentraciones de nitratos y nitritos a partir de los espectros de reflexión tomados en la zona periférica y en la zona central.....	81
Figura 12. Proceso térmico a temperatura escalonada para cada tratamiento.....	88
Figura 13. Comparación visual de los tratamientos (PTE-85°C, PTE-80°C, PTE-75°C) con respecto al PCTRL en la zona central y zona periférica.....	89
Figura 14. Espectros de Reflexión de cada tratamiento (PTE-85°C, PTE-80°C, PTE-75°C) con respecto al PCTRL en la zona central y zona periférica.....	92
Figura 15. Valor p de la ANOVA de igualdad de medias, con un nivel de referencia $\alpha = 0,05$ (PTE-85°C, PTE-80°C, PTE-75°C respecto al PCTRL) en la zona central y zona periférica.....	93
Figura 16. Modelo predictivo de las concentraciones de nitratos y nitritos a partir de los espectros reflexión tomados en la zona periférica y en la zona central.....	96
Figura 17. Comportamiento del contenido de nitrito residual.....	107
Figura 18. Perfil sensorial en el tiempo 0 días de jamón control y las tres réplicas del tratamiento elaborado con Extracto de Apio y cultivo iniciador para el tiempo 0 días.....	111
Figura 19 Perfil sensorial de Jamón control y las tres réplicas del tratamiento elaborado con extracto de apio y cultivo iniciador en el tiempo 50 días.....	112

1 ESTRUCTURA DE LA TESIS

El presente trabajo se estructuró, a partir de los hallazgos encontrados en la revisión bibliográfica. Es así, como en el capítulo 2, se sintetizaron los aspectos más relevantes de dicha revisión y se establecieron las evidencias científicas que abordaban las posibilidades de sustitución o reducción del nitrito de sodio en la elaboración de productos cárnicos procesados. Se eligió el extracto de apio (fuente natural de nitratos) como sustituto del nitrito adicionado directamente en la elaboración de jamones, combinado con la adición de un cultivo nitrato reductor.

Posteriormente, se establecieron los objetivos para el desarrollo de este trabajo y se determinaron los materiales y métodos que permitieran la evaluación objetiva de dichos objetivos. No necesariamente se utilizaron todos los métodos detallados en el capítulo 4, más bien, fueron adaptados según las necesidades de cada diseño experimental en los capítulos posteriores.

Con el primer diseño experimental, que corresponde al apartado 5.1, se pretendió encontrar las concentraciones del sustituto elegido y las condiciones de proceso más adecuadas, especialmente para el tiempo de reposo refrigerado, en el cual, teóricamente se podrían lograr condiciones de nitrato reducción.

Los diseños correspondientes al apartado 5.2 y 5.3 tuvieron como eje fundamental, el diseño del proceso térmico que permitiera obtener unas condiciones físicas, químicas y microbiológicas, comparables con el producto control

Finalmente, en el apartado 5.4, se validó la vida útil del proceso elegido en los apartados anteriores, con el fin de poder concluir sobre la mejor manera de aplicar la presente investigación en la elaboración de un Jamón cocido de alta extensión (90%) tipo Medellín, elaborado bajo condiciones colombianas y curado naturalmente.

2 INTRODUCCIÓN

2.1 Generalidades

Las regulaciones que los países están definiendo o han definido, en cuanto a la seguridad, inocuidad, salud y publicidad, además de los diferentes estudios científicos, la importante gestión que la industria procesadora de alimentos y los medios de comunicación están haciendo alrededor de los mismos temas, han hecho que los consumidores estén más informados y sus criterios a la hora de comprar, sean más precisos y por lo tanto más selectivos (Mintel, 2013).

La relación entre la alimentación y la salud es cada vez más relevante para los consumidores (Sampaio y col., 2004; Decker y Park, 2010; Weiss y col., 2010; Terns y col., 2011a). Categorías de alimentos, asociadas a lo natural y a lo ecológico, han tenido importantes crecimientos en el mercado, especialmente en Europa, Norte América, Australia y Japón (Magrinyà y col., 2012). La proclama alimentaria “Natural”, fue la segunda más importante en las etiquetas de los nuevos productos para el año 2006 (Martinez, 2007; Sindelar y col., 2010), aunque en los años siguientes, incluso el 2012 su crecimiento se vio ralentizado (Mintel, 2013). El período de tiempo comprendido entre el 2008 y el 2012 la proclama “sin aditivos / sin conservantes estuvo siempre entre las 5 principales tendencias en productos cárnicos (Mintel, 2013). Como consecuencia de lo anterior, hay un creciente interés por parte de los productores de alimentos y en particular de la industria cárnica de continuar elaborando sus productos tradicionales, pero con menos sal, menos grasa y menos nitritos, es decir, más naturales. Por ésta razón, las investigaciones en torno a la ciencia de la carne, tienden a establecer nuevas bases para la formulación de productos con la sustitución o la reducción de los ingredientes anteriormente mencionados (Weiss y col., 2010; Soltanizadeh y Kadivar, 2012). Como ejemplo se tiene los productos etiquetados como naturales o ecológicos (orgánicos), donde está prohibida la adición de conservantes químicos, tales como el nitrato y nitrito de sodio (USDA, 2005).

En la elaboración de los productos cárnicos, los nitratos y en particular los nitritos, son los aditivos de mayor importancia, ya que son imprescindibles para la seguridad alimentaria de estos productos, así como la formación de las características sensoriales tan importantes como el color (rosado en los productos tratados térmicamente y rojo en los crudo-curados), y el aroma y sabor “curado” conocidos como *flavor*, por lo que son tan apreciados por parte del consumidor (Pérez-Alvarez, 2006; King y Whyte, 2006; Honikel, 2008). La mayoría de los productos cárnicos, incluyen el nitrito en su formulación, ya sea directa o indirectamente adicionado (Pegg y Shahidi, 2000; Seyfert y col. 2004). Adicionalmente, el nitrito es un potente antioxidante y agente antimicrobiano, en especial contra el *Clostridium botulinum* (Sebranek y Bacus, 2007a; 2007b; Zhang y col., 2007; Sindelar y col., 2007a; 2007b; Zarringhalami y col., 2009; Weiss y col., 2010).

El nitrito no solo es apreciado por su papel tecnológico y en la seguridad alimentaria de los productos cárnicos, sino también por su aspecto beneficioso en la salud. Recientemente se ha demostrado que el óxido nítrico (NO) cumple un papel fisiológico al ejercer un efecto protector frente a daños cardiovasculares y gastrointestinales (Sebranek y Bacus, 2007a; Demeyer y col., 2008; Petersson, 2008; Hord y col., 2009, Sindelar y Milkowski, 2012). Sin embargo, también han sido ampliamente discutidos y estudiados los efectos negativos que los nitritos podrían tener sobre la salud del consumidor (posible formación de N – nitrosocompuestos) (Demeyer y col., 2008; Ferguson, 2010). La información actual sobre el riesgo de cáncer por la ingesta de nitritos, nitratos y productos cárnicos curados no es concluyente. Este riesgo se puede ver compensado por los beneficios sobre la salud que tiene la ingesta de nitratos y nitritos ya que podría restablecer sus niveles en el organismo y así recuperar la homeóstasis del NO, necesaria para diferentes funciones fisiológicas. No obstante, se debe tener muy en cuenta la relación entre los riesgos y beneficios en su consumo a través de la alimentación, antes de sugerir algún tipo de guía o regulación relacionada con la salud pública (Milkowski y col., 2010).

Lo que sí es un hecho, es que un número importante de investigaciones se vienen llevando a cabo para eliminar o minimizar los impactos negativos atribuidos a la utilización de nitritos en los productos cárnicos, sin alterar las propiedades sensoriales que los consumidores desean (Sørheim y col., 2006; Sebranek y Bacus, 2007a; 2007b; Sindelar y col., 2007a;2007b; Demeyer y col., 2008; Andrée y col., 2010; Soltanizadeh y Kadivar, 2012). Se ha realizado muchos intentos para reemplazar el nitrito (Shahidi y col., 1994; Shahidi y col.,1997; Pegg y Shahidi, 2000, Barbieri y col., 2013) o para reducirlo (Aleson-Carbonell y col., 2003; Fernández-Ginés y col., 2003; Jafari y Emam-Djomeh 2007; Fernández-López y col.,2009; Zarringhalami y col., 2009;Soltanizadeh y Kadivar, 2012).

Se ha encontrado que las plantas y sus extractos pueden ser usados como fuentes indirectas de nitrito (Shahid-Umar y Iqbal, 2007; Shahid-Umar y col., 2007; Parks y col., 2008), y actualmente ha tomado fuerza la utilización de fuentes naturales que poseen nitrato en su composición para sustituir los nitritos adicionados directamente en las formulaciones y lograr los efectos deseados en los productos cárnicos, proceso llamado “curación natural” (Sindelar y col., 2007a; 2007b; Sebranek y Bacus, 2007a; 2007b;Sindelar y col., 2010, Magrinyà y col., 2012; Terns y col., 2011 a;2011 b; Sullivan y col., 2012; Sebranek y col., 2012). Para realizar este curado natural, se pueden utilizar como ingredientes la sal marina sin refinar, los azúcares obtenidos a partir del turbinado de la caña de azúcar, especias, apio, zanahoria, remolacha y zumo de espinacas (Sebranek y Bacus, 2007a; 2007b).

De acuerdo con lo mencionado anteriormente y considerando que no se conoce un ingrediente o aditivo que supla todas las ventajas tecnológicas y microbiológicas que proporciona el nitrito (Sebranek y Bacus, 2007a; 2007b;Sammet y col., 2006; Moarefian y col., 2011,Soltanizadeh y Kadivar, 2012, Barbieri y col., 2013), es preciso entender cómo actúa dicho compuesto en los productos cárnicos y revisar el estado actual del conocimiento como soporte y evidencia científica para este trabajo de investigación.

En el presente trabajo de investigación, se eligió como objeto de estudio un jamón tipo Medellín con un 90% de extensión, es decir, a 1 Kg de carne magra de cerdo se le inyectan 0,9 Kg de salmuera. Dicho producto fue elaborado con materias primas conseguidas en Medellín, Colombia y bajo condiciones de proceso típicas de un producto colombiano. La alta asociación que existe entre este tipo de productos y el concepto salud y nutrición en Colombia, además de la alta producción que Industria de Alimentos Zenú S.A.S elabora (8.000 – 10.000 toneladas por año de jamón cocido), hace necesario el desarrollo de investigación aplicada, que permita generar un mayor valor en el mercado, a partir del conocimiento científico.

2.2 Química del Curado

El empleo de nitrato y/o nitrito en la manufactura de productos cárnicos, es comúnmente conocido como “curado” o “curación”. Las variaciones como “curar” y “cura” tienen el mismo significado bajo este contexto. El verbo “curar” significa corregir, restaurar o tratar, por lo que podría asociarse con algo positivo que se le hace a la carne (King y Whyte, 2006; Honikel, 2008)

En la actualidad, el uso directo de sales de nitrato es permitido sólo en algunos productos cárnicos, como los jamones secos curados, en los cuales largos y lentos períodos de curación requieren de reservorios de nitrito a través de nitratos. Lo anterior está fundamentado en el hecho de que reducir los contenidos finales de nitrito en los productos cocidos, ha sido uno de los principales esfuerzos de la industria cárnica en los últimos años y junto con una estricta reglamentación han logrado reducir el riesgo asociado a su consumo (Sebranek y Bacus, 2007a; Honikel, 2008). El nitrato es reducido a nitrito por la enzima nitrato reductasa, la cual es sintetizada por bacterias del género *Micrococcus* y *Staphylococcus* (*S. carnosus*, *S. xylosus*). Parámetros tales como la temperatura y el pH juegan un rol vital dentro de dichos procesos. La nitrato reductasa sólo presenta actividad en un

valor de pH por encima de 5,5 y temperatura superior a 8°C (CHR Hansen, 2003; Feiner, 2006).

Los mecanismos que determinan la química del curado en productos cárnicos cocidos han sido descritos en múltiples investigaciones, en las cuales, los agentes de curación como los nitratos y los nitritos, reaccionan debido a la facilidad que tiene el nitrógeno para variar su estado de oxidación y formar otros compuestos derivados al entrar en contacto con los ingredientes cárnicos (Honikel, 2008). No obstante en esta revisión, se resaltan algunos aspectos importantes que pueden servir de base para el entendimiento en la generación de nuevas posibilidades de reducción o sustitución del nitrito.

El nitrito es ampliamente utilizado en la elaboración de productos cárnicos, tanto en su forma de sal sódica como potásica. Es un compuesto altamente reactivo que puede funcionar como agente oxidante, agente reductor, agente nitrosante y puede ser convertido en una gran cantidad de compuestos relacionados en la carne como: nitrato, ácido nitroso y NO (Pegg y Shahidi, 2000; Sebranek y Bacus, 2007a; 2007b). La formación de este último compuesto es un prerrequisito para muchas de las reacciones de curado en la carne. Las investigaciones fundamentales sobre el NO han sido una de las principales áreas de estudio en biología, y como se mencionó anteriormente, se ha encontrado que éste compuesto cumple con un papel muy importante en el desarrollo y protección de las funciones vitales de los organismos (Demeyer y col., 2008; Petersson, 2008; Sindelar y Milkowski, 2012). Lo anterior, es aún más relevante, ya que en el año 1998 el Premio Nobel de Fisiología o Medicina fue otorgado a Robert Furchgott, Louis Ignarro y Ferid Murad por sus descubrimientos en relación al NO, como una molécula de señalización para que las células musculares vasculares se relajen (Nobelprize, 2012). Incluso, recientes revisiones aseguran que los alimentos o las dietas enriquecidas con nitrito pueden tener profundos beneficios sobre la salud, al modificar los factores de riesgo cardiovascular como la hiperlipidemia (Parthasarathy y Bryan, 2012).

La química del nitrito en productos curados está constituida por una serie de reacciones interactivas complejas que envuelven diferentes reactivos y que se afectan por diversos factores ambientales, tales como: pH, temperatura y presencia de agentes reductores endógenos o exógenos (Demeyer y col., 2008; Petersson, 2008; Viuda-Martos y col., 2009). En la carne a pH comprendidos entre 5,65 y 5,85, la mayor cantidad de nitrito está en su forma disociada. Sin embargo, la parte no disociada, lidera una serie de reacciones que producen compuestos inestables muy difíciles de determinar en condiciones reales y bajo tratamientos térmicos. El consumo del nitrito puede ser debido a la acción de agentes reductores endógenos de la carne, como los grupos sulfuros presentes en los aminoácidos, o por la adición de aditivos químicos como el ascorbato. En aras de simplificar el tema, se puede decir que se desarrolla una serie de reacciones que consumen el nitrito (dismutación y reducción) y se produce entre otros compuestos el NO. Cabe anotar, que una reacción de dismutación del nitrito, resulta en la formación de nitratos (Barbieri y col., 2013).

2.3 Utilización de Nitrito de Sodio para productos cárnicos

Los fenómenos que determinan cada una de las funciones del nitrito de sodio en los productos cárnicos procesados han sido ampliamente estudiados (Honikel, 2008). A continuación se mencionan los efectos del nitrito en los productos cárnicos, para evaluar las posibilidades de su reemplazo o reducción en dichos productos.

2.3.1 Desarrollo del Color

El color es el factor que más afecta al aspecto de la carne y de los productos cárnicos, ya que además de generar la primera impresión, influye significativamente en la preferencia o no por parte de los consumidores a la hora de realizar la compra en el punto de venta. La alteración del color es una de las causas más importante para definir la vida útil de los productos debido a que los consumidores usan los cambios en el color (colores anómalos o decoloraciones) como un indicador de frescura y seguridad alimentaria (Mancini y Hunt, 2005;

Bekhit y Faustman, 2005; Feiner, 2006; Boles y Pegg, 2009), por lo que es muy importante que el color de un producto se mantenga estable durante su almacenamiento y conservación.

Los productos cárnicos procesados, a los cuales se les ha adicionado nitrito y/o nitrato, presentan unas características particulares de coloración debido a su interacción con la Mioglobina (Mb) y a las condiciones de procesamiento (Pegg y Shahidi, 2000; Adamsen y col., 2006; Honikel, 2008), ya sean tratados térmicamente (productos cocidos) o deshidratados (crudo-curados). Los compuestos derivados del nitrito, particularmente el NO reacciona con la parte no proteica de la Mb (Figura 1), llamada grupo hemo.

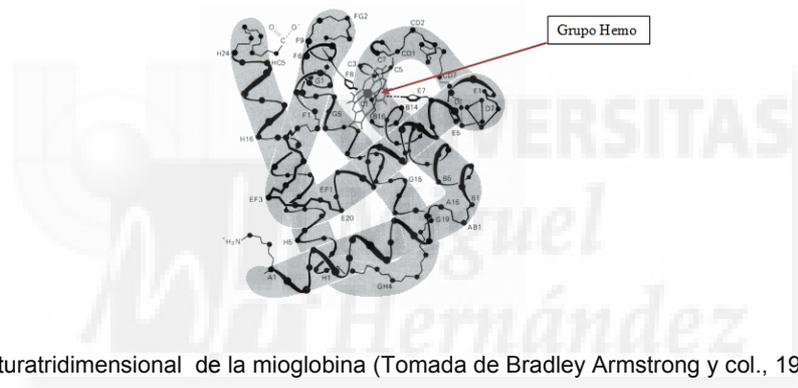


Figura1. Estructura tridimensional de la mioglobina (Tomada de Bradley Armstrong y col., 1982)

La estructura del grupo hemo presente en la Mb tiene un átomo de hierro central acompañado con una estructura porfirínica (Figura 2).

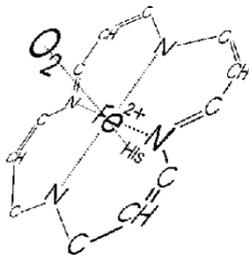
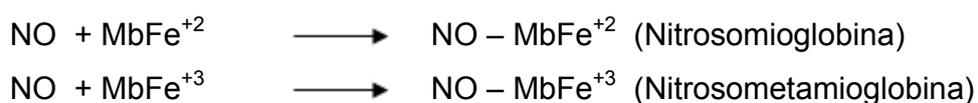


Figura2. Estructura del grupo Hemo (Tomada de Young y West, 2001)

El hierro presenta seis enlaces de coordinación. Cuatro de ellos están en el mismo plano del hierro, y se establecen con los átomos de nitrógeno de los anillos pirrólicos de la protoporfirina IX, compuesto de especial interés como se presentará más adelante. El quinto y el sexto ligando de coordinación están perpendiculares al átomo de hierro. La quinta posición está unida a un residuo de histidina del grupo proteico y la sexta posición está disponible para unirse con distintas moléculas (mono y dióxido de carbono, agua, etc). El tipo de molécula ligada al sexto enlace de coordinación, por ejemplo el NO, y el estado de óxido-reducción del átomo de hierro presente en la Mb (Fe^{+2} Ferroso, Fe^{+3} Férrico) determina el color de la carne y de los productos cárnicos durante el proceso (Pegg y Shahidi, 2000; Young y West, 2001; Mancini y Hunt, 2005; Bekhit y Faustman, 2005), aspectos que pueden quedar reflejados directamente en los espectros de reflexión de los productos cárnicos.

La fijación del color rojo en productos cárnicos curados, se desarrolla a través de una serie de complejas reacciones químicas y bioquímicas, hasta que la nitrosomioglobina ($\text{NO} - \text{MbFe}^{+2}$) o la nitrosometamioglobina ($\text{NO} - \text{MbFe}^{+3}$) se forman. El uso de agentes reductores como el ácido ascórbico o eritórbico o sus respectivas sales, acelera las reacciones de curado (Pegg y Shahidi, 2000; Sebranek y Bacus, 2007a; 2007b; Honikel, 2008).



Luego del proceso térmico, en el cual el centro geométrico alcanza temperaturas cercanas a 72°C , la fracción proteica de la $\text{NO} - \text{MbFe}^{+2}$ se desnaturaliza separándose del complejo nitroso-porfirínico. A dicho sistema se le denomina nitrosomiocromógeno ó nitrosilhemocromo que le confiere el color rosado característico de los productos cárnicos tratados térmicamente (Pegg y Shahidi, 2000; Honikel, 2008).

2.3.2 Capacidad Antioxidante

Andrée y col (2010), mencionan que, probablemente, la ventaja más relevante en el uso de nitrito en productos cárnicos es su efecto antioxidante. Los mecanismos de la oxidación en los lípidos insaturados han sido ampliamente estudiados, ya que conllevan a cambios químicos y sensoriales no deseables que reducen la vida útil de los productos cárnicos. Además, la oxidación de las grasas y su efecto sobre la salud también han sido ampliamente descritos y estudiados, lo que hace que su prevención sea esencial para mantener la calidad y la seguridad de los productos (Pegg y Shahidi, 2000; Weiss y col., 2010; Pennisi Forell y col., 2010, Ospina-Echeverri y col., 2011).

Los lípidos se oxidan por distintos mecanismos, siendo uno de los más importantes los que tienen lugar a través de la formación de radicales libres. El proceso se inicia por la presencia del oxígeno y posteriores reacciones con producción de hidroperóxidos, ocasionando las reacciones de oxidación de las grasas. Estas reacciones de oxidación lipídica se ven potenciadas a través de los catalizadores, como los iones metálicos, ferrosos, férricos, cuprosos, entre otros, presentes en los productos cárnicos. Mediante los mecanismos mencionados anteriormente, se generan además, moléculas de bajo peso molecular procedentes de la degradación lipídica que repercuten directamente en la rancidez del producto. Los procesos de oxidación en la carne y los productos cárnicos pueden ser reducidos por la eliminación de oxígeno y de la luz durante su almacenamiento (Pegg y Shahidi, 2000; Weiss y col., 2010). Los productos cárnicos que no han sido “curados”, durante su almacenamiento se oxidan generando el “*warmed over flavor*” (WOF) (Andrée y col., 2010; Pegg y Shahidi, 2000) que reducen su vida útil. Sin embargo, este proceso anómalo, no tiene lugar en los productos cárnicos curados.

La capacidad antioxidante del nitrito juega un papel muy importante en los productos cárnicos curados. Los mecanismos propuestos contemplan las reacciones con las hemo proteínas, con los metales incluyendo el hierro libre y la

formación de compuestos nitroso y nitrosil que tienen propiedades antioxidantes (Pegg y Shahidi, 2000; Sebranek y Bacus 2007a; 2007b).

Honikel (2008), concluye que la molécula de NO puede ser fácilmente oxidada a NO₂ en presencia de oxígeno, como se presenta en la siguiente reacción. Lo anterior sugiere una actividad secuestrante de oxígeno y, por lo tanto, la función antioxidante del nitrito.



Debido a la falta de oxígeno, el desarrollo de la rancidez y del (WOF) se ven ralentizados.

Los nitritos juegan un papel importante en la protección de las membranas celulares (Andrée y col., 2010). Esta protección se basa en dos mecanismos: (i) formación de complejos con los iones de hierro libres en el medio, procedentes principalmente de la “degradación del grupo hemo” (que una vez separado de este grupo prostético se le denomina hierro no hemo). Al reducirse la concentración de este ion, éste no está disponible para servir de catalizador de las reacciones de peroxidación lipídica; (ii) el nitrito es capaz de estabilizar los ácidos grasos poliinsaturados presentes en las membranas celulares al formar derivados nitrosados de los mismos, protegiendo con ello, a las membranas celulares de la peroxidación lipídica (Pérez-Alvarez y Fernández-López 2009a).

No se debe olvidar que al ser el nitrito una sustancia muy reactiva, ésta es capaz de reaccionar con los aminoácidos azufrados formando nitrosotioles. Así, Pegg y Shahidi (2000) mencionan que la S-nitrosocisteína tiene unas propiedades antioxidantes muy interesantes. No obstante, es interesante recalcar que los nitrosotioles, además de tener propiedades antioxidantes, son reservorios del NO en los productos cárnicos crudo-curados de prolongados periodos de elaboración, como es el caso del jamón curado.

2.3.3 Función Antimicrobiana

El nitrito juega un papel importante en los productos cárnicos curados como un agente bacteriostático y bactericida. Es un fuerte inhibidor de bacterias anaeróbicas, dentro de las cuales la más importante es el *Clostridium botulinum* y contribuye al control de otros microorganismos, entre ellos la *Listeria monocytogenes*. Sin embargo, el nitrito no actúa como bacteriostático o bactericida en las bacterias Gram negativas entéricas y patógenas como *Salmonella sp* y *Escherichia coli* (Tompkin, 2005; Sebranek y Bacus 2007a; 2007b).

Clostridium botulinum es un microorganismo anaeróbico, y formador de esporas. Es una bacteria Gram positiva, sus esporas se caracterizan por tener paredes gruesas que la hacen altamente resistentes al calor. Además, produce la toxina más potente (neurotoxina botulínica), por lo cual este microorganismo genera la mayor preocupación respecto a la seguridad de los productos alimenticios (Cui y col., 2010), en especial en los productos cárnicos.

Son varios los mecanismos utilizados para inhibir el crecimiento del *Clostridium botulinum* en los productos cárnicos. En los productos crudo-curados, como el jamón curado, la acción del nitrito no tiene lugar de forma inmediata, por ello se hace imprescindible el control estricto de la temperatura ($T^{\circ} \leq 3,3^{\circ}\text{C}$) durante varias semanas (Pérez-Alvarez, 2006).

El nitrito inhibe tanto el crecimiento como la proteína neurotóxica (toxina botulínica) producida por el *Clostridium botulinum*. Los mecanismos de acción del nitrito se deben a diferentes mecanismos, entre los que se incluyen la inhibición del consumo de oxígeno (Davidson y col., 2004). Se ha encontrado también que el nitrito inhibe numerosas enzimas que son esenciales para el desarrollo de dicha bacteria, como la aldolasa y crea deterioro en el gradiente de protones necesario para la generación de ATP. Estos múltiples efectos que se dan por la adición de nitrito y que influyen negativamente en el metabolismo de dicho patógeno, son la

razón por la cual el nitrito es difícil de reemplazar como conservante. Como el nitrito actúa sobre varios puntos simultáneamente, es muy difícil para los patógenos y para los microorganismos que causan deterioro adaptarse a su presencia (Weiss y col., 2010).

Perigo y col., (1967), encontraron que cuando se trata térmicamente un medio de cultivo adicionado con nitrito, el crecimiento del *Clostridium sporogenes* tuvo un efecto inhibitorio mayor que el medio adicionado con nitrito y en condiciones asépticas después de que había sido autoclavado. Estos autores, encontraron que a pH mayores a 6 y en un rango de temperaturas de 100°C a 110°C dicho efecto se mejoraba en unas 10 veces o más. Por ello, se postuló que aparecía una sustancia derivada del nitrito que luego desaparecía con el proceso térmico, y que podía presentar un efecto inhibitorio complementario en los productos cárnicos enlatados. Dicha sustancia inhibitoria es lo que se conoce como efecto Perigo y a nivel de laboratorio se ha encontrado que es necesario un agente reductor y una fuente de proteína para evidenciar dicho efecto (Pegg y Shahidi, 2000).

2.3.4 Desarrollo de Flavor

El desarrollo de las características de flavor de los productos cárnicos curados es quizás el aspecto menos entendido en la química del nitrito. Es fácilmente detectable la diferencia en el flavor de un producto curado y cocido respecto a ese mismo producto asado o cocido sin adición de nitrito (Sebranek y Bacus, 2007a; 2007b; Pérez-Álvarez, 2006). El papel del nitrito en el desarrollo del flavor de los productos curados, está aún por determinar. Existen varias evidencias de que el sabor curado no se debe a un compuesto único, así Pegg y Shahidi (2000) describieron un total de 138 compuestos volátiles detectados en jamones curados, pero como se mencionó anteriormente, estos autores no llegaron a establecer un mecanismo que relacione las reacciones del nitrito con los compuestos encontrados. Foodbalt (2008) afirma que el efecto del nitrito en el desarrollo del flavor de los productos cárnicos es principalmente debido a su capacidad para retener el Fe^{+2} en forma de hierro hemo. De esta manera dicho elemento no puede ocasionar cambios oxidativos en las grasas insaturadas de la carne.

2.3.5 Otros efectos

La tendencia reciente en cuanto a la seguridad de alimentos, está promoviendo las investigaciones sobre trazas de compuestos que pueden afectar la salud humana. Las “aminas naturales”, también llamadas aminas biógenas, tienen una elevada importancia dentro de este grupo de compuestos (Karovicova y Kohajdova, 2005). Las aminas biógenas se producen en los productos cárnicos crudo-curados por efecto de los enzimas aminoácido descarboxilasas, y su formación se ve favorecida por el pH ácido de los embutidos. Hernández-Casares (2010) menciona que la incorporación de nitrito, en vez de nitrato, en las sales de curado utilizadas en las formulaciones de los embutidos crudo-curados de grueso calibre, (temperatura de fermentación de 10°C) y con periodos de curado prolongados, reduce el contenido de aminas biógenas. Este autor señala que este efecto se debe, fundamentalmente, a la inhibición del crecimiento de la microbiota potencialmente perjudicial de este tipo de productos cárnicos, y a su vez la reducción de las aminas biógenas. El tipo de amina biógena no depende de la presencia de nitrito o nitrato, sino de que el microorganismo presente, sea iniciador o no.

2.4 Posibilidades de sustitución o reducción del Nitrito de Sodio en productos cárnicos

Los consumidores de hoy están demandando alimentos más naturales y menos procesados, con menor cantidad de aditivos de origen sintético. La industria de la carne y de los productos cárnicos en conjunto con la comunidad científica, están enfocando sus esfuerzos para reemplazar o reducir los niveles de aditivos que han sido asociados con un mayor riesgo para la salud, entre ellos el nitrito de sodio. A continuación se presenta una revisión de las investigaciones más recientes sobre el uso de nitrito de sodio en productos cárnicos, con el propósito de encontrar alternativas para reemplazar o reducir su contenido. Como se dijo anteriormente, no se identifica una opción que por sí misma sustituya todas las funciones tecnológicas y microbiológicas que aporta el nitrito. La mayoría de las estrategias se enfocan en suplir alguna de dichas funciones. Se destaca el esfuerzo por

reducir los niveles de nitrito en las formulaciones de los productos cárnicos a través de la sinergia con otros compuestos, o mejorando la tecnología de sacrificio (*ante y postmortem*), y la utilización de fuentes naturales de nitrato para obtener productos con características similares a las tradicionalmente conocidas y aceptadas por el consumidor.

Para la sustitución o reducción en el uso de los nitritos en los diferentes productos cárnicos, se deberán considerar sus funciones tecnológicas, sensoriales y microbiológicas que estos compuestos tendrían en los diferentes productos a los que se incorporan.

2.4.1 Sustitución del Nitrito de Sodio.

A continuación se detallan las posibilidades evidenciadas en la revisión bibliográfica para el remplazo del nitrito de sodio

2.4.1.1 Uso de Fuentes Naturales.

En la actualidad, la aplicación y comercialización del nitrito, se realiza a través de su adición directa (E-250). No obstante, recientemente se ha descubierto, que determinados vegetales y en particular, sus extractos pueden ser, indirectamente, fuentes de nitrato (Anjana y col., 2007; Shahid-Umar y col., 2007; Parks y col., 2008; Terns y col., 2011a;2011b; Sullivan y col., 2012) para la elaboración de productos cárnicos (Sebranek y Bacus, 2007a; 2007b; Sebranek y col., 2012), capaces de almacenar en sus diversas estructuras, concentraciones tecnológicamente útiles. Los extractos utilizados en la elaboración de productos cárnicos pueden, en combinación con los cultivos iniciadores nitrato-reductores adicionados, generar en las diferentes matrices cárnicas (tratados térmicamente y crudo-curados) los nitritos necesarios para transformar al producto cárnico en un producto curado (Sindelar y col., 2007a; 2007b; Sebranek y col., 2012). Este aspecto es muy interesante y a tener en cuenta, ya que tanto la Unión Europea

como en los Estados Unidos, han controlado el uso de los nitritos y nitratos con regulaciones muy exigentes (Directiva 2006/52/EC, USA 2005).

Actualmente, el extracto vegetal más utilizado en la elaboración de los productos cárnicos es el apio (*Apium graveolens*), especialmente en productos tratados térmicamente (jamón cocido) ya que su sabor es compatible con este tipo de productos (Sebranek y Bacus, 2007b). Su aplicación en productos crudo-curados todavía no se ha estudiado con detenimiento ya que el apio no es una especia o ingrediente habitual en este tipo de productos. No obstante, en algunas especialidades cárnicas, si se incorpora su semilla. En la Tabla 1 se presentan valores de nitratos contenidos en algunos vegetales, cereales, leguminosas y algas

Tabla 1. Concentración de nitratos para algunos vegetales, cereales, leguminosas y algas

Muestra	Nitratos (mg/Kg)
Extracto de Apio	27169,00 (*)
Carragenina	336 (*)
Fécula trigo	13,5 (*)
Proteína de soya	20 (*)
Espinaca Inglesa	4849,6 ± 573,6 (**)
Espinaca New Zealand	449 – 3472 (***)
Jugo comercial de zanahoria	171 (****)
Jugo comercial de apio	2114 (****)
Jugo Comercial de Remolacha	2273 (****)
Jugo en polvo de Apio	27462 (****)

(*) Evaluaciones internas en Centro de Investigación y Desarrollo Zenú, Medellín. Técnica HPLC.

(**) Hsu y col., 2009.

(***) Jaworska, 2005.

(****) Sebranek y Bacus (2007a).

Sindelar y col (2007a), realizaron estudios en salchichas emulsificadas cocidas sin la adición de nitritos. Dichos autores, combinaron diferentes concentraciones

deextracto de apio (EA) (0,2 y 0,4%) con diferentes tiempos de incubación (30 y 120 min). El cultivo utilizado fue *Staphylococcus carnosus* y los resultados permitieron concluir que todas las combinaciones fueron comparables con el producto control, al cual le habían adicionado nitrito de sodio. Adicionalmente, reportaron que el tiempo de incubación fue más crítico que el contenido de EA en este tipo de productos.

Sindelar y col(2007b), realizaron también estudios en jamones cocidos combinando concentraciones de EA (0,2 y 0,35%) y tiempos de incubación (0 y 120 min). Se utilizó el mismo microorganismo que en el estudio anterior y los resultados mostraron que la concentración de 0,2% fue comparable respecto al control con nitrito adicionado. En la concentración de 0,35% se percibieron notas vegetales en los productos, por lo cual no se recomienda esta concentración. Los largos tiempos en el proceso térmico que usualmente se le dan a este tipo de productos podrían ser suficientes para incubar el microorganismo y asegurar la conversión de nitrato a nitrito. En ambos estudios se sugiere realizar más investigación respecto a los procesos que involucra esta tecnología y a sus efectos sobre el control microbiológico y la vida útil de los productos.

Con respecto a las características finales de los productos, Sindelar y col (2007), realizaron comparaciones entre productos elaborados de diferentes marcas comerciales de gran aceptación (*Hot dog*, jamones y *bacon*) y curados tradicionalmente, con productos a los cuales se le reemplazó el nitrito por alternativas naturales. La evaluación realizada por los panelistas, arrojaron que existía variaciones entre las diferentes marcas, y entre ellas con el control.

Considerando las diferencias en el proceso de los productos elaborados sin nitrito adicionado, Sindelar y col.(2010) estudiaron diferentes métodos para la fabricación de "*whole muscle jerky*" haciendo modificaciones respecto a la necesidad o no del envase a vacío de la mezcla y a las temperaturas de incubación previa a la

cocción. Ninguno de los métodos estudiados fue efectivo para replicar las condiciones del control.

Estudios más recientes han reportado la incubación de los microorganismos en una salmuera almacenada a 38°C, sin adición de sal para lograr la reacción de nitrato-reducción. Dicha salmuera se utilizó posteriormente en la elaboración de jamones con la previa adición de la sal de la fórmula. Este procedimiento podría tener inconvenientes en cuanto a la seguridad microbiológica del producto final y probablemente una mayor necesidad de espacios físicos en la planta de producción, lo que va en contra de esta aplicación. Los estudios mencionados reportaron también el uso de un polvo de apio en uno de sus tratamientos, al cual ya le habían realizado la conversión de nitrato a nitrito. La concentración de este último podría estar entre 10.000 a 15.000 mg / Kg. Se vislumbra un mejor camino en las aplicaciones industriales para el uso de polvo de apio pre convertido, ya que sería como utilizar el nitrito de sodio tradicional, pero con las ventajas de ser un producto natural (Krause y col., 2011).

Se ha reportado el uso de concentrados vegetales (apio y zanahoria) en productos étnicos, como la butifarra catalana. Dicho estudio concluye la viabilidad del uso de estos concentrados para la producción de productos ecológicos y naturales (Magrinyà y col., 2012).

Terns y col (2011a), estudiaron la inclusión de polvo de cereza y cultivos nitrato reductores en salchichas emulsificadas y cocidas cuando fueron curadas naturalmente, con el objetivo de evaluar el poder reductor de la cereza sobre la generación del nitrito de sodio a partir de fuentes naturales. La presencia intrínseca de ácido ascórbico en el polvo de cereza, actúa como un agente reductor, similar al ascorbato, lo que trae como consecuencia que el nivel de nitritos residuales decline más rápidamente durante el almacenamiento. Los autores sugieren nuevos estudios para determinar si es posible disminuir la cantidad de cultivo y de extracto de apio en la fórmula, así como la disminución en

los tiempos de fermentación. De igual manera, es necesario validar científicamente la seguridad microbiológica al utilizar esta fuente natural, como coadyuvante del cultivo y el polvo de apio. En cuanto a las propiedades físicas y químicas, no se encontraron diferencias respecto a un control con nitrito adicionado directamente.

Xi y col (2012), evaluaron el efecto de ingredientes antimicrobianos naturales (polvo de cereza, polvo de arándano, polvo de lima), sobre la inhibición de la *Listeria monocytogenes*, además de su impacto en las propiedades fisicoquímicas y sensoriales en productos curados naturalmente. El uso de polvo de arándano al 3% tiene un efecto inhibitorio sobre dicho microorganismo, similar a un producto elaborado tradicionalmente con nitrito de sodio y con mezcla de lactato y diacetato. Las características sensoriales y fisicoquímicas de los productos terminados se impactan negativamente, por lo que su aplicación no parece tener viabilidad en este momento.

Terns y col. (2011b), determinaron que el tiempo de fermentación es más crítico que el aumento de cultivo iniciador en la elaboración de salchichas cocidas, curadas naturalmente. Adicionalmente, los autores llaman la atención a la realización de más estudios sobre la seguridad microbiológica, incluso en los procesos en los cuales se utilizan extractos vegetales que han sido estandarizados en su contenido de nitratos. Aunque el nivel de nitratos estandarizados excedan las 30.000 mg / Kg, no es claro si el impacto en el crecimiento de patógenos sea efectivo.

Un estudio llevado a cabo en productos cárnicos conseguidos a nivel comercial (tradicionalmente elaborados con nitrito y curados naturalmente), mostró que los productos naturales y ecológicos tienen un mayor potencial para el crecimiento de microorganismos patógenos como el *Clostridium perfringens*, debido a factores intrínsecos como la actividad de agua y el contenido de sal. Aunque se presentó una mayor correlación el crecimiento de dicho microorganismo en Salchichas

Frankfurter que en jamones y tocineta, los autores sugieren realizar estudios con antimicrobianos naturales para mejorar la seguridad de dichos productos (Sullivan y col., 2012). Trabajos relacionados con el crecimiento del *Clostridium perfringens* y que respaldan las conclusiones anteriores, fue abordado por Jackson y col., 2011 a; 2011 b.

En conclusión, la tecnología de elaboración de productos cárnicos sin la adición directa de nitritos está siendo ampliamente estudiada a nivel científico para lograr estandarizar y optimizar los procesos. Sebranek y col (2012), presentaron una revisión sobre los avances de los procesos de curación en los productos naturales y ecológicos (orgánicos) en los Estados Unidos. Algunos aspectos importantes de esta revisión son: (i) la regulación para el etiquetado de dichos productos no es consistente en el mundo, y para evitar confusión, se propone que los productos cárnicos naturales y ecológicos se denominen como “naturalmente curados”, aunque no es reconocido aún este término por los entes regulatorios en los Estados Unidos;(ii) se reporta un recurso natural novedoso que podría ser utilizado en el proceso de curación natural, son las acelgas suizas secadas por aspersión, que tienen la ventaja de no contener alérgenos. (iii) las preocupaciones microbiológicas por los bajos niveles de nitritos utilizados en el curado natural, han hecho que últimamente se hayan desarrollado extractos de apio con contenidos promedio de 41.000 mg /Kg de nitrato, si se asume 100% de conversión, se podría contar con 120 mg / Kg de nitrito en la fórmula; (iv)se vienen desarrollando extractos de vegetales con la previa conversión de nitrato a nitrito por el proveedor, esto elimina los tiempos de incubación; (v) se adelantan estudios sobre nuevos ingredientes naturales con propiedades antimicrobianas.

2.4.1.2 Formación de Zinc Protoporfirina IX

Tradicionalmente en la elaboración de los productos cárnicos crudo-curados con integridad anatómica, como es el caso de los jamones y paletas curadas o el lomo embuchado, que tienen periodos de elaboración muy prolongados, en las formulaciones se emplean a la vez el nitrito sódico , el nitrato sódico, y ascorbato /

eritorbato sódico. Sin embargo, en el caso del Jamón de Parma (producto crudo-curado), se presenta un agradable color rojo brillante, aunque en su elaboración no se utiliza nitrato ni nitrito. Wakamatsu y col. (2004a) realizaron un estudio detallado sobre los pigmentos que se desarrollan en el Jamón de Parma, concluyendo que el color rojo brillante es causado por el compuesto Zn *protoporfirina* IX (ZPP), en el cual el hierro presente en el grupo hemo de la mioglobina es reemplazado por el zinc. Taketani y col.(2007), demostraron la remoción NADH dependiente del hierro en el grupo hemo, catalizada por *ferroquelatasa* en combinación con b₅ reductasa en mitocondrias de ratón.

Se ha encontrado que el contenido de ZPP tanto en el Jamón de Parma como en el Jamón Ibérico no tienen diferencia, por lo cual se puede concluir que la formación de color en dichos jamones está representado por el mismo fenómeno(Møller y col.,2007; Laursen y col., 2008).

Wakamatsu y col (2004b), encontraron que bajo condiciones anaeróbicas y bajo la presencia de microorganismos y enzimas propias de la carne, se forma la ZPP. Años más tarde, se encontró en una solución modelo, que la formación de ZPP no está dada por la sustitución de zinc por hierro en el grupo hemo, sino por la inserción de zinc dentro de la estructura *protoporfirina* IX, el cual fue formado independientemente y es precursor de la formación de ZPP (Wakamatsu y col., 2007).

Posteriormente Beneditia y col (2008),determinaron que la carne fresca posee actividad promotora de ZPP como la enzima zinc *quelatasa* cuyos comportamientos se ajustan a las condiciones químicas de los jamones secos y curados.

Adamsen y col (2006), concluyeron que la adición de nitrito o de zinc en las salmueras para elaborar jamones, inhiben la formación de ZPP y sugieren que el anión cloruro participa en la disociación del hierro de la mioglobina, la cual puede

ser determinante en la velocidad de formación de dicho compuesto. Wakamatsu y col (2010), concluyeron que el NO producido a partir del nitrito, inhibe la formación de *protoporfirina* IX y por lo tanto ZPP no puede ser formada en productos cárnicos curados a los cuales se les adiciona nitrato o nitrito.

En la actualidad, esta alternativa no es aplicable a productos cocidos y a productos de corta maduración (Foodbalt, 2008), pero se está examinando la potencial aplicación de este pigmento para la producción de productos no curados coloreados (Sakata, 2010)

2.4.1.3 Cultivos Estárter

El uso de microorganismos (cultivos estárter) ha sido estudiado por diferentes autores con el objetivo de determinar la posibilidad de sustituir el nitrito de sodio adicionado a los productos cárnicos, especialmente en los productos fermentados. El uso del *Lactobacillus fermentum* (JCM1173) mostró ser una alternativa viable en la formación de color, para la producción de salchichas fermentadas al producir NO a partir de fuentes químicas diferentes al nitrito y al nitrato. Sin embargo, se ha sugerido mayor investigación referente a la optimización de la condiciones de proceso y fermentación (Jens y col., 2003).

Kawahara y col (2006), estudiaron la utilización de bacterias ácido lácticas (BAL), particularmente *Lactobacillus sakei* M32 y sus resultados sugieren que dichas bacterias podrían sustituir el uso de los nitritos para el desarrollo de color, aunque éste desarrollo todavía no es práctico para aplicaciones industriales por los largos períodos de fermentación y la no obtención completa y homogénea del color típico de los productos. Los resultados obtenidos por los anteriores autores sugieren que el mecanismo para la formación del color, es el mismo que el explicado por Morita y col (1998), en el cual los microorganismos estudiados producen NO y luego MbFe⁺²NO a partir de la arginina.

Lactobacillus fermentum (AS1.1880) tuvo el potencial para sustituir el nitrito en la fabricación de salchichas fermentadas tipo China (*Harbin red sausage*),

especialmente en términos del color. Se requiere de mayor investigación en cuanto a la estabilidad oxidativa y a la vida útil de dichos productos y se sugiere la utilización de bajos niveles de nitrito para contrarrestar alguna variación en la acción que podría tener la actividad del cultivo (Zhang y col., 2007)

Baohua y col (2013), demostraron que el *Staphylococcus xylosus* A1 fue capaz de convertir la metamioglobina, en nitrosomioglobina en un sistema cárnico modelo bajo ciertas condiciones de incubación, lo que evidencia la posibilidad de obtener productos cárnicos ecológicos.

2.4.1.4 Monóxido de Carbono (CO)

El CO es una de las moléculas que puede unirse fuertemente al sexto ligando de coordinación del átomo de hierro presente en la Mb y formar un complejo de color rojo brillante, llamado carboximioglobina (COMb), ya sea en forma desnaturalizada, o no. Las carnes almacenadas en concentraciones entre 0,4% y 1% de CO, han sido consideradas como seguras para el consumo, aunque en algunos países no está permitida aún dicha práctica. Varios estudios han reportado que el uso de una mezcla de gases que contenga 1% de CO puede ser suficiente para el desarrollo del color rojo - rosado de los productos cárnicos cocidos o fermentados. Dichos estudios determinaron que la mayor diferencia respecto a un producto control que fue elaborado con adición de nitritos, es la inestabilidad del color en condiciones de luz y aire, con lo cual los productos elaborados con CO deben estar protegidos de dichos efectos (Sørheim y col.,2006). En la presente revisión no se identificaron aplicaciones industriales de ésta investigación.

2.4.1.5 “Pigmento de Carne Curada”

Pegg y Shahidi. (2000), reportan el desarrollo de un “Pigmento de carne curada y cocida en polvo” (PCCCP), el cual se obtiene en dos etapas. La primera es la obtención propia del pigmento proveniente de las células rojas de la sangre de bovino. El segundo paso es la estabilización de dicho pigmento en algún vehículo (almidones modificados, maltodextrina, gomas, y agentes reductores, entre otros)

y secado por aspersión para finalmente obtener el PCCCP. Su aplicación en estudios controlados, ha sido amplia en productos cárnicos emulsificados bajo concentraciones de 30 a 40 mg / Kg emulando el color obtenido en los productos que tienen adición de nitritos.

Soltanizadeh y Kadivar.(2012),demostraron que es posible producir un pigmento de carne curada utilizando nitrito y ascorbato en condiciones ácidas. Dicho pigmento fue producido *in vitro*.El uso de estas opciones es válido siempre y cuando se tenga la posibilidad científicamente comprobada de generar sinergia con otros ingredientes que provean las otras características (flavor, capacidad antioxidante y seguridad microbiológica) que aporta el nitrito en productos cárnicos.

2.4.2 Reducción del Nitrito de Sodio

Una creciente alternativa alineada con las actuales tendencias, es la reducción de los niveles de nitrito en los productos terminados. En las primeras décadas del siglo XX, era común el uso de grandes cantidades de nitrito de sodio en la elaboración de productos. Muchos casos de intoxicaciones con graves consecuencias fueron reportados en Alemania hacia 1930 (Honikel, 2008). Cassens (1997), demostró que es posible una reducción importante del nivel de nitrito residual en carnes curadas, a través de buenas prácticas de manufactura, entre otros. Aunque no se conoce una regulación sobre la mínima cantidad de nitritos que se puedan adicionar en los productos cárnicos procesados, se ha demostrado que con 40 ppm (USDA, 1995) o 50 ppm (Jafari y Emam-Djomeh, 2007) de nitrito adicionado es suficiente para lograr los atributos de color y preservación característicos de las carnes curadas. Independientemente de las ventajas tecnológicas, la reducción en el uso de nitritos para productos cárnicos se ha convertido en un asunto clave para la industria alimentaria (Weiss y col., 2010)

2.4.2.1 Derivados del Tomate

Consecuentes con la realidad actual en el desarrollo de productos cárnicos percibidos como saludables, naturales y orgánicos, se ha generado una gran cantidad de investigaciones y desarrollos tecnológicos enfocados en los colorantes naturales. Los carotenoides, las clorofilas y las antocianinas se constituyen en los más importantes pigmentos que pueden encontrarse en las frutas y los vegetales (Østerlie y Lerfall, 2005; Eyiler y Oztan, 2011). El licopeno que pertenece a la familia de los carotenoides, es el responsable del color rojo característico del tomate. Tanto el tomate como sus derivados se han convertido en el mayor recurso natural de licopeno en la dieta humana (Deda y col., 2007). El consumo de tomate ha sido asociado con la reducción en el riesgo de padecer cáncer del tracto digestivo, próstata y pulmón, además reducir el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares (Eyiler y Oztan, 2010). Su capacidad para atrapar átomos de oxígeno y radicales peróxidos los convierte en excelentes antioxidantes. El uso de tomate y sus derivados en productos cárnicos, podrían mejorar el color y el sabor cuando se reducen o eliminan los nitritos en su formulación.

Se ha reportado que el licopeno es 2,5 veces más biodisponible para el ser humano en la pasta de tomate, que directamente en tomates frescos. Lo anterior debido a los cambios en la conformación química, como la isomerización. Deda y col (2007), sustentados en la anterior afirmación, demostraron que es posible reducir hasta un 33% (de 150 mg / Kg a 100 mg / Kg) los nitritos en las *Frankfurter* comerciales sin ningún efecto negativo en sus características de calidad ni en el proceso, si se adiciona pasta de tomate con 12% de sólidos en un nivel del 12% de la formulación. Esta aplicación se vuelve atractiva para el desarrollo de productos saludables ya que tiene adición de licopeno y una reducción sustancial de nitritos. Sería necesario validar los impactos económicos respecto a sus efectos positivos de acuerdo a la estrategia de cada productor.

Eyiler y Oztan (2010), determinaron que es posible utilizar tomate en polvo para la elaboración de *Frankfurters* sin deteriorar su calidad respecto al control. Al utilizar

4 g / Kg de polvo de tomate, fue posible reducir el nivel de nitritos de 100 mg / Kg a 50 mg / Kg, teniendo una mayor aceptación sensorial en términos de color. Para la misma concentración de tomate en polvo, se tuvo un menor efecto sobre la capacidad antioxidante que a una concentración de 2 g / Kg por lo que sería necesario evaluar la concentración adecuada para cada tratamiento. Se recomienda que para ésta aplicación se use también agentes reductores como el ácido ascórbico y sus sales para beneficiar la conversión de nitrito a nitrosomioglobina y así la formación del color típico de la curación.

Østerlie y Lerfall (2005), concluyeron que el uso de derivados de tomate en productos de carne picada, tipo “*meat farce*”, puede compensar total o parcialmente el uso de nitritos en su formulación y actuar como un colorante natural, además de prevenir su rancidez y reducir la actividad microbológica. Para todos los estudios anteriormente descritos, el nivel de pH de los productos elaborados con licopeno disminuyó respecto a los controles evaluados. Las percepciones sensoriales limitan cantidades mayores a las reportadas debido a la aparición de sabores indeseables asociados al pH.

2.4.2.2 Uso de Annatto (Achiote)

El annatto, también conocido como Achiote, es un colorante natural con tonalidades roja – naranja – amarillo. Es obtenido a partir del pericarpio de semillas de *Bixa orellana* L.(Bixacea), árbol nativo de los bosques de Centro y Sur América. Su estabilidad ante el calor, la luz y el oxígeno es una cualidad muy importante especialmente en matrices complejas de alimentos. Numerosos estudios, han demostrado que su consumo es totalmente seguro para la salud humana Zarringhalami y col (2009). Aunque existen pocos estudios en cuanto a las propiedades antimicrobianas, Galindo-Cuspinera y col,(2003) reportaron que los extractos de annatto exhiben actividades antimicrobianas contra cepas de *C. perferingenes* y *C. botulinum*.

Zarringhalami y col (2009), realizaron estudios en salchichas elaboradas bajo condiciones industriales, utilizando annatto (1% *norbixin*) para reducir la cantidad

de nitritos adicionados. Las muestras que contenían un reemplazo del 60% de nitrito (120 mg / Kg de nitrito de referencia para el control) presentaron las mejores condiciones de color respecto al patrón (más alto valor de a* y menor valor de b*) sin afectaciones en el control microbiano (*C. perferingenes*) y las cualidades sensoriales.

2.4.2.3 Tecnología de Barreras

Jafari y Emam-Djomeh (2007), reportaron que es posible la reducción significativa de nitritos en productos cárnicos tales como *hot dogs* usando tratamientos combinados o tecnologías de obstáculos sin deteriorar la calidad sensorial, nutricional y microbiológica de los productos, además sin entrar en contraposición de las legislaciones existentes.

Al combinar elementos de formulación y proceso tales como humectantes, modificadores de pH, tratamientos térmicos y manejo de la cadena de frío entre otros, se logró demostrar una reducción de 120 mg / Kg hasta 50 mg / Kg de nitrito. Se debería tratar de reducir los nitritos adicionados hasta el punto que se mantenga la estabilidad y seguridad bacteriológica. Los autores sugieren sin embargo realizar más análisis utilizando esporas de *Clostridium botulinum* de varios tipos.

2.4.2.4 Suplemento en la dieta de Cerdos con Vitamina E

Dineen y col (2000), estudiaron el efecto que la suplementación de la dieta de cerdos (machos y hembras) con acetato de α tocoferol tenía sobre el color de los jamones curados cocidos elaborados a partir de dichos animales. Se logró evidenciar que la coordenada Hunter "a" (intensidad de rojo) tenía un mayor valor en los jamones elaborados con cerdos suplementados y tratados con 25 mg / Kg de nitritos, que en los jamones de cerdos que no fueron suplementados y tratados con 100 mg / Kg de nitritos. Para el primer caso, se evidenció además unos valores de TBARS menores que para el segundo caso, comprobando una mejor estabilidad oxidativa.

Sammety col(2006), estudiaron el efecto de la suplementación de cerdos con α tocoferol y su potencial capacidad antioxidante en salchichas tipo salami. Estos autores determinaron que los productos elaborados con músculos de cerdos suplementados con α tocoferol, presentaron una reducción en la pérdida de ácidos grasos insaturados y que la reducción de nitrito de 100 mg / Kg a 0 mg / Kg no tuvo influencia sobre la estabilidad lipídica, aunque la adición de 100 mg / Kg de nitrito es necesaria para la aceptabilidad sensorial. Los mejores resultados sobre las evaluaciones bioquímicas y sensoriales fueron encontrados en los productos elaborados con carne de cerdos suplementados con α tocoferol y tratados con 100 mg / Kg de nitrito.

Las anteriores investigaciones sugieren que el trabajo para lograr la reducción significativa de nitritos en los productos cárnicos procesados y curados, debe integrar toda la cadena de abastecimiento, desde el levante (alimentación y cría) de los animales hasta la obtención del producto final.

2.4.2.5 Extractos de Plantasy Vegetales

Cui y col (2010), evaluaron la capacidad antibotulínica de 90 tipos diferentes de extractos de plantas y vegetales frescos, hierba y especias deshidratadas, y plantas medicinales de origen chino, tanto individualmente, como en combinación con nitrito de sodio. Los autores lograron demostrar en un modelo cárnico, que los extractos de nuez moscada y salvia solubles en alcohol, la fracción soluble del extracto de clavo y 10 mg / Kg de nitrito presentan un efecto sinérgico que pueden tener una gran repercusión en el control de *C. botulinum* en productos cárnicos mínimamente procesados, sin comprometer las propiedades organolépticas de los productos.

Doolaege y col (2012), lograron reducir de 120 mg / Kg a 80 mg / Kg de nitrito en la elaboración de paté de hígado, mediante la utilización de extracto de romero.

Moarefian y col. (2011), lograron reducir el 50% del nitrito adicionado originalmente en salchichas cocidas, mediante la utilización de aceite esencial de *Cinnamomum zeilanicum*, sin tener afectación alguna sobre el producto.

2.4.2.6 Uso de Aditivos

Al-Shuibi y Al-Abdullah (2002), demostraron que el uso de sorbato de sodio (de 1000 a 2600 mg / Kg) en combinación con 80 mg / Kg de nitrito de sodio, es una alternativamás adecuada, que el uso de solo 120 mg / Kg de nitrito en términos de color, flavor y aceptación sensorial general para un producto como la mortadela. De acuerdo con la Norma Técnica Colombiana (NTC 1325, 2008), el uso de sorbato está permitido solo para ser aplicado por inmersión o aspersión en forma externa. Adicionalmente y de acuerdo con Binstok y col (1998), es necesario reducir al mínimo el uso combinado de nitritos y sorbatos en productos cárnicos durante su procesamiento debido a la formación de compuestos reportados como mutagénicos.

Vossen y col (2012), argumentan que es posible elaborar un paté de hígado con 80 ppm, incluso con 40 ppm de nitrito, utilizando ascorbato de sodio, sin afectar la estabilidad oxidativa del producto. Sugieren realizar nuevos estudios para validar la seguridad microbiológica del producto, pero encontraron en el ascorbato un aditivo con alto potencial para apoyar la reducción de nitritos. Cabe anotar, que el uso de dicho aditivo es normalmente utilizado en la industria, y para el caso de Colombia, los productos se formulan teniendo en cuenta buenas prácticas de manufactura (NTC 1325, 2008).

En la Tabla 2 se presenta un resumen de las posibilidades aquí planteadas tanto para la sustitución, como para la reducción del uso de nitrito de sodio en productos cárnicos.

2.5 Conclusiones

No se conoce un compuesto que por sí solo reemplace las funciones tecnológicas y antimicrobiológicas que aporta el nitrito en los productos cárnicos. Características como el color y la acción antimicrobiológica tienen posibilidades de ser emulados a partir de otras sustancias diferentes al nitrito, aunque todavía se requiere más investigación para poder tener o apoyar científicamente las aplicaciones industriales. Aspectos relacionados con el desarrollo del flavor y la capacidad antioxidante están más relegados, aunque los resultados han sido satisfactorios siempre y cuando se tenga un efecto sinérgico con la adición reducida de nitritos. La aplicación de fuentes naturales de nitrito se ha convertido en una alternativa industrial con excelentes resultados en cuanto a las características de los productos, incluso para la generación de etiquetas limpias.

En la presente revisión, se identifica el uso de fuentes naturales alternativas de nitrito como la opción con mayor potencial para generar conocimiento científico en la elaboración de jamones de alta extensión para la industria colombiana, con la posibilidad de generar nuevos conceptos comerciales que agreguen valor al consumidor y con alineación estratégica a las tendencias actuales del mercado. El uso del extracto de apio como fuente de nitrato, ha tenido gran compatibilidad con el desarrollo de productos naturales y ecológicos de acuerdo con lo argumentado por los autores citados en esta revisión, por lo cual se convierte la alternativa sobre la cual se desarrollará el presente trabajo.

Tabla 2. Sustitución o reducción de Nitrito de sodio en Productos Cárnicos.

Opción	Producto	Acción	Color	Antioxidante	Flavor	Microbiológico	Resultados
<i>Lactobacillus fermentum</i> (JCM1173)	Salchichas fermentadas	Sustitución	X	X	X	X	El microorganismo tiene la capacidad de producir óxido Nítrico (NO) a partir de una fuente química diferente al nitrito y al nitrato. Se requiere mayor investigación para optimizar condiciones del proceso y de la fermentación (Jens y col., 2003)
<i>Lactobacillus sakey</i> M32)	Lomo de cerdo cocido	Sustitución	X			X	Solo el 80% de las muestras exhibieron alguna formación de color, lo cual hace que una aplicación industrial no sea todavía posible. Se sugiere la formación de nitrosomioglobina a partir de Arginina (Kawahara y col., 2006)
<i>Lactobacillus fermentum</i> (AS1.1880)	Salchichas fermentadas tipo China (Harbin red Sausage)	Sustitución	X	X		X	Capacidad del microorganismo para formar nitrosomioglobina y desarrollar un color comparable a un producto tratado con nitritos. Se requiere de mayor investigación en cuanto a la estabilidad oxidativa y la seguridad microbiológica (Zhang y col., 2007)
<i>Staphylococcus xylosus</i> A1	Pasta cárnica cruda	Sustitución	X				El microorganismo fue capaz de producir nitrosomioglobina a partir de metamioglobina, bajo condiciones de incubación. Un potencial para el desarrollo de productos naturales y ecológicos (Baohua y col., 2013)
Monóxido de carbono (CO)	Salchichas fermentadas o cocidas	Sustitución	X				La aplicación de 1% de CO fue suficiente para el desarrollo de color rojo / rosado en productos cocidos o fermentados bajo condiciones controladas de almacenamiento. . Posible formación de carboximioglobina. Color inestable al oxígeno a la luz (Sørheim y col.,2006).

Sustitución o reducción de Nitrito de sodio en Productos Cárnicos (Continuación Tabla 2).

Opción	Producto	Acción	Color	Antioxidante	Flavor	Microbiológico	Resultados
Pigmento de carne curada y cocida en polvo (PCCCP)	Diferentes productos emulsificados	Sustitución	X				La utilización de 30 - 40 mg / Kg de PCCCP genera una coloración típica de las carnes curadas con nitrito Pegg y Shahidi., 2000).
Nitroso pigmento in vitro.	Producción in vitro del pigmento	Sustitución	x				El método de extracción del nitroso pigmento es de alta extracción y emula el color de la carne curada (Soltanizadeh y Kadivar.,2012).
Licopeno cristalizado del tomate	Carne picada	Sustitución	X	X		X	Se puede compensar parcial o completamente el uso de nitrito en estos productos y actuar como fuente de color natural, prevención de la rancidez y reducción de la actividad microbiológica. La restricción está sobre el efecto que tiene el pH en la características de sabor (Østerlie y Lerfall., 2005)
Pasta de tomate	Salchichas cocidas	Reducción	X	X	X	X	Es posible reducir un 33% los nitritos adicionados en una salchicha tipo frankfurter mediante la adición de pasta de tomate al12% (12% sólidos solubles) sin ningún efecto significativo en la calidad del producto (Deda y col., 2007)
Tomate en polvo	Frankfurters	Reducción	X	X			El uso de 4 g / Kg de tomate en polvo podría generar una reducción del 50% de nitritos en la fórmula, pero se podría tener menor capacidad antioxidante (Eyiler y Oztan.,2010).

Sustitución o reducción de Nitrito de sodio en Productos Cárnicos (Continuación Tabla 2).

Opción	Producto	Acción	Color	Antioxidante	Flavor	Microbiológico	Resultados
Extracto de vegetales y un cultivo que contiene Staphylococcus carnosus	Salchichas emulsificadas cocidas	Sustitución	X	X	X	X	Todos los tratamientos fueron comparables con un control al cual se adicionó nitrito en cuanto a color, oxidación lipídica, nitrosopigmentos, y evaluación sensorial (Sindelar y col., 2007a)
Extracto de vegetales y un cultivo que contiene Staphylococcus carnosus	Jamones cocidos	Sustitución	X	X	X	X	El tratamiento que contenía 0,2% de Extracto de apio mostró ser similar al control que tenía nitrito adicionado directamente, aunque los niveles residuales de nitrito son considerablemente más bajos que el control (Sindelar y col., 2007b)
Extracto de vegetales y un cultivo que contiene Staphylococcus carnosus	Jamones, tocinetas y salchichas cocidas conseguidas a nivel comercial.	Sustitución	X	X	X	X	Existen diferencias entre las marcas comerciales para productos etiquetados sin nitratos o nitritos adicionados. De igual manera las diferencias son reportadas con los productos curados tradicionalmente (Sindelar y col., 2007)
Vegetales con alto contenido de nitratos y un cultivo nitrato reductor	Carnes curadas	Sustitución	X	X	X	X	No es posible medir analíticamente la cantidad de nitritos producidos por este medio, por lo tanto se deben realizar estudios que permitan mantener la calidad de los productos y su seguridad microbiológica. Adicionalmente se deben tener políticas claras de etiquetado y mercadeo. Es necesario realizar estudios que permitan estandarizar los procesos de producción (Sebranek y Bacus, 2007a)
Extracto de vegetales y un cultivo que contiene Staphylococcus carnosus	Carne seca	Sustitución	X	X	X	X	Los procesos de elaboración investigados en este trabajo no fueron efectivos para lograr características similares al producto control elaborado con adición directa de nitritos (Sindelar y col., 2010)

Sustitución o reducción de Nitrito de sodio en Productos Cárnicos (Continuación Tabla 2).

Opción	Producto	Acción	Color	Antioxidante	Flavor	Microbiológico	Resultados
Incubación de salmueras para la conversión de nitrato en nitrito y un cultivo que contienen Staphylococcus carnosus	Jamón cocido y tajado	Sustitución	X	X	X	X	La alta conversión de nitrato en nitrito se ve opacada por los grandes espacios y tiempos de proceso que requieren los productores (Krause y col., 2011)
Polvo de apio Pre convertido	Jamón cocido y tajado	Sustitución	X	X	X	X	Se sugiere más estudios alrededor del tema, en especial para validar la seguridad de los productos en el tiempo. Es una aplicación de gran potencial (Krause y col., 2011).
Concentrados vegetales (Apio y zanahoria)	Butifarra catalana	Sustitución	X	X	X	X	Es viable el uso del concentrado utilizado para la producción de una butifarra catalana ecológica (Magrinyà y col., 2012).
Extracto de vegetales, un cultivo que contiene Staphylococcus carnosus y polvo de cereza	Salchichas emulsificadas cocidas	Sustitución	X	X	X	X	El polvo de cereza tiene un efecto similar al ascorbato utilizado en la industria, debido a su rica composición en ácido ascórbico. Es necesario validar la seguridad microbiológica de los productos Terns y col., 2011 a)
Extracto de vegetales pre convertido con polvo de cereza, lima y arándano	Salchichas emulsificadas cocidas	Sustitución	X	X	X	X	El uso de polvo de arándano al 3% tiene un efecto inhibitorio sobre Listeria monocytogenes, similar a un producto elaborado tradicionalmente con nitrito. Las características sensoriales y fisicoquímicas de los productos terminados se impactan negativamente (Xi y col., 2012),

Sustitución o reducción de Nitrito de sodio en Productos Cárnicos (Continuación Tabla 2).

Opción	Producto	Acción	Color	Antioxidante	Flavor	Microbiológico	Resultados
Suplemento con acetato de alfa tocoferol	Jamones cocidos	Reducción	X	X			Jamones elaborados con músculos de cerdos suplementados con alfa tocoferol y tratados con 25 mg / kg de nitrito, presentaron un valor Hunterlab "a" (Rojez) significativamente mayor que músculos fabricados con cerdos no suplementados y tratados con 100 mg / kg de nitrito. De igual manera se logra una mejor estabilidad oxidativa (Dineen y col., 2000)
Suplemento con alfa tocoferol	Salchichas tipo salami	Reducción		X			Los productos provenientes de cerdos suplementados con a- tocoferol y tratados con 100 mg / Kg de nitrito presentaron la más larga estabilidad sensorial y los parámetros bioquímicos no mostraron incidencia del nitrito sobre el potencial antioxidante (Sammet y col., 2006).
Tecnología de barreras	Salchichas	Reducción	X	X	X	X	Una reducción de 120 mg / kg hasta 50 mg / kg de nitrito de sodio en formulación y combinar diferentes obstáculos como el pH, temperatura entre otros, permite lograr un producto sin problemas microbiológicos, nutricionales, legislativos y sensoriales (Jafari y Emam-Djomeh.,2007).
Anato en polvo (1% norbixina)	Salchichas	Sustitución	X				El producto con un Sustitución del 60% del nitrito por Annatto, presenta las mejores coordenadas de color (Mayor "a" y menor "b") sin afectar la seguridad microbiológica y las características sensoriales (Zarringhalami y col.,2009)

Sustitución o reducción de Nitrito de sodio en Productos Cárnicos (Continuación Tabla 2).

Opción	Producto	Acción	Color	Antioxidante	Flavor	Microbiológico	Resultados
Zn - Protoporfirina IX.	Jamón de Parma	Oportunidad	X				Los resultados sugieren que el color rojo brillante del jamón curado de parma es debido a la formación del complejo Zn - Protoporphyrim IX. Dicho jamón es elaborado sin la adición de nitratos o nitritos (Wakamatsu y col., 2004a). En la actualidad esta alternativa no es aplicable a productos cocidos y a productos de corta maduración (Foodbalt, 2008)
90 clases de hierbas y especias frescas, deshidratadas y plantas chinas.	Sistema cárnico modelo	Reducción				X	La combinada eficacia antibotulínica que presenta los extractos de nuez moscada, salvia y clavos de olor, puede ser útil en el desarrollo de productos cárnicos mínimamente procesados ,particularmente aquellos con bajos niveles de nitrito sódico (10 ppm) (Cui y col., 2010)
Extracto de romero	Paté de hígado	Reducción	X	X	X	X	Es posible reducir de 120 a 80 mg / Kg de nitrito de sodio sin afectaciones en el producto (Doolaege y col., 2012)
Cinnamomum zeilanicum	Salchichas cocidas	Reducción	X	X	X	X	Es posible reducir EL 50% del nitrito adicionado originalmente sin afectaciones en el producto (Moarefian y col., 2011)
Sorbato de sodio	Mortadela	Reducción	X	X	X	X	Es posible reducir de 120 a 80 mg / Kg de nitrito de sodio sin afectaciones en el producto (Al-Shuibi y Al-Abdullah., 2002).. La norma técnica colombiana no permite el uso de este aditivo en la masa de los productos (NTC,1325)
Ascorbato	Paté de hígado	Reducción	X	X	X	X	Es posible elaborar un paté de hígado con 80 ppm, incluso con 40 ppm, utilizando ascorbato de sodio, sin afectar la estabilidad oxidativa del producto (Vossen y col.,2012)

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo General.

Analizar el empleo de extracto de apio (como fuente de nitratos) en la elaboración de un jamón cocido tipo Medellín, como alternativa al uso de nitrito de sodio, en su formulación.

3.2 Objetivos Específicos

- Realizar una revisión bibliográfica sobre las posibilidades de reducir o eliminar el Nitrito de Sodio en los productos cárnicos procesados
- Identificar las alternativas potenciales para sustituir el nitrito de sodio en los productos cárnicos procesados: empleo de extracto de apio y de cultivo iniciador
- Evaluar el efecto de la adición de una fuente natural de nitrato como alternativa de sustitución del nitrito adicionado a un jamón tipo Medellín, elaborado bajo condiciones colombianas
- Explicar los fenómenos que aparecen en el producto cuando se utilizan fuentes naturales de nitrato como alternativa al nitrito de sodio adicionado en la elaboración de un Jamón cocido tipo Medellín

4 MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Formulación

Se definió una formulación de un Jamón Cocido tipo Medellín (JCM) con una extensión del 90%, ya que esta condición representa la mayoría de los jamones elaborados en Colombia. La fórmula control (CTRL) se definió así: 53% de magro de cerdo, 29% agua (hielo), 6% fécula de trigo, 3,8% mezcla de especias y saborizantes comerciales, 2,5% Proteína de Soya, 2,5% Lactato de sodio (Galactic Colombia), 2,2% Sal yodada, 0,5% Polifosfatos de sodio, 0,5% Carragenina refinada (Gelcarin, Colombia), 500 mg / Kg de ascorbato de sodio, 350 mg / Kg de nitrito de sodio, todos los aditivos utilizados fueron del grado alimento. Se suprimió la adición de colorantes naturales y/o artificiales comúnmente utilizados en este tipo de productos buscando que los efectos en el color fueran solo atribuibles a los factores contemplados para este estudio.

Las variaciones de la fórmula CTRL para los diferentes tratamientos en los diseños experimentales propuestos, se detallaran más adelante en cada capítulo experimental.

Los cultivos iniciadores utilizados fueron *Staphylococcus carnosus* (CS 299 y CS 300), al 0,02% sobre el peso total de la fórmula de acuerdo con la recomendación del proveedor. El extracto de apio (EA) utilizado fue el Vegetable Juice Powder Natural, con una recomendación de uso entre el 0,2% y 0,4%. Ambos productos fueron proveídos por CHR Hansen Colombia S.A. El Control se elaboró sin adición de EA, ni cultivo iniciador.

4.2 Proceso de elaboración

A continuación se detalla el proceso de elaboración para el producto CTRL. Las variaciones de proceso que fueron consideradas factores en el diseño experimental, serán explicadas en capítulos posteriores.

El producto fue preparado en la planta piloto del Centro de Investigación y Desarrollo (CI+D), de Industria de Alimentos Zenú S.A.S, Medellín, Colombia, usando la fórmula descrita anteriormente. La carne magra de cerdo ($2 \pm 1^\circ\text{C}$) fue picada en un molino PT 98 (Mainca, Barcelona, España) usando un disco de 5 mm para favorecer la distribución de la salmuera al interior de las piezas cárnicas. La salmuera fue preparada previamente en una licuadora industrial CLE 12/90 (Colcocinas, Medellín, Colombia), adicionando los ingredientes de tal manera que se favoreciera la completa homogenización. Tanto la carne picada, como la salmuera, fueron puestas en un masajeador de 100 L modelo TV 100, (Talsa, Medellín, Colombia), durante una hora a 16 rpm para facilitar la incorporación de la salmuera en la carne y la extracción de la proteína necesaria para la ligazón de las piezas. .

El tiempo de reposo es una condición del proceso en la elaboración de jamones. El producto control, tuvo un tiempo de reposo de 24 horas en una cámara de refrigeración a 4°C para favorecer el desarrollo de las reacciones bioquímicas que influyen en la calidad sensorial del producto final.

Tras el tiempo de reposo, la mezcla fue embutida en una máquina Vemag Roby TYP 134, (Alemania) en tripas plásticas con una permeabilidad al oxígeno de $20 \text{ cm}^3 / \text{m}^2 / 24\text{h}$ a 1 atm, utilizando moldes de acero inoxidable de $10 \times 10 \text{ cm}$. Los moldes fueron llevados a un tanque con agua a 80°C durante 2 horas y 40 minutos, hasta que el producto alcanzó la temperatura en su centro geométrico de 72°C (sensor PT 100). Al finalizar el proceso térmico, los moldes fueron llevados a una cámara de refrigeración a 4°C durante 24 h antes de ser rebanados en una tajadora Trief NR 104740 (Trief, Alemania) de acuerdo con las necesidades de cada análisis. El producto fue empacado al vacío en una Tiromat Compact 320 (CFS, Alemania).

El diagrama de flujo del proceso de elaboración del JCM, se presenta en la figura 3.

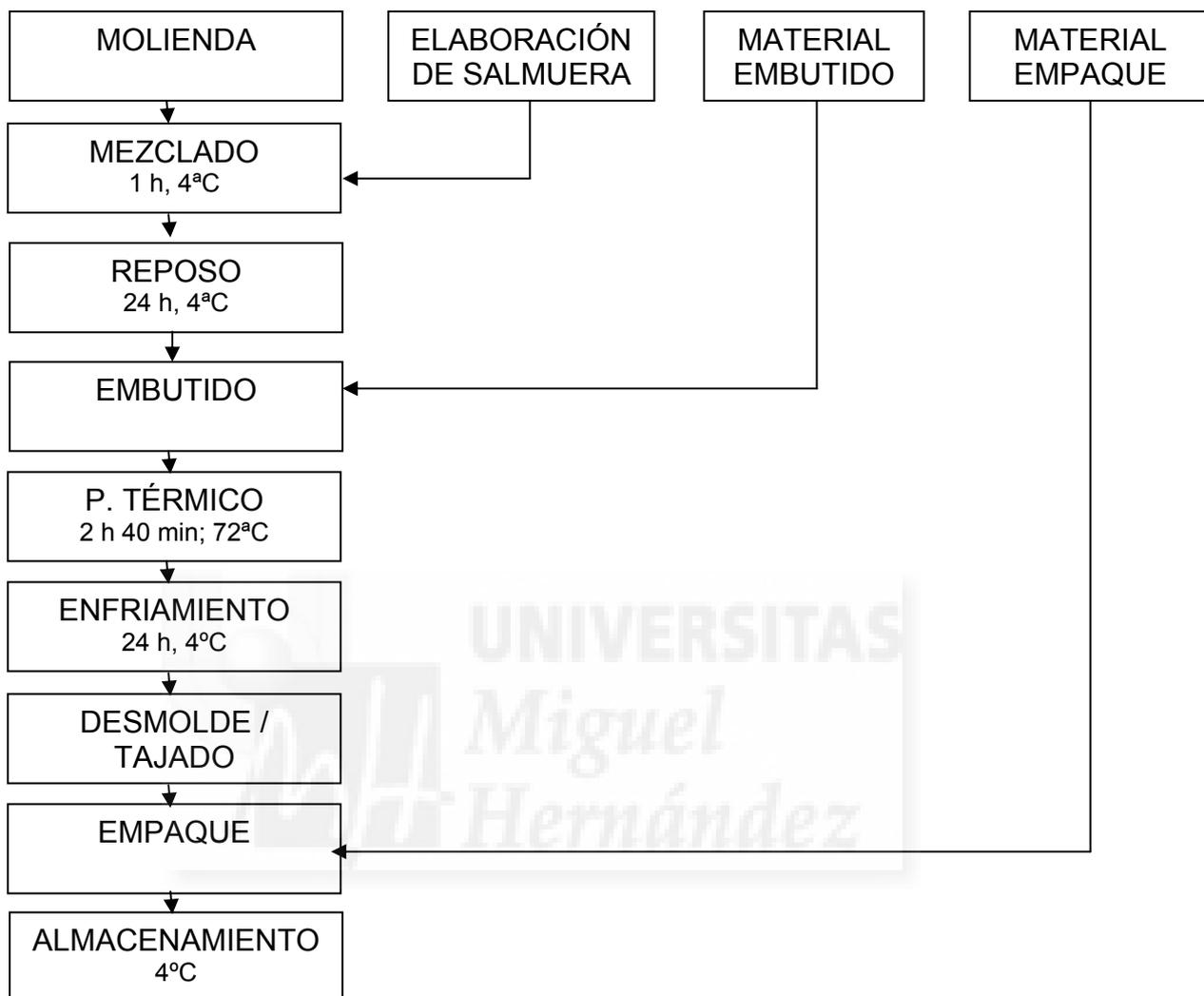


Figura3. Diagrama del flujo de proceso en la elaboración de un Jamón Cocido tipo Medellín

4.3 Análisis de Color

Para la determinación del color se seleccionó el espacio de color CIELAB siguiendo el procedimiento descrito por Cassens y col. (1995), obteniéndose las coordenadas luminosidad (L^*), coordenada rojo-verde (a^*), coordenada amarillo-azul (b^*) y las magnitudes psicofísicas Cromo (C^*_{ab}) y tono (h°_{ab}). Adicionalmente se obtuvieron los espectros de reflexión de las muestras entre 400 nm y 700 nm, considerándose los valores de reflexión cada 10 nm. Para ello se utilizó un espectrofotómetro de esfera integradora Konica Minolta Modelo CM - 700d. (Geometría de medición d/8), y Software *On Color QC*. Las mediciones se realizaron con iluminante D_{65} , ángulo del observador 10° y 8 mm de apertura. (AMSA, 1991; Honikel, 1998; AMSA, 2012) Se tomaron 10 datos aleatoriamente tanto en la zona central, como en la zona periférica de cada bloque de jamón una vez fue refrigerado y empacado.

4.4 Análisis de nitritos y nitratos residuales

El contenido de nitritos para el EA (extracto de apio) y para producto terminado se determinó siguiendo el método de la AOAC 973.31 (AOAC, 2006), los resultados fueron expresados en mg nitrito sódico/ kg de producto.

Para el análisis de nitratos se siguió el método propuesto por Hughes. (2004) con algunas modificaciones y los resultados fueron expresados en mg nitrato sódico/ kg de producto. El método se basa en la extracción de nitratos de la muestra con agua caliente, precipitación de proteínas, centrifugación y filtración. La cuantificación se realizó por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) por intercambio iónico con detección por absorción ultravioleta a 214 nm. Se pesaron $10,0 \pm 0,50$ g de muestra en un recipiente de 150 mL, se añadió 5 mL de solución saturada de Borax ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$ disuelta en agua destilada a 70°C) Se homogenizó y se llevó a 80°C durante 30 minutos. Después de haber enfriado la mezcla anterior a temperatura ambiente, se adicionaron 5 mL de solución Carrez I ($10.6\text{g K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot \text{H}_2\text{O}$) diluido en 100 mL agua) y Carrez II ($21.9\text{g Zn}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 3ml de CH_3COOH , diluidos en 100 mL de agua) sucesivamente y se llevó a volumen final de 250 mL con agua desmineralizada y destilada. Se tomó una alícuota de 15 mL y se centrifugó a

1000g (5000 rpm) durante 20 minutos. El líquido sobrenadante se filtró con una membrana PVDF(Polivinildenofluoruro) 0,45 μm y se inyectó para su análisis por HPLC. El análisis se llevó a cabo en un equipo de cromatografía líquida Elite LaChrom HITACHI, se utilizó un detector de diodos (DAD) a una longitud de onda de 214 nm. La columna utilizada fue Luna® amino (NH_2) (150 mm x 4.6mm x 5 μm), La fase móvil fue una solución Buffer Fosfato 0,050 M con pH ajustado en 3,7 a 40 °C; el flujo fue de 1 mL/min y el volumen de inyección de 20 μL .

4.5 Análisis de pH.

Para la determinación del pH se utilizó el Potenciómetro *Microprocessor* pH-211 Hanna Instruments (Illinois, USA), con medición directa por electrodo de vidrio (*Spearhead Electrode*). La temperatura a la cual se hicieron todas las mediciones fue de 4°C. La calibración del equipo se hizo con una solución buffer de pH = 4 y otra solución buffer de pH= 7 marca Merck.

4.6 Determinación instrumental de la dureza

Se utilizó el texturómetro TA-XT2i *Texture Analyzer, Stable Micro Systems, Halsemere*. Las muestras de jamón fueron en forma de cilindro de 25mm de diámetro y 30mm de alto, fueron comprimidos dos veces al 50% de su altura original con un plato de compresión de 75 mm de diámetro (SMSP/50). Las curvas de tiempo vs fuerza fueron registradas a una velocidad de 50 mm/min. El resultado para cada tratamiento equivale al valor medio de 9 mediciones. Se evaluó la dureza por ser la variable más relevante.

4.7 Análisis Químico

En el análisis fisicoquímico se midieron las variables proteína, grasa y humedad mediante el método oficial de la AOAC 2007.04 para carne y productos cárnicos. Este método se basa en la espectroscopia de transmisión en el infrarrojo cercano (NIR), utilizado para predecir la concentración de diversos componentes en muestras biológicas u orgánicas. Se utilizó un espectrofotómetro *FoodScan™* (FOSS North America, 8091 Wallace Rd, Eden Prairie, MN 55344, USA) y una curva de calibración (ANN) para productos cárnicos, la cual cuantifica la relación entre los resultados espectrales y los

valores de cada componente a interpretar: proteína, grasa, humedad. El procedimiento consistió en tomar 180g de muestra procesada según la NTC 5554,(2007). Dicha muestra se colocó en el plato del equipo y se llevó a la cámara del FoodScan™. Se tomaron 20 lecturas las cuales finalmente se promedian. Los resultados se compararon con el modelo de calibración ANN el cual los interpreta y devuelve los cuantitativos de proteína, grasa y humedad.

4.8 Análisis Sensorial – Prueba triangular

Se realizó una prueba triangular con el objetivo de determinar si existían diferencias sensorialmente perceptibles entre cada uno de los tratamientos y el CTRL. A siete panelistas entrenados bajo las normas (NTC 4129, 1997; NTC 4130, 1997) pertenecientes al Centro de Investigación y Desarrollo de Industria de Alimentos Zenú S.A.S- Negocio Cárnico, se les presentó un grupo de tres muestras aleatorizadas, en las cuales una era diferente y dos eran idénticas. El objetivo era identificar la diferente. Se usaron lámparas de luz roja para enmascarar algunas diferencias detectables en el color. Al final de la prueba se contó el número de respuestas correctas y se determinó su significancia con un nivel de confianza del 95%. La prueba se realizó por triplicado para cada tratamiento según los parámetros establecidos por la norma NTC 2681, 2006.

4.9 Análisis Sensorial – Perfil sensorial

Se realizaron dos perfiles sensoriales por aproximación multidimensional según la NTC 3929 (1996), tanto al tratamiento como al control en el día 0 (inicio vida útil) y en el día 50 (fin de la vida útil). Este análisis se ejecutó con el objetivo de detectar las posibles variaciones en el tiempo de los atributos de sensoriales definidos internamente para estos productos. Las mediciones fueron realizadas por siete panelistas entrenados pertenecientes al Centro de Investigación y Desarrollo de Industria de Alimentos Zenú S.A.S- Negocio Cárnico, bajo las normas NTC 4129, (1997) y NTC 4130, (1997).

4.10 Análisis Microbiológico

Se realizaron análisis microbiológicos de acuerdo con la Norma Técnica Colombiana (NTC 1325, 2008, 2008) para mesófilos, coliformes totales,

coliformes fecales, *Staphylococcus aureus*, Esporas de *Clostridium* sulfito reductor, *Salmonella Sp.* y *Listeria monocytogenes*.

4.11 Análisis Estadístico

En cada apartado del capítulo 5, se realizó un diseño de experimentos con su respectivo análisis estadístico, los cuales se detallan más adelante. En todas las pruebas estadísticas realizadas, se tomó el valor p calculado, como el valor contra el cual se rechazó o no la hipótesis nula, y se reportó como la comparación del valor p en relación al nivel de significancia, que si no se dice lo contrario, fue del 5%.



5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

5.1 Utilización de cultivos iniciadores y fuentes alternativas de nitrito sódico en el proceso de elaboración de un Jamón Cocido tipo Medellín: Influencia sobre el color

5.1.1 Resumen

En este capítulo se estudió el efecto del extracto de apio (EA) y su interacción con el tiempo de reposo sobre las características de color, espectro de reflexión, pH, y nitrito residual en un jamón cocido tipo Medellín (JCM) producido en Colombia, después del proceso de cocción y enfriamiento. El EA fue incorporado como polvo, en concentraciones de 0,2%, 0,3% y 0,4%. El tiempo de reposo fue definido en 12, 18 y 24 horas. El control, al cual solo se le adicionó nitrito, reportó un contenido de nitrito residual significativamente mayor que los otros tratamientos. Se identificaron dos zonas de color (una zona central y otra periférica) en todos los tratamientos en los que se utilizó EA una vez el jamón fue tajado, siendo la zona periférica, diferente significativamente al Control para las coordenadas luminosidad (L^*), rojo-verde (a^*) y amarillo-azul (b^*). Los espectros de reflexión en la zona exterior presentaron diferencias significativas entre los diferentes tratamientos experimentales y el control, especialmente para las longitudes de onda que corresponden a los colores amarillo y rojo. Es necesario realizar nuevos estudios para determinar el impacto de los métodos de procesamiento y de esta manera lograr un desarrollo uniforme de color cuando el EA es utilizado.

5.1.2 Generalidades

Varios estudios han demostrado que la preferencia por parte de los consumidores de productos ecológicos (orgánicos) y naturales, están basadas en las preocupaciones por el uso de productos químicos como: antibióticos, pesticidas, hormonas, y aditivos, así como modificaciones genéticas de los productos convencionales (Winter 2006; Devcich y col, 2007). El nitrito es usualmente utilizado en forma de sal potásica o sódica, ya que el ácido nitroso es muy inestable. Dichas sales son legalmente aceptadas como aditivos para la curación de los productos cárnicos en Colombia (NTC 1325, 2008, 2008).

Sindelary col (2007a) y Sindelar y col (2007b), mencionan que ciertos vegetales son capaces de almacenar nitrato en sus estructuras, las cuales al ser adicionadas a los productos cárnicos junto con cultivos iniciadores nitrato reductores, podrían generar en la matriz cárnica los nitritos necesarios para la transformación de la carne fresca en productos curados. Actualmente, el extracto vegetal más utilizado en este campo es el EA, que a diferencia de otros vegetales, aparenta inicialmente, ser altamente compatible con las carnes curadas, debido fundamentalmente a que tienen un menor componente de pigmentos (carotenoides, antocianos o clorofila). Desde el punto de vista sensorial, Sebranek y col (2012), mencionan que la utilización de los EA no degrada significativamente el sabor los productos. Por otra parte, en muchas formulaciones cárnicas, especialmente en productos cocidos y emulsificados, el apio es utilizado como especia (Pérez-Alvarez y col, 2002). Por lo anterior, en este trabajo se eligió utilizar EA junto con un cultivo nitrato reductor, procurando obtener los nitritos necesarios para las reacciones de curado necesarias en jamones tipo JCM. Adicionalmente, se evaluó diferentes tiempos de reposo, con el objetivo de determinar la posibilidad de optimizar el proceso productivo mediante la reducción de tiempo de proceso.

En general, el color de los productos cárnicos puede ser afectado por diversos factores, muchos de los cuales afectan la ultraestructura del alimento, y por lo tanto, la apariencia de la carne. Algunos factores tecnológicos y algunos ingredientes usados en los procesos cárnicos, pueden afectar directa o indirectamente el color, como por ejemplo: la congelación, la descongelación y la adición de ingredientes funcionales (Pérez-Alvarez y Fernández-López 2009a).

De acuerdo con Mendoza y col.(2009), el color final de los jamones cocidos, depende de la formulación, de la microestructura generada durante la fabricación (Curado, tostado, cocinado, ahumado y proceso de enfriamiento), y las condiciones de almacenamiento, entre otros. Dichas diferencias en la apariencia son específicas para cada tipo de jamón.

Las características específicas del color del JCM pueden ser utilizadas como huella digital. Las coordenadas de color y los espectros de reflexión pueden ser considerados como una herramienta útil, no sólo para la verificación objetiva de las especificaciones de calidad durante la fabricación, sino también para juzgar la calidad del producto final (Gallego y col. 2010).

Pérez-Alvarez (2006), propone la necesidad de establecer descriptores específicos de color que caractericen los productos cárnicos cocidos. De esta manera, las características del JCM deben ser claramente establecidas.

El objetivo de este estudio fue determinar la influencia del uso del EA y diferentes tiempos de reposo sobre las características de color, espectros de reflexión, pH y niveles de nitrito residual en un jamón cocido tipo Medellín, realizado de acuerdo con el proceso de elaboración a nivel industrial en Colombia.

5.1.3 Diseño experimental

Se usó como base, la fórmula control descrita en el apartado 4.1 (0% EA y 24 h de tiempo de reposo). Los dos factores del diseño experimental, fueron %EA y tiempo de reposo, los cuales presentaron tres niveles. El EA fue evaluado al 0,2% y 0,4% y un punto central de 0,3%. El tiempo de reposo fue evaluado a 12 h y 24 h y un punto central de 18 h. Se realizaron tres réplicas para cada tratamiento y cada réplica se hizo con un lote diferente de carne (Bloqueo por lote de carne) para determinar el efecto que éste pudiera tener sobre los resultados. En el punto central se realizaron tres repeticiones para determinar la variabilidad al interior del lote. Los 24 ensayos fueron llevados a cabo de manera aleatoria. Todas las muestras fueron almacenadas y las evaluaciones fueron llevadas a cabo inmediatamente el producto fue empacado, es decir, solo en el tiempo 0 de almacenamiento. Se analizó el pH, nitrito residual, parámetros de color y espectros de reflexión.

Para el análisis de color, un factor adicional fue incluido, el cual corresponde a la zona, ya sea la zona central o la zona periférica de las lonchas de jamón.

Un análisis de varianza clásico (ANOVA) fue aplicado para determinar si existía diferencia entre los tratamientos. Se realizó el test de Dunnett porque está diseñado para comparar las medias de los tratamientos con el nivel de control. Se utilizó un nivel de confianza del 95% para establecer el nivel de significancia. El programa de análisis estadístico fue el R *statistical software* (R, 2008).

El diseño experimental completo se puede observar en la Tabla 3. El punto central se estableció para determinar si existía una relación no lineal entre las concentraciones y los tiempos de reposo en la superficie de respuesta. La elaboración de los lotes fue completamente aleatorizada.

Tabla 3. Modelo estadístico aleatorio 2*2 con punto central y un control para la elaboración de un Jamón cocido tipo Medellín (JCM) usando diferentes concentraciones de extracto de apio (EA) y tiempo de reposo.

Tratamiento	% EA	Tiempo reposo(h)	Lote 1			Lote 2			Lote 3		
1 (CTRL)	0	24	1			2			3		
2	0,2	12	4			5			6		
3	0,3	18	7	8	9	10	11	12	13	14	15
4	0,4	12	16			17			18		
5	0,2	24	19			20			21		
6	0,4	24	22			23			24		

El cultivo iniciador, *Staphylococcus carnosus* (CS 299), fue usado al 0,02% sobre el peso total de la fórmula en todos los casos en donde se utilizó el EA (Vegetable Juice Powder Natural NA). Ambos fueron suministrados por CHR Hansen Colombia S.A. y fueron añadidos en la preparación de la salmuera. Al control, no se le adicionó ni EA ni cultivo iniciador. El tiempo de reposo fue llevado a cabo en una cámara de refrigeración a 4°C para favorecer el desarrollo de las reacciones bioquímicas que influyen en la calidad sensorial del producto final y luego del embutido, los moldes tanto del control como de los tratamientos, fueron llevados a un tanque con agua a 80°C por 2 h y 40 minutos a 80°C, hasta que el producto alcanzó la temperatura en su centro geométrico de 72°C, medida con un sensor PT 100.

5.1.4 Resultados

5.1.4.1 Análisis del color

Minguez-Saura y col.(1992); Illescas Hernández y col.(1993) y Li y col. (2012) reportaron que la estabilidad del color es una de las características más importantes de las carnes curadas, y es el principal atributo de calidad que percibe el consumidor. Desde el punto de vista del consumidor, la decoloración puede ser definida como la divergencia que hay entre lo que ellos definen como ideal, y algo que es menos deseable, por ejemplo pasar de color rosado – rojizo, a un color grisáceo. Dado que el valor croma (C^*_{ab}) indica la cantidad que un determinado color se diferencia de los grises, un color rojo o rosado más degradado en un producto cárnico, podría ser considerado como no apto para el consumo humano. Recientemente Valous y col (2009) describieron como en un jamón cocido, las características morfológicas de los poros y el tejido conectivo y adiposo, pueden contribuir a la caracterización de la apariencia de la superficie de las lonchas de producto. La estrategia para maximizar la aceptabilidad del color curado debe involucrar el retraso de la oxidación de los pigmentos cárnicos o la mejora en la reducción del pigmento oxidado.

5.1.4.2 Resultados de los parámetros de color

En general, los tratamientos del JCM presentan superficies de color no uniforme. Para el presente estudio, se encontró una diferencia de color entre la zona central y la periferia en las tajadas de jamón para los tratamientos 2, 3, 4, 5 y 6, mientras que el control no presentó ningún cambio de color (Figura 4).

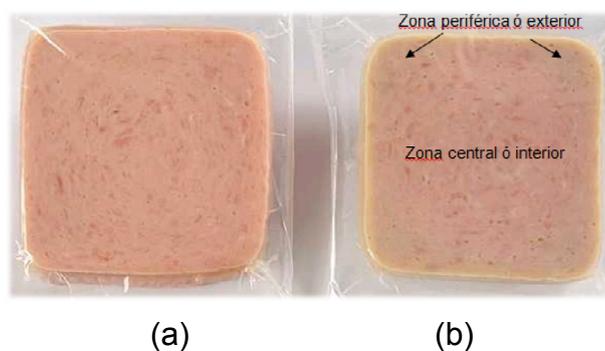


Figura 4. Imágenes de un Jamón Cocido tipo Medellín (JCM). (a) Control (b) Muestra ilustrativa del fenómeno para los tratamientos 2 al 6.

Estas observaciones podrían ser explicadas porque la superficie del jamón fue expuesta durante el proceso térmico a temperaturas por encima de las consideradas óptimas para el correcto desarrollo del cultivo iniciador, en particular en los tratamientos donde se utilizó EA y cultivo iniciador. Es decir, la combinación de temperatura con cultivo iniciador, está explicando las diferencias de color encontradas entre la zona central y la periférica. Como se mencionó anteriormente, la realización de nuevos estudios podría evidenciar la necesidad de cambiar el proceso de manufactura con el objetivo de favorecer el desarrollo del cultivo iniciador y así corregir las diferencias de color detectadas. La Tabla 4 presenta los parámetros de color estudiados.

Tabla 4. Valores medios y sus respectivas desviaciones estándar para los parámetros de color CIELAB, Luminosidad (L*), Rojo - Verde (a*), amarillo - Azul (b*), croma (C*_{ab}) y tono (h°_{ab}) en la zona central y la zona periférica de un jamón cocido tipo Medellín (JCM) elaborado con diferentes concentraciones de extracto de apio (EA).

TRATAMIENTOS	ZONA	PARÁMETROS DE COLOR				
		L*	a*	b*	C* _{ab}	h° _{ab}
1 (0% EA, 24 h)	Periferia	62,91± 1,38 a	6,44±0,27 a	8,20±0,36 a	10,43± 0,41 a	51,83± 0,91 a
	Central	62,70±1,37a	6,44±0,28 a	8,29 ± 0,25 a	10,50 ± 0,29 a	52,16±1,30 a
2 (0,2% EA, 12h)	Periferia	65,77± 0,99 b	1,45±0,34 b	10,56±0,45 b	10,67 ± 0,42 a	82,13 ± 2,03 b
	Central	63,08±1,37 a	5,88±0,41 a	7,36±0,18 c	9,43 ± 0,24 b	51,44 ± 2,31 a
3 (0,3%EA, 18h)	Periferia	64,93±0,97 b	1,68±0,36 b	10,73±0,39 b	10,86 ± 0,36 a	81,05 ± 2,05 b
	Central	63,01±0,97 a	5,99±0,54 a	7,67±0,28 a	9,75± 0,38 b	52,03 ± 2,81 a
4 (0,4%EA, 12h)	Periferia	65,48±0,69 b	1,53±0,26 b	10,91±0,39 b	11,02 ± 0,37 a	81,98 ± 1,50 b
	Central	62,71±0,68 a	5,87± 0,36 a	7,42 ± 0,32 c	9,47 ± 0,25 b	51,68 ± 2,50 a
5 (0,2%EA, 24h)	Periferia	65,81±0,66 b	2,17± 0,70 b	10,26 ± 0,72 b	10,52 ± 0,54 a	77,80 ± 4,74 b
	Central	64,02±0,74 a	5,54±0,56 a	7,45 ± 0,38 a	9,30 ± 0,55 b	53,43 ± 2,37 a
6 (0,4%EA, 24h)	Periferia	65,67± 0,61 b	1,50±0,25 b	10,84 ± 0,29 b	10,95 ± 0,26 a	82,08 ± 1,48 b
	Central	63,42±0,92 a	6,08±0,20 a	7,47 ± 0,37 a	9,64 ± 0,3 b	50,82 ± 1,71 a

Los valores seguidos por diferente letra (a –c) dentro de la misma columna son estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$) de acuerdo con el test de Dunnett

La Luminosidad (L*) es considerada como el principal parámetro que determina el color de los productos cárnicos (García-Esteban y col., 2003) y es el principal indicador de la intensidad visual del color rosado (Brewer y col., 2001). La estabilidad del color es muy importante en los productos cocidos curados y una decoloración de los pigmentos podría generar sustanciales pérdidas económicas en los supermercados o en otros segmentos de la industria. Se debe tener en cuenta que durante el almacenamiento de los productos cárnicos, el color rosa - rojizo puede tener cambios hacia un color grisáceo.

Los valores de luminosidad (L^*) aumentaron en la zona exterior para los tratamientos 2, 3, 4, 5 y 6 respecto al Control. No existió una diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos en los cuales se utilizó el EA para la coordenada (L^*) en la zona exterioró periferia ($p>0,05$).

Al analizar dichos tratamientos respecto al Control, se encontró que existió una diferencia estadísticamente significativa ($p\leq 0,05$), dando como resultado un producto más luminoso en la zona exterior. Para esta misma coordenada, en la zona centro no hubo diferencia estadísticamente significativa ($p>0,05$) entre ninguno de los tratamientos.

De acuerdo con Sammel y Claus (2003), los valores de L^* incrementan significativamente con el incremento de la temperatura final durante el tratamiento térmico, y con largos períodos de almacenamiento el color también se hace más claro debido a que las proteínas desnaturalizadas del músculo, dispersan más la luz. Valous y col., (2009) reportaron un valor medio de L^* en superficies de jamón cocido de $69,0 \pm 4,4$, mientras que los valores encontrados en este estudio fueron menores.

La coordenada de color a^* es la medida más sensible de los parámetros de color, ya que caracteriza el color rojo y la estabilidad del color curado (García-Esteban y col., 2003). Dvorak y col.(2001), concluyeron que el valor a^* fue el aspecto más importante del color en sus estudios, aunque sus coeficientes de correlación con los parámetros de calidad, tales como el pH y las pérdidas por cocción fueron muy bajos. Una sustancial apariencia en el color rojo – rosado de un jamón, puede sugerir el uso de colorantes artificiales, lo cual ha sido asociado con una baja aceptabilidad. Cabe recordar que en este estudio, no se utilizó ningún tipo de colorante. Se puede asumir que los consumidores prefieren productos con un color más luminoso y menos color rojo - rosado, es decir, un mayor valor de L^* y un menor valor de a^* (Pérez-Álvarez, 2006).

El parámetro a^* fue menor en todos los tratamientos en los cuales se utilizó EA, respecto al CTRL. Dichos tratamientos presentaron un mayor valor de la

componente verdes del color en la zona periférica ó exterior de la loncha del jamón. De acuerdo con Sammel y Claus (2003), valores más bajos en este parámetro indica, un menor color rosado. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) en el valor de a^* de la zona periférica entre los tratamientos 2 al 6 y el CTRL, pero estas diferencia no se presentaron para la zona central.

En cuanto a la coordenada amarillo-azul (b^*) hubo un aumento para los tratamientos 2 al 6 respecto al CTRL, aumentando la componente amarilla del color para la zona exterior y apreciándose una diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$). Para la zona central, solo los tratamientos pareados 1,2 y 1, 4 presentan diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) influenciadas por el factor tiempo de reposo.

En la zona central, se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) para Croma (C^*_{ab}), entre los tratamientos y el CTRL, en el cual el color es más saturado dado que los componentes grises del color disminuyen. Miltenburg y col.(1992), reportaron que C^*_{ab} es también relacionado con la cantidad de pigmentos, pero Pérez-Alvarez y Fernández-López (2000) mencionaron que la decoloración de los productos cárnicos cocidos significa la disminución del valor C^*_{ab} .

El tono (h°_{ab}) es el atributo de la percepción de color o tonalidad que denota el azul, el verde, el amarillo el morado, entre otros (Wyszecki y Styles., 1982), y está relacionado con el estado de los pigmentos (Pérez-Alvarez y Fernández-López, 2000). En la zona exterior, el parámetro matiz o tono (h°_{ab}), presenta diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) al comparar el CTRL con los otros tratamientos (2 al 6). Se presenta un menor valor de (h°_{ab}) para el CTRL (tonalidades hacia rojo), que en el resto de los tratamientos (tonos hacia el amarillo). Hacia la zona centro no se presentan diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre ninguno de los tratamientos (tonos hacia rojo).

5.1.4.3 Espectros de reflexión

Otra herramienta para evaluar las materias primas (Sánchez-Zapata y col., 2010), los procesos (Lyon y col., 2001; Prieto y col., 2009; González-Martin y col., 2009) y la vida útil (Pérez-Alvarez y col., 1997) de los productos cárnicos, es el uso de los espectros de reflexión (Infrarrojo y visible) (Cuttle y col., 2001; Sánchez-Zapata y col., 2009; Pérez-Alvarez y Fernández-López, 2009b). Los espectros de reflexión han sido utilizados para evaluar el efecto de las especias (Fernández-López y col., 2002), de los colorantes, de los antioxidantes y de algunos ingredientes (Aleson-Carbonell, 2005; Fernández-Ginés, 2005), en productos cárnicos. Con el uso de un espectrofotocolorímetro, los espectros de reflexión obtenidos muestran los porcentajes de reflexión para las longitudes de onda entre 400 nm y 700 nm donde la energía radiante es capaz de generar una sensación visual. En el espectro visible, es posible determinar los colores violeta, azul, verde, Amarillo, naranja y rojo, cada uno asociado a un rango de longitudes de onda.

Ripoll y col (2008), reportaron que la determinación los espectros de reflexión constituyen un método rápidos y no destructivo, y se pueden analizar en línea. Las mediciones de color usando los espectros (400-700 nm) pueden ser útiles para la industria cárnica para clasificar la carne (conocer sus orígenes) y los productos cárnicos dentro de diferentes grupos, y se pueden obtener ecuaciones utilizando técnicas estadísticas (Sánchez-Zapata y col., 2009).

Los espectros de reflexión generados para la zona central (Figura 5) no presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los tratamientos para todas las longitudes de onda.

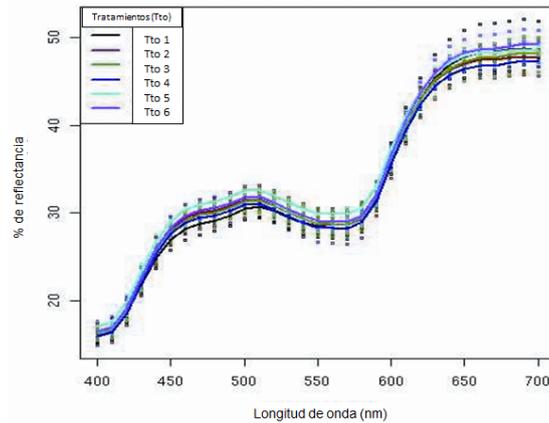


Figura 5. Espectros de reflexión para la zona central de las lonchas para un Jamón cocido tipo Medellín (JCM) con diferentes adiciones de extracto de apio (EA) y tiempos de reposo (Tto 1: 0% EA y 24 h (control); Tto 2: 0,2% EA y 12h; Tto 3: 0,3% EA y 18 h; Tto 4: 0,4% EA y 12 h; Tto 5: 0,2% EA y 24 h; Tto 6: 0,4% EA y 24 h).

El espectro de reflexión obtenido para la zona periférica de las lonchas de jamón (Figura 6) muestra diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre los tratamientos y el control, principalmente entre los 580-600 nm (amarillo) y los 650-700 nm (rojo). En cada longitud de onda, se realizó una comparación de medias de los valores de reflectancia de los tratamientos con respecto al Control, y de esta manera se estableció su significancia en cada longitud de onda. Esta es la razón principal por la cual en ciertos rangos se evidenció diferencia y en otros no.

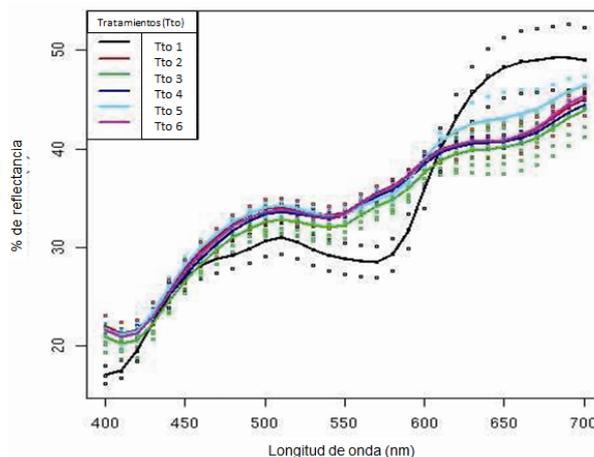


Figura 6. Espectros de reflexión de la zona periférica de las lonchas para un Jamón Cocido tipo Medellín (JCM) con diferentes adiciones de extracto de apio (EA) y tiempos de reposo (Tto 1: 0% EA y 24 h (control); Tto 2: 0,2% EA y 12h; Tto 3: 0,3% EA y 18 h; Tto 4: 0,4% EA y 12 h; Tto 5: 0,2% EA y 24 h; Tto 6: 0,4% EA y 24 h).

En el mismo análisis y excluyendo el CTRL (Figura 7), se puede apreciar que no existen diferencias significativas ($p > 0,05$), por lo que se puede afirmar que los tratamientos 2 al.6 difieren del CTRL en la zona periférica desde el punto de vista espectral. Las diferencias espectrales pueden reflejar un mayor desarrollo de nitrosilhemocromo en la zona central de los tratamientos 2 al 6, que en la zona periférica de los mismos, quizás debido al deterioro del cultivo iniciador en la superficie del jamón como resultado de la exposición a altas temperaturas durante el tratamiento térmico.

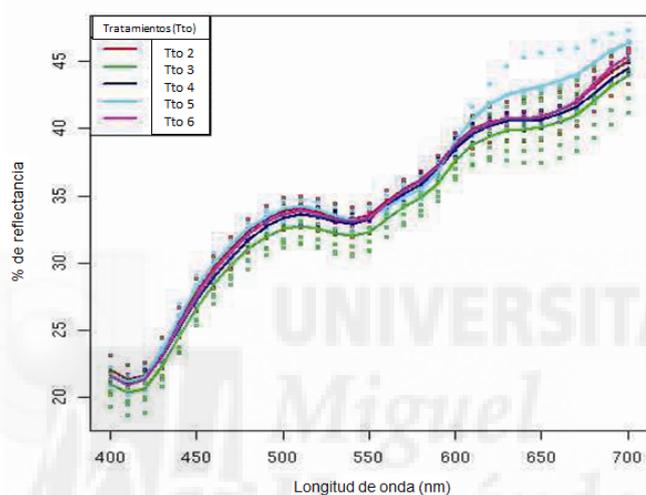


Figura 7. Espectros de reflexión de la zona periférica de las lonchas para un Jamón Cocido tipo Medellín (JCM) considerando solo las muestras con diferentes adiciones de extracto de apio (EA) y tiempos de reposo (Tto 2: 0,2% EA y 12h; Tto 3: 0,3% EA y 18 h; Tto 4: 0,4% EA y 12 h; Tto 5: 0,2% EA y 24 h; Tto 6: 0,4% EA y 24 h).

5.1.4.4 Análisis de nitrito residual

Las mediciones analíticas de nitritos fueron realizadas en la muestra homogénea y no en las diferentes zonas de color detectadas. No se realizaron mediciones de nitratos en este capítulo debido al carácter exploratorio del diseño. La Tabla 5 presenta los resultados analíticos para los niveles de nitrito residual hallados en los productos finales.

Tabla 5. Valores medios y sus respectivas desviaciones estándar para el nivel de nitrito residual en un Jamón cocido tipo Medellín (JCM)

<i>Tratamientos</i>	<i>% EA</i>	<i>Tiempo de reposo (h)</i>	<i>Nitritos (mg / Kg)</i>
1	0	24	136,52 ± 39a
2	0,2	12	12,78 ± 1,9b
3	0,3	18	10,33 ± 2,1b
4	0,4	12	12,62 ± 5,8b
5	0,2	24	11,10 ± 3,9b
6	0,4	24	12,06 ± 2,2b

Los valores seguidos por diferente letra (a –c) dentro de la misma columna son estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$) de acuerdo con el test de Dunnett.

Una concentración inicial de 40-50 ppm es considerada como suficiente para los efectos tecnológicos y microbiológicos buscados en la mayoría de los productos (USDA 1995). Cabe aclarar que el producto CTRL tuvo una adición de 350 mg / Kg de nitrito, debido a que históricamente se ha pensado en Zenú que el largo tiempo de reposo (24h), puede afectar la vida útil del jamón, y la solución es compensar con un mayor nivel de dicho aditivo. De acuerdo con Sebranek y Bacus (2007a) y Sebranek y Bacus (2007b), no es posible medir la cantidad de nitrito producido cuando se utilizan alternativas naturales como fuente de nitrato en la carne, debido a que los nitritos reaccionan rápidamente con sus componentes.

Para el proceso de elaboración propuesto, los resultados analíticos de nitrito residual señalan que entre los tratamientos 2, 3, 4, 5 y 6 no se presentan diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$). Los factores % EA y tiempo de reposo, no presentaron diferencias significativas ($p > 0,05$) sobre la concentración de nitrito residual para dichos tratamientos.

Al comparar el control con cada una de los tratamientos, se puede afirmar que existe una diferencia estadísticamente significativa en el nivel de nitritos residuales ($p \leq 0,05$). Se encontró una mayor cantidad de nitrito residual en el control que en los tratamientos donde se utilizó EA, ésta condición también ha sido descrita por Sindelar col (2007b) para Jamón cocido en el día 0. Las

anteriores pruebas estadísticas, tuvieron en cuenta que las comparaciones se hicieron con varianzas significativamente diferentes.

Los bajos niveles de nitrito residual encontrados en este estudio, cuando se utiliza EA, sugiere que nuevos estudios se deberían realizar para determinar el impacto de los proceso de producción en jamones colombianos sobre el desempeño del cultivo iniciador en la reducción de nitratos a nitritos.

El tipo y la concentración del cultivo iniciador utilizado en este estudio (*Staphylococcus carnosus*) fue el mismo usado por Sindelar y col (2007a) y Sindelar y col (2007b) en estudios para salchichas y jamones cocidos respectivamente. El nitrato adicionado a las carnes, es reducido a nitrito por la degradación que efectúan las bacterias nitrato reductoras (Martín, 2001), aunque la flora natural de la carne podría ocasionar el mismo efecto (Comi y col., 2000; Ozcan y Akbulut, 2008; Garcia-Varona col., 2000; Pinotti y col., 2001; Martin y col., 2007; Honikel 2008).

Los diferentes lotes de carne utilizados no tuvieron una diferencia estadísticamente significativa sobre el nitrito residual encontrado ($p > 0,05$).

5.1.4.5 Análisis de pH

No hubo diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$) en el pH de los seis tratamientos estudiados. El rango de pH para todos los tratamientos y sus réplicas estuvo entre 6,1 and 6,2. Estos valores están dentro del rango descrito por Sindelar y col. (2007b), para productos similares y para el mismo tipo de productos que se elaboran en Colombia. Los factores evaluados y los diferentes lotes de material cárnico no tuvieron efecto en este aspecto. (Tabla 6).

Tabla 6. Valores medios y sus respectivas desviaciones estándar de pH en muestras de Jamón cocido tipo Medellín (JCM) utilizando diferentes concentraciones de extracto de apio (EA)

<i>Tratamientos</i>	<i>pH</i>
1	6,13± 0,05a
2	6,17 ± 0,0 a
3	6,16 ± 0,05a
4	6,17 ± 0,05a
5	6,20 ± 0,0 a
6	6,17 ± 0,05a

Los valores seguidos por diferente letra (a –c) dentro de la misma columna son estadísticamente diferentes ($p \leq 0,05$) de acuerdo con el test de Dunnett.

La salmuera fue diseñada para que el pH no afectara las características de los productos finales. El pH de la salmuera fue de 6,95 en promedio (intervalo entre 6,89 y 7,00). De acuerdo con Sebranek y Bacus (2007a) y Sebranek y Bacus (2007b), un pH de salmueras por debajo de 5,5 no es deseables para este tipo de productos, debido a que puede afectar el óptimo desarrollo del curado natural y a la textura final del producto.

5.1.5 Conclusiones

El proceso de producción utilizado, produjo la aparición de dos zonas de color diferenciadas (una zona central y una zona periférica) en las lochas del JCM para todos los tratamientos elaborados con EA, evidenciado en las coordenadas L^* a^* y b^* y corroborado con los espectros de reflexión.

El contenido analítico de nitritos finales en el CTRL, es considerablemente mayor que en el resto de los tratamientos. Lo anterior podría estar influenciado por la baja capacidad de reducir los nitratos a nitritos del cultivo iniciador en las condiciones de proceso establecidas (reposo y/o proceso térmico).

En este estudio, los diferentes lotes de carne no presentaron afectaciones estadísticas en ninguna de las variables evaluadas.

Es necesaria la realización de nuevos estudios para determinar el impacto de los métodos de procesamiento en el desempeño del cultivo iniciador, y así dar claridad sobre la forma en que los nitrosopigmentos son obtenidos en toda la

superficie del jamón, y poder determinar la forma más adecuada de obtener un color uniforme y similar al control, cuando se utiliza EA como alternativa al empleo de nitritos.

Se sugiere el uso de cultivos iniciadores con mayor actividad metabólica a temperaturas de refrigeración, especialmente durante el tiempo de reposo.



5.2 Efecto del tratamiento térmico realizado a temperatura constante sobre el color, nitratos, nitritos residuales, pH y atributos sensoriales en un jamón cocido tipo Medellín, curado naturalmente.

5.2.1 Resumen

En esta parte del trabajo, se determinó la influencia del proceso térmico realizado a temperatura constante sobre en las características de color, nitritos y nitratos residuales, pH, y atributos sensoriales, de un Jamón cocido curado naturalmente, tipo Medellín. Se elaboró una fórmula control descrita en el apartado 4.1 y se comparó con una variación de dicha fórmula a la cual se le adicionó extracto de apio (EA) y un cultivo microbiológico nitrato reductor (*Staphylococcus carnosus*) con mayor actividad metabólica. La primera fórmula fue sometida a un procedimiento térmico típico a temperatura constante de 80°C (PCTRL) y la segunda fórmula, a tres procedimientos diferentes de temperatura del medio: PTC-75°C, PTC-80°C, PTC-85°C. Se encontró que la superficie del bloque de jamón elaborado con EA, presentó zonas decoloradas para todos los niveles de temperatura, siendo la zona periférica diferente significativamente al control para las coordenadas rojo-verde (a^*), amarillo-azul (b^*) y para el parámetro saturación C^*_{ab} . A nivel de textura no se detectó diferencia significativa en la dureza. El tratamiento PTC-75°C presentó una menor concentración de nitritos, acorde con las tendencias en reducción de dicho aditivo y presentó una mejor conversión de nitrato a nitrito. Se concluye que ningún tratamiento a temperatura constante, emula las características de un producto típicamente curado

5.2.2 Generalidades

Muchos productos cárnicos son elaborados mediante fermentaciones o desarrollos de microorganismo, que logran desarrollar sus características finales como consecuencia de su metabolismo. Los microorganismos que puedan afectar a la salud de los consumidores deben ser eliminados mediante los procesos de transformación, pero algunos microorganismos no patógenos son deseables en los productos para lograr las propiedades organolépticas. Este es el caso de los microorganismos con propiedades nitrato reductoras que fueron descubiertos hacia 1890 (Pegg y Shahidi, 2000) y los cuales reducen los

nitratos en nitritos para lograr las características deseables finales de los productos cárnicos curados. Dichos microorganismos, requieren de condiciones ambientales apropiadas (pH, T° entre otros), para generar su actividad metabólica.

Recientemente, las empresas dedicadas a la producción de cultivos iniciadores, han desarrollado cepas de cultivos menos propensas al desgaste metabólico por las condiciones ambientales, especialmente por la temperatura. Es así como la conversión de nitrato a nitrito, podría generarse en la etapa de reposo refrigerado de los jamones cocidos y poder obtener las características fisicoquímicas y sensoriales deseables en los productos terminados (CHR Hansen, 2003).

Los procesos térmicos, modifican el estado de los microorganismos presentes en el producto y, por lo tanto, contribuyen a su inocuidad al ejercer un efecto letal sobre los patógenos. La selección de un determinado proceso térmico debe garantizar la calidad sensorial, la seguridad microbiológica y el uso racional de la energía. Para el control y la optimización de un proceso térmico las propiedades físicas del producto deben ser analizadas y evaluadas (Ayadi y col., 2009).

El objetivo de este trabajo fue determinar la influencia del proceso térmico realizado a temperatura constante, sobre un Jamón cocido tipo Medellín curado naturalmente y elaborado bajo condiciones colombianas con extracto de apio (EA) y un cultivo microbiológico, sobre las características de color, nitritos y nitratos residuales, pH, y atributos sensoriales.

5.2.3 Diseño experimental

Se usó como base, la fórmula control (PCTRL) descrita en el apartado 4.1 y se procesó de la misma forma que se describió en el apartado 4.2 del presente trabajo. En esta formulación, no se utilizó EA, ni cultivo iniciador, debido a que tenía adición directa de nitrito; el tiempo de reposo fue el estipulado en el

proceso productivo (0% EA y 24 h de tiempo de reposo). Para el presente diseño, lo anterior fue considerado como el procedimiento tradicional o PCTRL.

Se definió una fórmula alternativa, en la cual se eliminó el nitrito de sodio adicionado directamente, y en esta ocasión, se utilizó una cepa diferente a la utilizada en el apartado 5.1. El cultivo iniciador utilizado fue, *Staphylococcus carnosus* (CS 300) al 0,02% sobre el peso total de la fórmula y el EA (Vegetable Juice Powder Natural) al 0,2 %. No se utilizó el cultivo CS 299 lo cual es explicado en el siguiente párrafo. Tanto el EA como el cultivo fueron suministrados por CHR Hansen Colombia S.A. El tiempo de reposo no fue considerado como un factor, debido a la indicación del proveedor de tener un período de tiempo igual al control, para desarrollar las reacciones de nitrato reducción.

De acuerdo con los resultados descritos por Sindelar y col (2007b), con los resultados obtenidos en el apartado 5.1 del presente trabajo, y las recomendaciones del proveedor, se decidió utilizar la concentración de 0,2% de EA para minimizar el impacto en el costo del producto y en las características sensoriales. La modificación de la cepa (CS 299 por CS 300) respecto al estudio desarrollado en el apartado 5.1, fue debido a la posibilidad de generar la conversión de nitrato a nitrito durante el tiempo de reposo refrigerado. Lo anterior sirvió de hipótesis para desarrollar este estudio.

Una vez los productos fueron elaborados, los moldes de la fórmula control se llevaron a un tanque de cocción con agua a temperatura constante de 80°C (PCTRL). Los moldes de los tratamientos elaborados con la fórmula alternativa, fueron tratados a diferentes temperaturas constantes del medio de calentamiento 75°C, 80°C y 85°C, hasta haber logrado una temperatura interna de 72°C. La elaboración se hizo de acuerdo con lo descrito en el apartado 4.2. Lo anterior constituye 3 procedimientos de elaboración para la fórmula alternativa (PTC-75°C, PTC-80°C y PTC- 85°C)

El experimento tuvo un diseño factorial (procedimientos) de una vía con 4 niveles (PTC-75°C, PTC-80°C, PTC-85°C y PCTRL) y un bloque que corresponde a la zona de la loncha de jamón (Zona central - Zona periférica). El objetivo final del diseño fue comparar los tres procedimientos (PTC-75°C, PTC-80°C, PTC-85°C) que fueron elaborados con EA y cultivo CS 300, con el procedimiento control (PCTRL). El bloque se utilizó para las variables de color y pH, y no fue utilizado para las demás variables. Las comparaciones se realizaron mediante la prueba de Dunnett con un 95% de confianza con el objetivo de comparar cada uno de los procedimientos (PTC-75°C, PTC-80°C, PTC-85°C) con respecto al CTRL. Se verificaron los supuestos del modelo y en todos los casos se cumplió la igualdad de varianza y la normalidad de los residuales, excepto para el análisis de las variables nitratos y nitritos. Para éstos últimos, se utilizó la metodología de Box - Cox para hallar un intervalo de exponentes de transformación para estas variables. La transformación más adecuada fue logaritmo natural, por lo tanto, todas las pruebas de comparación de medias como Dunnett y las pruebas de igualdad de varianza se realizaron con la variable transformada. El Software para el procesamiento de la información fue R. (*R Foundation for Statistical Computing*, Viena, 2010)

Dado que los nitritos y los nitratos están relacionados con el color del producto final, y que los espectros de reflexión pueden explicar dicha característica, se pensó en una regresión que pudiera predecir la concentración de nitratos y nitritos a partir de los valores espectrales. Para realizar esta regresión no se pudo utilizar la regresión lineal usual (mínimos cuadrados), debido a que las múltiples variables explicativas (longitudes de onda) superan el número de corridas experimentales, por lo tanto, se utilizó la metodología *Partial Lineal Squares* (PLS). Básicamente, esta metodología consiste en resumir las variables explicativas mediante componentes principales y estas a su vez se utilizan como variables explicativas de la regresión (*R Foundation for Statistical Computing*, Viena, 2010, Package PLS). Todos los análisis se realizaron en el tiempo 0, es decir, inmediatamente el producto fue refrigerado y empacado.

5.2.4 Resultados

5.2.4.1 Análisis de color

Se encontró diferencia visual de color entre la zona periférica del producto y la zona central del mismo para los tratamientos en los cuales se adicionó EA. Dicha decoloración no es homogénea sobre toda la superficie, sino que se observan desvanecimientos del color curado en regiones ubicadas a lo largo del todo el bloque, como se aprecia en la Figura 8.



Figura 8. Comparación visual de los tratamientos (TC-85°C, TC-80°C, TC-75°C) con respecto al CTRL en la zona central y zona periférica.

Se realizaron mediciones de las coordenadas CIEL*a*b* y de los parámetros C*_{ab} y h^o_{ab} en las zonas mencionadas con el objetivo de cuantificar y determinar las diferencias específicas. En la Tabla 7 y en la Tabla 8 se presentan los valores promedios y el comparativo realizado mediante la prueba de Dunnett de cada tratamiento con respecto al CTRL para la zona central y la zona periférica respectivamente.

Tabla 7. Valores promedio y sus respectivas desviaciones estándar de las coordenadas de color CIEL*a*b* y los parámetros C*_{ab} y h^o_{ab} en la zona central.

Zona central	L*	a*	b*	C* _{ab}	h ^o _{ab}
PCTRL	67,69± 1,1	7,60± 0,46	11,67± 0,44	13,92± 0,51	56,93± 1,61
PTC-85°C	66,46± 1,43	7,13± 0,78	10,47± 0,47 *	12,68±0,63 *	55,79± 3,0
PTC- 80°C	67,02± 0,93	7,12± 0,79	10,88± 0,37	13,01± 0,66	56,88± 2,49
PTC- 75°C	66,81±0,88	7,84± 0,44	11,12± 0,57	13,61± 0,57	54,81± 1,89

Test de Dunnett con un nivel de confianza del 95%, El símbolo (*) en una columna indica diferencia estadísticamente significativa respecto a PCTRL ($p \leq 0,05$)

Tabla 8. Valores promedio y sus respectivas desviaciones de las coordenadas de color CIEL*a*b* y los parámetros C*_{ab} y h°_{ab} en la zona periférica.

Zona periférica	L*	a*	b*	C* _{ab}	h° _{ab}
PCTRL	65,24± 1,24	7,38± 0,39	11,60± 0,89	13,75± 0,74	57,53± 2,66
PTC-85°C	67,22± 0,84	5,03± 0,27 *	13,04± 0,78 *	13,98± 0,73	68,85± 1,59 *
PTC- 80°C	67,27± 1,47	5,14± 0,71 *	12,79± 0,71	13,81± 0,59	68,05± 3,35 *
PTC- 75°C	67,28± 1,01	6,10± 0,76	12,32± 1,06	13,78± 0,80	63,51± 4,32

Test de Dunnett con un nivel de confianza del 95%, El símbolo (*) en una columna indica diferencia estadísticamente significativa respecto a PCTRL (p ≤0,05)

Los valores de luminosidad (L*) no presentaron diferencia estadísticamente significativa (p>0,05) tanto en la zona central (Tabla 7), como en la zona periférica (Tabla 8) para los tratamientos PTC-75°C, PTC-80°C, PTC-85°C comparados con el PCTRL.

El parámetro a* presentó diferencia estadísticamente significativa en la zona periférica para los tratamientos PTC-75°C, PTC-80°C, PTC-85°C (Tabla 8). Dicha coordenada presenta un descenso de los valores respecto al PCTRL, evidenciando una decoloración por ganancia de la componente verde del color en dicha zona. A pesar de las diferencias encontradas, el tratamiento más cercano al PCTRL fue PTC-75°C y el más lejano fue el PTC-85°C. En la zona central no se presentó diferencias significativas (p > 0,05).

Para la coordenada b* tanto en la zona central (Tabla 7) como en la zona periférica (Tabla 8), se evidencia diferencia estadísticamente significativa (p≤0,05) para el PTC-85°C. De acuerdo con los resultados, se puede afirmar que en la zona periférica, dicho tratamiento tiene una mayor ganancia en componentes amarillos con respecto al PCTRL, probablemente a una interacción entre esta temperatura, el EA y el cultivo iniciador. De manera contraria, el mismo tratamiento tiene menor ganancia en componentes amarillos para la zona central respecto al PCTRL.

El parámetro Cromo o intensidad (C*_{ab}) no presentó diferencias estadísticamente significativas (P > 0,05) en la zona periférica (Tabla 8). Para la zona central, se evidencia diferencia significativa (p≤0,05) respecto al PCTRL en PTC-85°C presentando un descenso del valor C*_{ab} respecto al CTRL lo que

indica un menor nivel de saturación, o mayor componente gris del color. En la zona periférica (Tabla 8), el parámetro matiz o tono (h^{o}_{ab}), presentó diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0,05$) al comparar el PCTRL con los tratamientos PTC-80°C, PTC-85°C. Se observó un menor valor de (h^*) para el PCTRL (tonalidades hacia rojo), que en dichos tratamientos (tonos hacia amarillo). En la zona central (Tabla 7) no se presentan diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) de los tratamientos, respecto al PCTRL.

Los resultados de color indican que el efecto de los tratamientos térmicos a diferentes temperatura constantes del medio (PTC-75, PTC-80°C, PTC-85°C), afectan negativamente las coordenadas de color (uso de EA y cultivo microbiológico), especialmente en la zona periférica. Partiendo de la anterior afirmación, también se puede evidenciar una mayor variación en las coordenadas, especialmente a^* y b^* , y en el tono (h^{o}_{ab}), a medida que aumenta la temperatura del medio. De acuerdo a los datos obtenidos, a menor temperatura del medio, el impacto en el desarrollo del cultivo microbiológico es menor y, por consiguiente, se ve favorecida la producción de los compuestos químicos que generan el color curado de los productos cárnicos. Tanto el PTC-80°C y PTC-85°C son más afectados en cuanto a las coordenadas de color, por el efecto de la temperatura respecto al PTC-75°C, respecto al PCTRL. La temperatura óptima de desarrollo del *Staphylococcus carnosus* es de 30°C (CHR Hansen, 2003).

5.2.4.2 Espectros de color:

Para realizar el análisis de los resultados espectrales de cada uno de los tratamientos, se procedió a realizar pruebas ANOVA en cada una de las longitudes de onda evaluadas y se determinó si existían diferencias de los tratamientos con respecto al PCTRL. Los espectros de reflexión se pueden observar en la Figura 9. Según Gallego y col. (2010), los espectros de reflexión permiten verificar los cambios en las ultraestructuras del alimento y en los pigmentos, causados por los procesos tecnológicos aplicados.

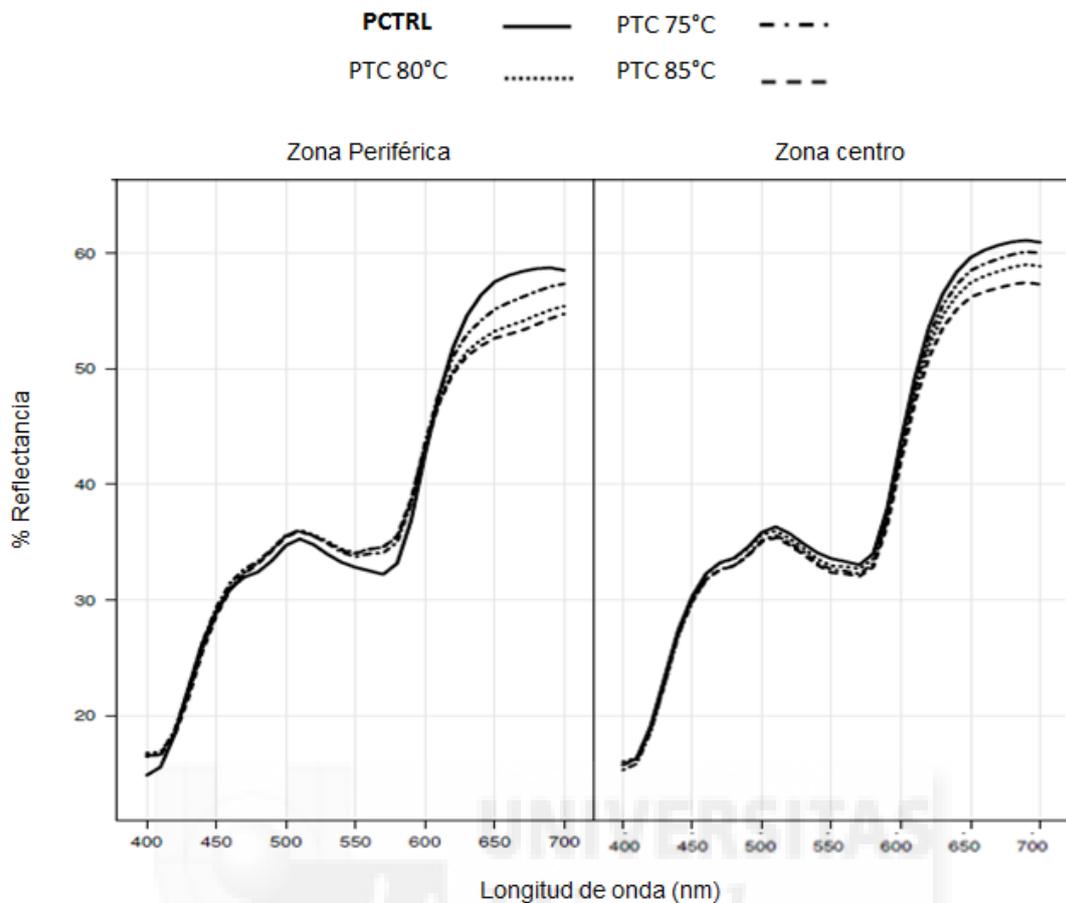


Figura 9. Espectros de Reflexión de cada tratamiento (PTC-85°C, PTC-80°C, PTC-75°C y PCTRL) en la zona central y zona periférica.

Los resultados de cada comparación se resumieron en un valor p para cada longitud de onda, que representa el rechazo o no rechazo de la hipótesis de igualdad de medias, y por lo tanto se puede graficar cada valor p para cada longitud de onda (Figura 10). En esta gráfica, se colocó el nivel de significancia $\alpha = 0,05$ para establecer los valores en donde se rechaza o no la hipótesis de igualdad de medias. Así, cualquier valor p que esté por encima del valor α no representa diferencia significativa. Por el contrario, cualquier valor p por debajo del nivel de significancia $\alpha = 0,05$, si presenta diferencia significativa.

Según los resultados obtenidos (Figura 10), se evidencia que en la zona central para el PTC-75°C existe poca variabilidad del valor p, a diferencia de los tratamientos PTC-80°C y PTC-85°C los cuales presentan un descenso a partir de las longitudes de onda 600nm y 450 nm respectivamente. Para PTC-85°C

se encontró diferencia estadísticamente significativa en la región de las tonalidades anaranjadas y rojizas (> 600 nm). Los datos espectrales, evidencian que al aumentar la temperatura del medio, la zona central se ve afectada en las longitudes de onda que caracterizan las tonalidades de los productos curados (anaranjadas y rojizas).

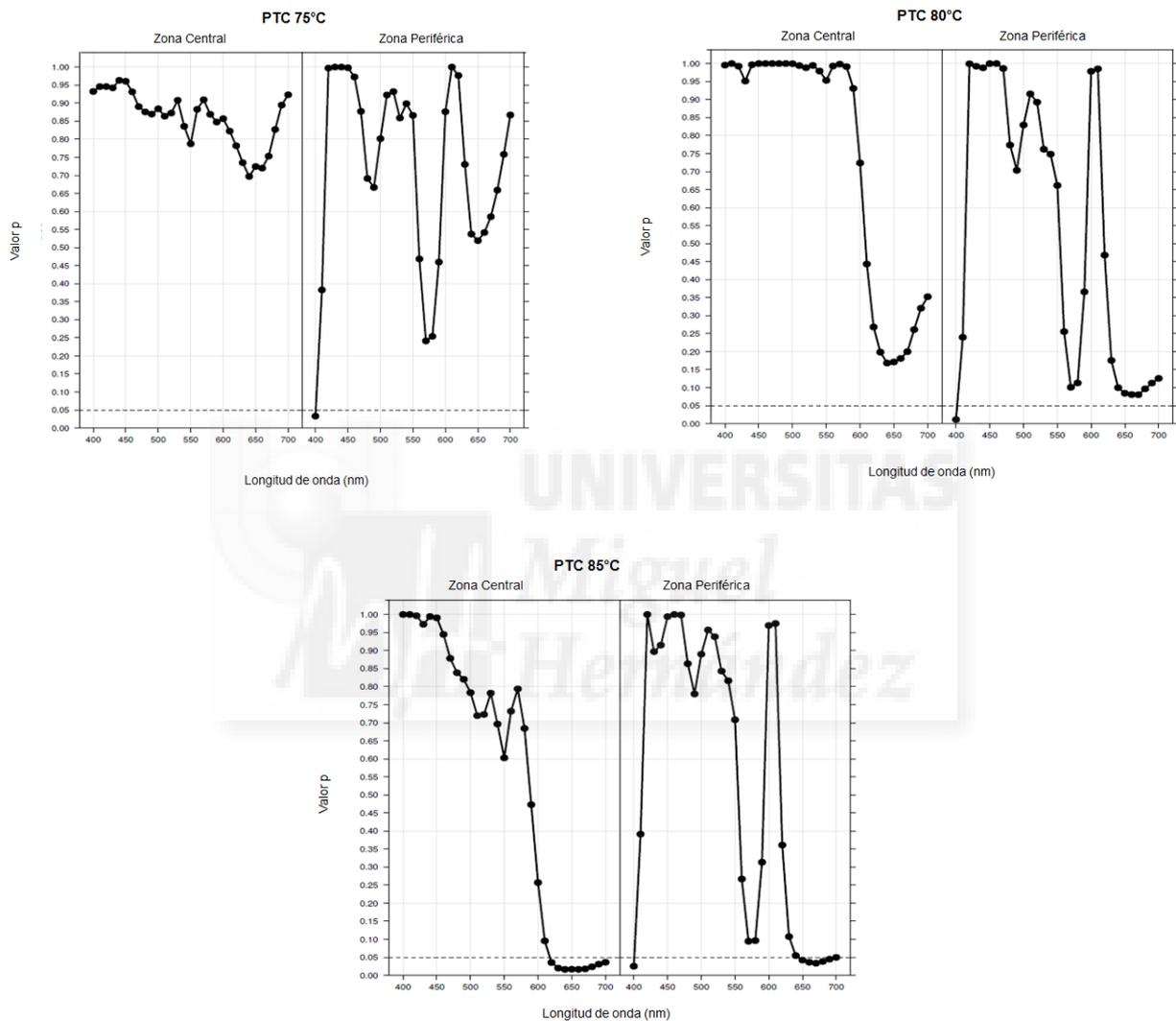


Figura 10. Valor p de la ANOVA de igualdad de medias, con un nivel de referencia $\alpha = 0,05$ (PTC-85°C, PTC-80°C, PTC-75°C respecto al PCTRL) en la zona central y zona periférica.

En la zona periférica (Figura 10) los tres tratamientos tienen por lo menos un punto por debajo del valor p ($\alpha = 0,05$) en la región del violeta ($\lambda = 400$ nm), lo

cual no impacta la percepción visual del color de los productos cocidos y curados. Los tres tratamientos presentan variabilidad en el valor p ($\alpha=0,05$). De igual manera, los datos espectrales, evidencian que al aumentar la temperatura del medio, la zona periférica se ve afectada en las longitudes de onda que caracterizan las tonalidades de los productos curados (anaranjadas y rojizas). Dicho efecto es detectado especialmente en el PTC-85°C, el cual es diferente estadísticamente al PCTRL en dichas longitudes de onda, tal y como se puede observar en la zona central.

Desde el punto de vista espectral (Figura 9 y 10), el PTC-85°C muestra mayores diferencias que los otros tratamientos evaluados respecto al PCTRL. La relación entre las longitudes de onda 650/570 es particularmente sensible a la intensidad del desarrollo del color curado (AMSA.,1991; AMSA 2012). En dicha relación se permite evaluar el grado de curado y de decoloración del producto y su principal ventaja es que además de estar estrechamente correlacionado con la apreciación visual, minimiza el efecto debido a la concentración de pigmentos (Gallego y col., 2010). En la zona periférica, PTC-75°C tiene una relación de 1,63 descrito como moderadamente decolorado, mientras que PTC-80°C y PTC-85°C tienen una relación de 1,54 y 1,52 respectivamente, ambos valores descritos entre moderadamente decolorado y sin color curado. EL PCTRL tiene un valor de 1,79, descrito como notable color curado. En la zona central los valores promedio para cada tratamiento, estuvo por encima de 1,75 como se puede observar en la tabla 9 (AMSA., 1991; AMSA 2012).

Tabla 9. Relación entre las longitudes de onda 650/570 para el PCTRL y para cada tratamiento (PTC-85°C, PTC-80°C, PTC-75°C): Valores promedio y Errores cuadrados medios.

	Zona Periférica (Relación 650/570)	Zona Central (Relación 650/570)
CONTROL	1,79 ± 0,010	1,81 ± 0,011
PTC-85°C	1,52 ± 0,005	1,75 ± 0,017
PTC-80°C	1,54 ± 0,013	1,76 ± 0,016
PTC-75°C	1,63 ± 0,017	1,81 ± 0,009

5.2.4.3 Nitratos y Nitritos residuales

Se cuantificó la concentración de nitratos, dando un valor de 27.169 mg/Kg para el EA; 336.0 mg/Kg para la carragenina y 46.6 mg/Kg para la mezcla de especias y condimentos. No se detectó presencia de nitritos en dichas materias primas. El contenido de nitratos encontrado en el EA fue similar al reportado por Sindelar y col.(2007b), cuyo valor fue de 27.462 mg / Kg.

Basados en la Tabla 10 se puede identificar que existe diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$) para el tratamiento PTC-75°C respecto al PCTRL tanto para nitratos como para nitritos. Para el mismo tratamiento, se observa un nivel promedio de nitrito residual menor al PCTRL y a los otros dos tratamientos (PTC-80°C, PTC-85°C), lo cual es deseable debido a la tendencia en reducción de aditivos en alimentos (Weiss y col., 2010). Se observa también que la relación existente entre la concentración nitrito/nitrato es mayor en el PTC-75°C que en los otros tratamientos, lo que puede sugerir una mayor conversión de nitrato a nitrito, posiblemente influenciada por efecto de una menor temperatura sobre el mecanismo de reacción del cultivo y un mayor tiempo de proceso. Al tener una temperatura del medio menor que el resto de tratamientos (75°C), requiere de mayor tiempo para lograr la temperatura interna de 72°C del jamón.

Tabla 10. Valores promedio y sus respectivas desviaciones estándar de las concentraciones de Nitratos y nitritos y relación Nitrito/Nitrato con sus errores cuadrados medios

	Nitratos (mg / Kg)	Nitritos (mg / Kg)	Relación Nitrito / Nitrato
CONTROL	96,16 ± 14,64	148,47 ± 42,29	1,55 ± 0,26
PTC-85°C	103,73 ± 33,07	88,63 ± 10,85	0,93 ± 0,22
PTC-80°C	110,50 ± 58,79	122,77 ± 31,84	1,38 ± 0,46
PTC-75°C	18,57 ± 4,45 *	59,33 ± 19,72 *	3,37 ± 0,89

Test de Dunnett con un nivel de confianza del 95%, El símbolo (*) en una columna indica diferencia estadísticamente significativa respecto a PCTRL ($p \leq 0,05$)

Las comparaciones estadísticas que se realizaron utilizaron la transformación logarítmica, eso implica que las comparaciones en las concentraciones en valores absolutos no se realizaron con la diferencia respecto al PCTRL, sino con la variación proporcional de cada una de ellas con respecto al PCTRL. De acuerdo con el concepto anterior, la prueba de Dunnett no detectó diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) para el PTC-80°C y PTC-85°C. La diferencia encontrada en los valores de nitritos en el tratamiento de PTC-75 respecto a PTC-80°C y PTC-85°C podría ser explicada por el aumento en el tiempo de proceso térmico (30-40 min adicionales), necesario para lograr la temperatura interna requerida en el producto y a una condición térmica menos adversa para el desarrollo del cultivo microbiológico. Los agentes de curación como el nitrato y el nitrito, reaccionan debido a la fácil variación que tiene el nitrógeno para cambiar su estado de oxidación en muchos derivados con los componentes de la carne (Honikel, 2008).

Los valores de nitratos y nitritos encontrados en el presente trabajo, fueron mayores a los reportados por Sindelar y col (2007a) y Sindelar y col (2007b), posiblemente explicados por las diferentes formulaciones, materias primas y procesos utilizados.

Se encontró un promedio 96 mg / Kg de nitrato en el PCTRL. De acuerdo con Honikel (2008) la oxidación de nitrito a nitrato puede explicar por qué en productos cárnicos en donde solo se adicionó nitritos, se encontraron cantidades considerables de nitratos. Esta condición también ha sido descrita por Sindelar y col. (2007b) para un Jamón cocido en el día cero. Pérez-Rodríguez y col.(1996) reportaron que un 10% a un 15% del nitrito adicionado en productos tipo Frankfurters, se transformó en nitrato (nitrato residual).

En todos los tratamientos se cumple con las cantidades de nitrito mínimas demostradas para la formación de color y para la seguridad microbiológica del producto (USDA, 1995; Jafari y Emam-Djomeh, 2007).

5.2.4.4 Modelo predictivo de nitratos y nitritos usando los espectros

El modelo PLS muestra que los espectros tomados en la zona periférica, predicen mejor las concentraciones de nitratos y nitritos (Figura 11). Dado que solo se tomaron concentraciones de nitratos y nitritos sin considerar zonas, es necesario entonces plantear una hipótesis para este comportamiento.

Una hipótesis plausible es que los espectros tomados en la zona periférica son más sensibles a los cambios, debido a los procesos térmicos a los cuales fueron sometidos los diferentes tratamientos, por lo tanto, es en esta zona donde se hallan diferencias significativas con respecto al CTRL. Se podría inferir que los contenidos de nitratos y nitritos pueden sufrir mayores variaciones en esta zona, por lo cual el modelo puede dar una mejor predicción de las concentraciones de nitratos y nitritos usando los espectros tomados en la zona periferia (Figura 11). Sin embargo, la predicción para los nitratos en esta zona es mejor que la de los nitritos. En futuros estudios se puede plantear la posibilidad de predecir las concentraciones de nitratos y nitritos en las diferentes zonas utilizando los espectros de la periferia del producto.

De acuerdo con el análisis estadístico, el porcentaje de explicación de la componente principal uno es de 86.8% y la componente dos es del 10.9%, con lo cual se explica la casi totalidad del fenómeno. La componente principal es una combinación lineal de las variables explicativas (longitudes de onda), y en particular, tiene el mayor grado de relación con las variables de respuesta (concentración de nitratos y nitritos). La componente dos, le sigue en orden de explicación y es estadísticamente independiente de la componente 1. Es por esto, que con la componente principal 1 y 2 se explica la casi totalidad del fenómeno.

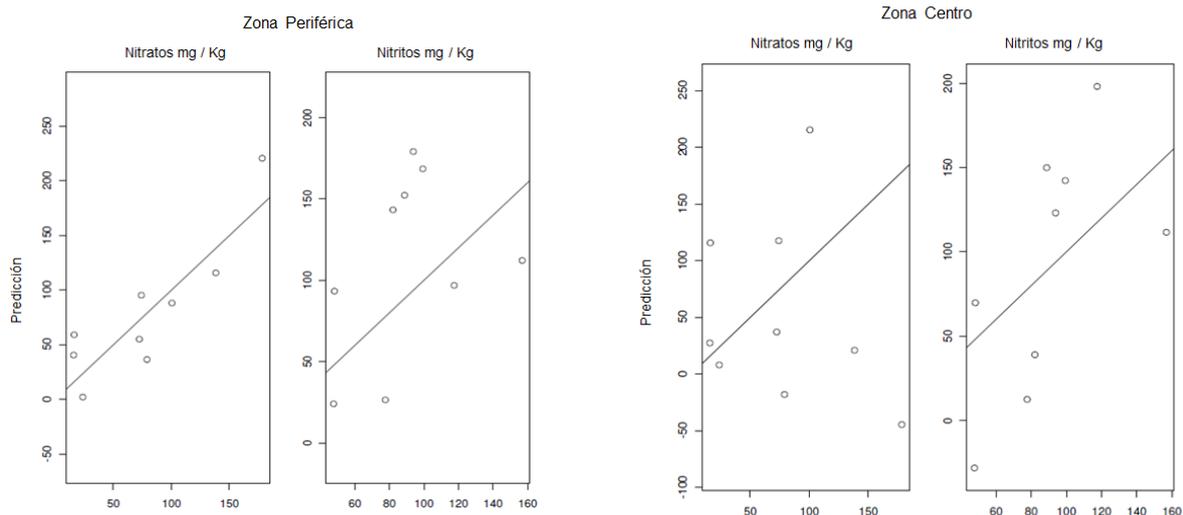


Figura 11. Modelo predictivo de las concentraciones de nitratos y nitritos a partir de los espectros de reflexión tomados en la zona periférica y en la zona central.

5.2.4.5 pH

Los resultados de las mediciones de pH en la zona periférica demuestran que los tratamientos PTC-80°C y PTC-85°C no presentan diferencias con respecto al PCTRL, mientras que el tratamiento PTC-75°C si es diferente significativamente ($p \leq 0,05$). En la zona central todos los tratamientos (PTC-75°C, PTC-80°C, PTC-85°C) presentan diferencias ($p \leq 0,05$) en relación al PCTRL (Tabla 11). El tratamiento estadístico definido no permitió evidenciar diferencias entre los tratamientos diferentes al PCTRL. Aunque existan diferencias entre los tratamientos, el rango de pH para todos ellos se encuentra en el ideal para la producción de jamones cocidos.

Tabla 11. Valores promedio con sus respectivas desviaciones estándar de los valores de pH para cada tratamiento (TC-75°C, TC-80°C, TC-85°C) comparados con el PCTRL.

	pH (zona periférica)	pH (Zona centro)
PCTRL	6,09 ± 0,03	6,10 ± 0,04
PTC-85°C	6,16 ± 0,08	6,18 ± 0,09 *
PTC-80°C	6,04 ± 0,05	6,00 ± 0,01 *
PTC-75°C	6,24 ± 0,15 *	6,19 ± 0,03 *

Test de Dunnett con un nivel de confianza del 95%, El símbolo (*) en una columna indica diferencia estadísticamente significativa respecto a PCTRL ($p \leq 0,05$)

5.2.4.6 Dureza

De acuerdo con la prueba de Dunnett no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) para la variable Dureza en ninguno de los tratamientos comparados con el PCTRL (Tabla 12). La dureza es la principal variable de la textura para Industria de Alimentos Zenú en la elaboración de jamones cocidos.

Tabla 12. Valores promedio y sus respectivas desviaciones estándar del perfil de textura de los tratamientos (PTC-75°C, PTC-80°C, PTC-85°C) comparados con el PCTRL.

	<i>Dureza (g – F)</i>
PCTRL	164,57 ± 12,36
PTC-85°C	163,52 ± 11,28
PTC- 80°C	146,71 ± 12,00
PTC- 75°C	154,76 ± 16,16

Test de Dunnett con un nivel de confianza del 95%, El símbolo (*) en una columna indica diferencia estadísticamente significativa respecto a PCTRL ($p \leq 0,05$)

5.2.4.7 Análisis químico

En este análisis se midieron las variables de proteína, grasa y humedad, y en ninguna de ellas se encontraron diferencias estadísticamente significativas respecto al PCTRL (Tabla 13). Los procesos térmicos propuestos no afectaron las características químicas evaluadas.

Tabla 13. Valores promedio y sus respectivas desviaciones estándar del análisis químico de los tratamientos (PTC-75°C, PTC-80°C, PTC-85°C) comparados con el CTRL.

	<i>Proteína (%)</i>	<i>Grasa (%)</i>	<i>Humedad (%)</i>
PCTRL	15,61± 0,20	1,56± 0,15	70,78± 0,41
PTC-85°C	15,85±0,29	1,53±0,26	70,29±0,47
PTC- 80°C	15,46±0,13	1,97±0,29	70,57±0,55
PTC- 75°C	15,80± 0,19	1,88± 0,14	69,92± 0,90

Test de Dunnett con un nivel de confianza del 95%, El símbolo (*) en una columna indica diferencia estadísticamente significativa respecto a PCTRL ($p \leq 0,05$)

5.2.4.8 Análisis microbiológico

Todos los tratamientos cumplieron con los requisitos microbiológicos exigidos por la norma colombiana NTC 1325, 2008 y son aptos para el consumo humano al momento de la evaluación. Los resultados se presentan en la Tabla 14.

Tabla 14. Resultados de los Análisis microbiológico para Mesófilos aerobios, bacterias ácido lácticas (BAL), coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF), *Staphylococcus aureus*, Esporas de *Clostridium sulfitorreductor*(EC), *Salmonella Sp* y *Listeria monocytogenes* realizados a las lonchas de Jamón, sometida a (PTC-75°C, PTC-80°C, PTC-85°C) y al CTRL. (UFC/ g)

	Mesófilos	BAL	CT	CF	S. aureus	E.C	Salmonella. Sp.	L. monocytogenes
PCTRL	≤100	10	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
PTC-85°C	≤100	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
PTC-80°C	≤100	10	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
PTC-75°C	≤100	10	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia

5.2.4.9 Análisis Sensorial – Prueba triangular

Los resultados de la evaluación de los atributos sensoriales mediante la prueba triángula, arrojaron que al comparar PTC-75°C, PTC-80°C y PTC-85°C, respecto al PCTRL, solo el PTC-80°C no tuvo diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$). Para PTC-75°C y PTC-85°C los panelistas encontraron diferencias respecto al PCTRL. Es posible que para PTC-80°C no se detectaran diferencias, debido a que es la misma temperatura de cocción utilizada para PCTRL. Los resultados se pueden observar en la Tabla 15.

Tabla 15. Prueba triangular para detectar diferencias respecto al PCTRL

	Jueces	Repeticiones	Diferente	No diferente	Observaciones
PTC - 85°C	7	3	12	9	Existen diferencias significativas respecto al PCTRL
PTC - 80°C	7	3	10	11	No hay diferencias significativas respecto al PCTRL
PTC - 75°C	7	3	17	4	Existen diferencias significativas respecto al PCTRL

5.2.5 Conclusiones

Para todos los tratamientos existe una diferencia instrumental de color en la zona periférica y central de los productos. El efecto de los tratamientos térmicos a temperatura constante del medio, afectan negativamente a las coordenadas de color para los tratamientos elaborados con la fórmula alternativa (uso de EA y cultivo microbiológico), especialmente en la zona periférica, haciéndolos diferentes significativamente al PCTRL en dicha zona.

A menor temperatura del medio de cocción, menor deterioro en las coordenadas de color en la zona periférica respecto al PCTRL, especialmente a^* , b^* y h° para los tratamientos en los cuales se usó EA, posiblemente asociado a un mejor desarrollo del cultivo.

A nivel sensorial PTC-75°C y PTC-85°C se descartan debido a las diferencias encontradas por los panelistas, por lo que las diferencias podrían deberse a la temperatura, más que a la sustitución de nitrito.

La concentración de nitritos para PTC-75°C presenta un nivel de reducción importante respecto a los otros tratamientos, incluso para el PCTRL, lo cual va en la misma dirección de las tendencias actuales de reducción de nitritos. Adicionalmente se presenta una mejor conversión de nitrato a nitrito lo que debe ser tenido en cuenta para futuras investigaciones asociadas con el diseño de procesos térmicos para productos curados naturalmente.

Es posible inferir que los espectros de reflexión pueden ayudar a predecir las concentraciones de nitratos y nitritos finales. Se recomienda estudios posteriores relacionados con el tema.

El cultivo iniciador, aunque presenta un mejor desempeño que el utilizado en el estudio del numeral 5.1, y que se evidencia en la mayor generación de nitrito residual, no alcanza a desarrollar las características sensoriales del producto final, posiblemente asociado a las condiciones del medio de calentamiento..

Aunque a nivel sensorial, el PTC-80°C no presentó diferencia respecto al PCTRL, al tener en cuenta el análisis de todas las variables, ningún proceso térmico propuesto en el presente trabajo (PTC-75°C, PTC-80°C, PTC-85°C) es comparable con el PCTRL. Se sugiere la evaluación de procesos térmicos a temperatura escalonada con el fin de favorecer el desarrollo del cultivo microbiológico y lograr características similares a un producto típicamente curado.



5.3 Efecto del proceso térmico realizado a temperatura escalonada sobre el color, nitratos, nitritos residuales, pH y atributos sensoriales en un Jamón Cocido Tipo Medellín, curado naturalmente.

5.3.1 Resumen

En este trabajo, se determinó la influencia del proceso térmico realizado a temperatura escalonada del medio y su efecto en las características de color, nitritos y nitratos residuales, pH, y atributos sensoriales, sobre un Jamón cocido curado naturalmente. Se elaboró una fórmula control y se comparó con una variación de dicha fórmula a la cual se le adicionó extracto de apio (EA) y un cultivo microbiológico nitrato reductor (*Staphylococcus carnosus*) con mayor actividad metabólica. La primera fórmula fue sometida a un procedimiento térmico típico a temperatura constante de 80°C (PCTRL) y la segunda fórmula a tres procedimientos diferentes de temperatura escalonada del medio, finalizando en el paso PTE-75°C, PTE-80°C y PTE-85°C. Se encontró que todos los tratamientos son comparables con el PCTRL y aunque se evidencian algunas diferencias estadísticamente significativas, no comprometen la calidad microbiológica y sensorial de dichos tratamientos. Los resultados espectrales en la zona periférica, sugieren que es posible predecir el contenido de nitratos en productos curados naturalmente, pero se requiere estudios posteriores en el tema. El PTE-75°C se selecciona como mejor alternativa teniendo en cuenta integralmente la totalidad de los resultados, especialmente en coordenadas de color, espectros de reflexión, contenido de nitratos y dureza.

5.3.2 Generalidades

El adecuado diseño de los procesos de elaboración, definen las características de los productos cárnicos. En forma particular, los procesos térmicos modifican el estado de los microorganismos presentes en el producto y, por lo tanto, contribuyen a su inocuidad al ejercer un efecto letal sobre los patógenos. La selección de un proceso térmico debe garantizar la calidad sensorial, la seguridad microbiológica y el uso racional de la energía. Para el control y la optimización de un proceso térmico, las propiedades físicas del producto deben ser analizadas y evaluadas (Ayadiy col.,2009). Dependiendo de la optimización de los parámetro del proceso, la habilidad de las bacterias para generar NO

podría formar la base para producción de productos cárnicos sin el uso de nitratos / nitritos (Jensy col., 2003).

El objetivo de este trabajo fue determinar la influencia del proceso térmico realizado a temperatura escalonada del medio, sobre un Jamón Cocido Tipo Medellín, curado naturalmente y elaborado bajo condiciones colombianas con extracto de apio (EA) y un cultivo microbiológico, sobre las características de color, nitritos y nitratos residuales, pH, y atributos sensoriales.

5.3.3 Diseño experimental

Se usó como base, la fórmula control (PCTRL) descrita en el apartado 4.1 y se procesó de la misma forma que se describió en el apartado 4.2 del presente trabajo. En esta formulación, no se utilizó EA, ni cultivo iniciador debido a que tenía adición directa de nitrito; el tiempo de reposo fue el estipulado en el proceso productivo (0% EA y 24 h de tiempo de reposo). Para el presente diseño, lo anterior fue considerado como el procedimiento tradicional o PCTRL.

Se definió una fórmula alternativa para elaborar los tratamientos del diseño experimental en la cual se eliminó el nitrito de sodio adicionado directamente, y en esta ocasión, se utilizó una cepa diferente a la utilizada en el apartado 5.1. El cultivo iniciador utilizado fue *Staphylococcus carnosus* (CS 300) al 0.02% sobre el peso total de la fórmula y el EA (Vegetable Juice Powder Natural) al 0.2 %. Al igual que en el capítulo 5.2, no se utilizó el cultivo CS 299. Tanto el cultivo iniciador, como el EA, fueron suministrados por CHR Hansen Colombia S.A. El tiempo de reposo no fue considerado como un factor, debido a la indicación del proveedor de tener un período de tiempo igual al control, para desarrollar las reacciones de nitrato reducción.

Se definió nuevamente utilizar la concentración de 0.2% de EA, dados los resultados de nitritos residuales y análisis sensoriales reportados en el capítulo 5.2. La dosificación del cultivo fue sugerida por el proveedor, y la modificación de la cepa respecto al estudio desarrollado en el numeral 5.1, fue debido a la posibilidad de generar la conversión de nitrato a nitrito durante el tiempo de reposo refrigerado. Lo anterior sirvió de hipótesis para desarrollar este estudio.

Una vez los productos fueron elaborados, los moldes de la fórmula control se llevaron a un tanque de cocción con agua a temperatura constante de 80°C (PCTRL) y los moldes de los tratamientos elaborados con la fórmula alternativa, fueron tratados a diferentes temperaturas escalonadas del medio en las etapas iniciales, finalizando a 75°C, 80°C y 85°C (Figura 12). Los procedimientos de elaboración se hicieron de acuerdo con lo descrito en el numeral 4.2. Lo anterior constituye 3 procedimientos de elaboración para la fórmula alternativa (PTE-75°C, PTE-80°C y PTE- 85°C). El producto control fue el mismo que se utilizó para el estudio del numeral 5.2.

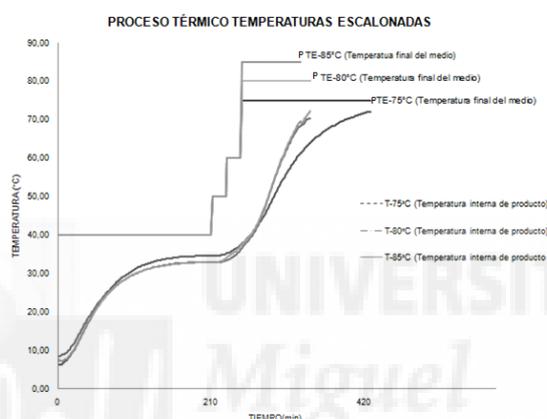


Figura 12. Proceso térmico a temperatura escalonada para cada tratamiento.

El experimento tuvo un diseño factorial (procedimiento) de una vía con 4 niveles (PTE-75°C, PTE-80°C, PTE-85°C y PCTRL) y un bloque que corresponde a la zona del producto (Zona central y Zona periférica). El objetivo final del diseño fue comparar los tres procedimientos (PTE-75°C, PTE-80°C, PTE-85°C) que fueron elaborados con EA y cultivo CS 300, con el procedimiento control (PCTRL). El bloque se utilizó para las variables de color y pH, y no fue utilizado para las demás variables. Lo anterior se realizó para detectar posibles zonas decoloradas en la superficie ocasionada por el desarrollo del cultivo nitrato reductor en función del tratamiento térmico. Las comparaciones se realizaron mediante la prueba de Dunnett con un 95% de confianza con el objetivo de comparar cada uno de los tratamientos (PTE-75°C, PTE-80°C, PTE-85°C) con respecto al PCTRL. Se verificaron los supuestos del modelo y en todos los casos se cumplió la igualdad de varianza y la normalidad

de los residuales, excepto para el análisis de las variables nitratos y nitritos. En éstos últimos, se utilizó la metodología de Box - Cox para hallar un intervalo de exponentes de transformación para estas variables. La transformación más adecuada fue logaritmo natural, por lo tanto, todas las pruebas de comparación de medias como Dunnett y las pruebas de igualdad de varianza se realizaron con la variable transformada. El Software para el procesamiento de la información fue R (R Foundation for Statistical Computing, Viena, 2010) .

Dado que los nitratos y los nitritos están relacionados con el color del producto final, y que los espectros de reflexión pueden explicar dicha característica, se pensó en una regresión que pudiera predecir la concentración de nitratos y nitritos a partir de los valores espectrales. Para realizar esta regresión no se pudo utilizar la regresión lineal usual (mínimos cuadrados), debido a que las múltiples variables explicativas (longitudes de onda) superan el número de corridas experimentales, por lo tanto, se utilizó la metodología *Partial Lineal Squares* (PLS).. Básicamente, esta metodología consiste en resumir las variables explicativas mediante componentes principales y éstas a su vez se utilizan como variables explicativas de la regresión (R Foundation for Statistical Computing, Viena, 2010, Package PLS). Todos los análisis se realizaron en el tiempo 0, es decir, inmediatamente el producto fue refrigerado y empacado.

5.3.4 Resultados

5.3.4.1 Análisis de color

No se encontraron diferencias visuales de color entre la zona periférica del producto y la zona central para los tratamientos en los cuales se adicionó EA. A nivel visual se observa una coloración homogénea sobre el exterior del producto y en la zona central (Figura 13).



Figura 13. Comparación visual de los tratamientos (PTE-85°C, PTE-80°C, PTE-75°C) con respecto al PCTRL en la zona central y zona periférica.

Se realizaron mediciones de las coordenadas CIEL*a*b* y de los parámetros C*_{ab} y h°_{ab} en las zonas mencionadas con el objetivo de determinar objetivamente algunas diferencias. En la Tabla 16 y en la Tabla 17 se presentan los valores promedios y el comparativo realizado mediante la prueba de Dunnet de cada tratamiento con respecto al PCTRL para cada una de las zonas mencionadas.

Tabla 16. Valores promedio y sus respectivas desviaciones estándar de las coordenadas de color CIEL*a*b* y los parámetros C*_{ab} y h°_{ab} en la zona periférica.

Zona Periférica	L*	a*	b*	C* _{ab}	h° _{ab}
PCTRL	65,24 ± 1,24	7,38 ± 0,39	11,60 ± 0,89	13,75 ± 0,74	57,53 ± 2,66
PTE-85°C	64,13 ± 0,79 *	6,96 ± 0,45	11,29 ± 0,78	13,27 ± 0,71	58,28 ± 2,35
PTE-80°C	65,44 ± 0,77	7,43 ± 0,83	10,92 ± 0,45	13,23 ± 0,50	55,84 ± 3,43
PTE-75°C	65,75 ± 1,33	7,84 ± 0,72	11,28 ± 0,65	13,76 ± 0,46	55,18 ± 3,54

Test de Dunnet con un nivel de confianza del 95%. El símbolo (*) en una columna indica diferencias significativas con respecto al CTRL. (p ≤ 0,05).

Tabla 17. Valores promedio y sus respectivas desviaciones estándar de las coordenadas de color CIEL*a*b* y los parámetros C*_{ab} y h°_{ab} en la zona central

Zona Central	L*	a*	b*	C* _{ab}	h° _{ab}
PCTRL	67,69 ± 1,1	7,60 ± 0,46	11,67 ± 0,44	13,92 ± 0,51	56,93 ± 1,61
PTE-85°C	65,62 ± 1,01	7,38 ± 0,60	10,74 ± 0,56	13,04 ± 0,57*	55,49 ± 2,58
PTE-80°C	66,57 ± 0,98	6,89 ± 0,55	9,92 ± 0,64*	12,09 ± 0,56 *	55,18 ± 2,97
PTE-75°C	66,16 ± 1,19	8,01 ± 0,52	10,84 ± 0,57	13,49 ± 0,48	53,52 ± 5,55

Test de Dunnet con un nivel de confianza del 95%. El símbolo (*) en una columna indica diferencias significativas con respecto al CTRL. (p ≤ 0,05).

Para los valores de luminosidad (L*) se presentó diferencia estadísticamente significativa (p ≤ 0,05) en la zona periférica (Tabla 16) para PTE-85°C, teniendo un valor promedio ligeramente inferior al PCTRL. PTE-85°C refleja menos luz que el PCTRL, posiblemente asociado a una reducción del agua libre sobre la superficie, lo cual provoca una disminución del valor de esta coordenada (Sánchez-Zapata y col., 2008).

El parámetro a* no presentó diferencia estadísticamente significativa ni en la zona periférica (Tabla 16), ni en la zona central (Tabla 17) para los tratamientos PTE-75°C, PTE-80°C y PTE-85°C, comparados con el PCTRL. Dicha

coordenada hace alusión a la componente roja de los productos cárnicos curados, por lo que se puede inferir que el nivel de hemopigmentos entre los tratamientos y el PCTRL es similar desde el punto de vista estadístico.

Para la coordenada b^* solo se presenta diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$) en la zona central (Tabla 17) para PTE-80°C, cuando es comparado con el PCTRL. El valor presentado es ligeramente inferior al PCTRL lo cual indica que tiene una menor cantidad de componentes amarillos.

El parámetro Croma o intensidad (C^*_{ab}) presenta diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$) en la zona central (Tabla 16) para PTE-80°C, PTE-85°C respecto al CTRL, lo que indica un mayor nivel de saturación o un componente gris del color.

El parámetro matiz o tono (h°_{ab}), no presenta diferencias estadísticamente significativas respecto al PCTRL, tanto en la zona periférica (Tabla 16) como en la zona central (Tabla 17). Los datos obtenidos en este parámetro permiten confirmar que las tonalidades de los tratamientos y del PCTRL son similares desde el punto de vista estadístico. Se puede afirmar que para todos los tratamientos se logra obtener una tonalidad típica de los productos curados, tomando como referencia el PCTRL. Los resultados indican que el efecto de los tratamientos térmicos a temperatura escalonada del medio, no afectan significativamente las coordenadas de color para los tratamientos elaborados con la formula alternativa (uso de EA y cultivo microbiológico).

5.3.4.2 Espectros de color:

Aunque la percepción visual y las coordenadas de color no evidenciaron diferencias significativas entre la zona periférica y la zona central, se determinaron los espectros de reflexión para cada zona. Para realizar el análisis de los resultados espectrales de cada uno de los tratamientos, se procedió a realizar pruebas ANOVA en cada una de las longitudes de onda evaluadas y se determinó si existían diferencias de los tratamientos con respecto al CTRL. Los espectros se pueden observar en la Figura 14. Según

Gallego y col.(2010), los espectros de reflexión pueden ser afectados por la aplicación de diferentes procesos de elaboración.

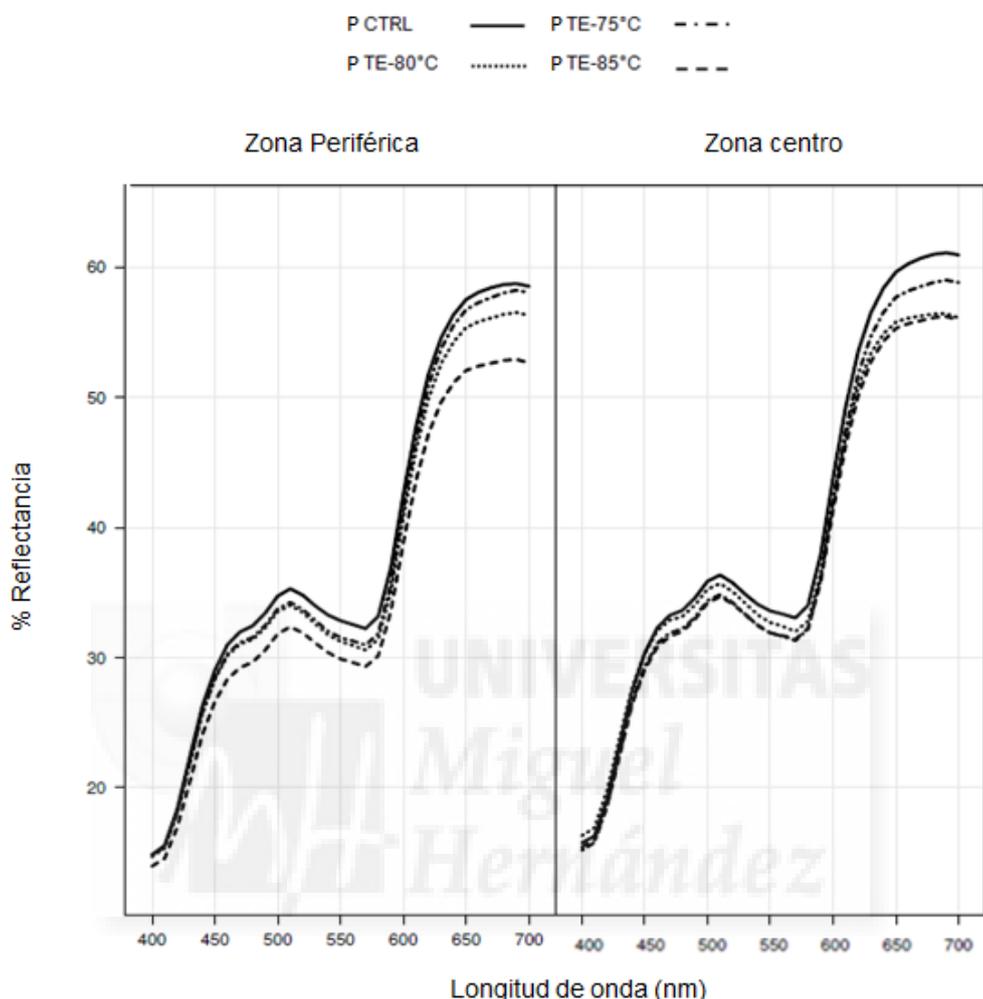


Figura 14. Espectros de Reflexión de cada tratamiento (PTE-85°C, PTE-80°C, PTE-75°C) con respecto al PCTRL en la zona central y zona periférica.

En la Figura 15 se presenta el valor $p(\alpha=0,05)$, en donde se puede establecer que cualquier punto que esté por debajo de 0,05 indica que el tratamiento evaluado en la longitud de onda respectiva, es diferente al PCTRL. Según los resultados obtenidos, se evidencia que en la zona central para el PTE-75°C no existe diferencias estadísticamente significativas para ninguna longitud de onda. Caso contrario ocurre con PTE-80°C y PTE-85°C, los cuales presentan diferencia respecto al PCTRL a partir de las longitudes de onda de 600 nm, es decir, colores anaranjados y rojos, en la zona central.

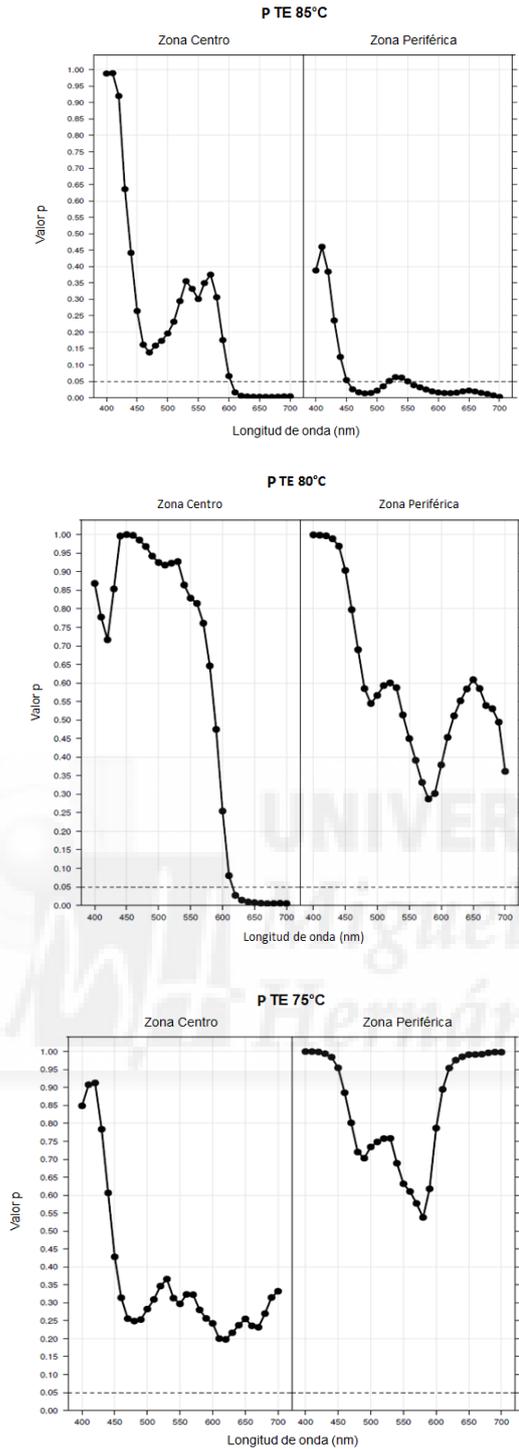


Figura 15. Valor p de la ANOVA de igualdad de medias, con un nivel de referencia $\alpha = 0,05$ (PTE-85°C, PTE-80°C, PTE-75°C respecto al PCTRL) en la zona central y zona periférica.

A pesar de las diferencias encontradas, la relación entre las longitudes de onda 650/570 es particularmente sensible a la intensidad del desarrollo del color curado (AMSA,1991), incluso permite evaluar el grado de curado y de decoloración del producto y su principal ventaja es que además de estar estrechamente correlacionado con la apreciación visual, minimiza el efecto debido a la concentración de pigmentos (Gallego y col,2010). Como se aprecia en la tabla 18, los valores de dicha relación están entre 1,75 y 1,85 considerado como un notable color curado (AMSA,1991, AMSA, 2012).

Tabla 18.Relación entre las longitudes de onda 650/570 para el PCTRL y para cada tratamiento (PTE-85°C, PTE-80°C, PTE-75°C): Valores promedio y Errores cuadrados medios

	Zona Periférica (Relación 650/570)	Zona Central (Relación 650/570)
CONTROL	1,79 ± 0,010	1,81 ± 0,011
PTE-85°C	1,78 ± 0,010	1,76 ± 0,012
PTE-80°C	1,82 ± 0,016	1,75 ± 0,012
PTE-75°C	1,84 ± 0,017	1,85 ± 0,012

El mismo análisis realizado para la zona periférica (Figura 15), presenta que para PTE-85°C existen diferencias estadísticamente significativas entre las longitudes de onda 450 nm – 520 nm y 550 nm – 700nm, abarcando casi todo el espectro visible. La tabla 18, muestra que los valores de la relación 650/570 son mayores o iguales a 1,7 lo que evidencia el desarrollo del color curado de acuerdo a lo anteriormente descrito.

Para PTE-75°C y PTE-80°C no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p \geq 0,05$) en la zona periférica (Figura 15). Esto es importante, ya que dicha zona se había identificado como la más sensible a la decoloración en función del tratamiento térmico.

5.3.4.3 Nitratos y Nitritos residuales

La cantidad reportada de nitratos en el EA, es la misma que la reportada en el capítulo 5.2. El contenido de nitratos en el EA encontrado es similar al reportado por Sindelar y col (2007b), como se describió en el numeral 5.2.4.3.

Basados en la tabla 19 se puede identificar que existe diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$) del tratamiento PTE-75°C y PTE-80°C respecto al PCTRL tanto para nitratos como para nitritos. Para dichos tratamientos, se observa un nivel promedio de nitrito y nitrato residual menor al PCTRL lo cual es deseable, debido a la tendencia actual en reducción de aditivos en alimentos (Weiss y col, 2010).

Tabla 19. Valores promedio y sus respectivas desviaciones estándar de las concentraciones de Nitratos y nitritos, y relación Nitrito/Nitrato con sus errores cuadrados medios

	Nitratos (mg / Kg)	Nitritos (mg / Kg)	Relación Nitrito / Nitrato
CONTROL	96,16 ± 14,64	148,47 ± 42,29	1,55 ± 0,26
PTE-85°C	106,17 ± 8,65	87,17 ± 12,45	0,82 ± 0,06
PTE-80°C	5,45 ± 0,67 *	47,41 ± 18,80 *	8,72 ± 1,20
PTE-75°C	6,27 ± 1,22 *	55,40 ± 26,10 *	9,06 ± 2,63

Test de Dunnet con un nivel de confianza del 95%. El símbolo (*) en una columna indica diferencias significativas con respecto al CTRL. ($p \leq 0,05$).

Se observa también que la relación existente entre la concentración nitrito/nitrato para los tratamientos donde se utilizó EA, es mayor a medida que disminuye la temperatura final del tratamiento térmico, lo que sugiere una mayor conversión de nitrato a nitrito, posiblemente influenciada por efecto de las condiciones ambientales sobre el mecanismo de reacción del cultivo.

Los valores de nitratos y nitritos encontrados en el presente trabajo, fueron mayores a los reportados por Sindelar y col. (2007a y 2007b), posiblemente explicados por las diferentes formulaciones, materias primas y procesos utilizados. Se encontró un promedio 96,15 mg / Kg de nitrato en el PCTRL en dicho trabajo. De acuerdo con Honikel (2008) la oxidación de nitrito a nitrato puede explicar por qué en productos cárnicos en donde solo se adicionó nitritos, cantidades considerables de nitratos fueron encontradas.

En todos los tratamientos se cumple con las cantidades de nitrito mínimas demostradas para la formación de color y para la seguridad microbiológica del producto (USDA, 1995; Jafari y col., 2007).

5.3.4.4 Modelo predictivo de nitratos y nitritos usando los espectros

La relación mediante PLS de las concentraciones de nitratos y nitritos con los espectros de reflexión, muestran que la predicción es mejor para el caso de los nitratos que de los nitritos (Figura 16).

Son suficientes dos componentes principales para explicar la relación entre los espectros y las concentraciones de nitratos y nitritos. EL porcentaje de resumen de la primera componente en la zona periférica es de 87.80% y de 65.93% en la zona central. Lo anterior indica que la información se resume mejor en la zona periférica que en la zona central.

Es necesario verificar en estudios posteriores, si la predicción sigue siendo mejor para nitratos que para nitritos, realizando mediciones tanto en la zona periférica como en la zona central, dado que en el presente estudio sólo se tomaron valores de nitratos y nitritos en una fracción homogénea del producto sin diferenciar por zonas.

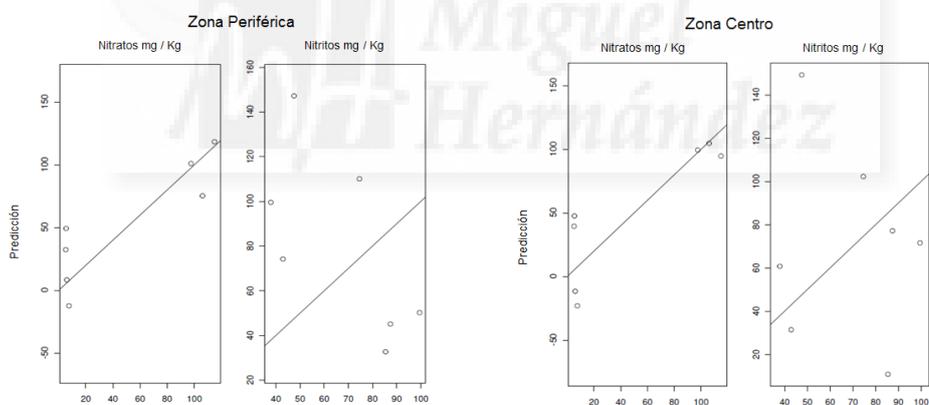


Figura16.Modelo predictivo de las concentraciones de nitratos y nitritos a partir de los espectros Reflexión tomados en la zona periférica y en la zona central.

5.3.4.5 pH

Los resultados de las mediciones de pH (Tabla 20) en la zona periférica demuestran que los tratamientos PTE-75°C y PTE-80°C presentan diferencias estadísticamente significativas con respecto al PCTRL. En la zona central solo PTE-75°C presentó diferencias en relación al PCTRL (Tabla 20). Aunque

existan diferencias, el rango de pH para todos los tratamientos en términos prácticos se encuentra en el ideal para la producción de jamones cocidos.

Tabla 20. Valores promedio y sus respectivas desviaciones estándar de los valores de pH para cada tratamiento (PTE-75°C, PTE-80°C, PTE-85°C) comparados con el PCTRL.

	pH (Zona Periférica)	pH (Zona centro)
PCTRL	6,09±0,03	6,10± 0,04
PTE-85°C	6,14±0,09	6,13±0,09
PTE-80°C	6,18±0,03*	6,17±0,03
PTE-75°C	6,18±0,04 *	6,18±0,03*

Test de Dunnet con un nivel de confianza del 95%. El símbolo (*) en una columna indica diferencias significativas con respecto al PCTRL. ($p \leq 0,05$).

5.3.4.6 Dureza

De acuerdo con la prueba de Dunnet, no se encuentran diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) para la variable Dureza en ninguno de los tratamientos comparados con el CTRL. (Tabla 21)

Tabla 21. Valores promedio y sus respectivas desviaciones estándar de la medición de la variable dureza de los tratamientos (PTE-75°C, PTE-80°C, PTE-85°C)

	Dureza(g -F)
PCTRL	164,56 ± 12,36
PTE-85°C	167,55 ± 9,85
PTE- 80°C	160,45 ± 16,82
PTE- 75°C	179,78 ± 6,29

Test de Dunnet con un nivel de confianza del 95%. (*) En una columna indica diferencias significativas con respecto al PCTRL ($p \leq 0,05$).

5.3.4.7 Análisis químico

En este análisis se midieron las variables de proteína, grasa y humedad (Tabla 22). Se detectaron diferencias estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$) en PTE-75°C, para grasa y humedad, respecto al PCTRL. A pesar de la diferencia encontrada, los parámetros cumplen con lo estipulado para este tipo de producto según NTC 1325, 2008.

Tabla 22. Valores promedio y sus respectivas desviaciones estándar del análisis fisicoquímico de los tratamientos (PTE-75°C, PTE-80°C, PTE-85°C) comparados con el PCTRL.

	Proteína (%)	Grasa (%)	Humedad (%)
PCTRL	15,61± 0,20	1,56± 0,15	70,78± 0,41
PTE-85°C	15,67± 0,33	1,44± 0,19	70,40± 0,53
PTE-80°C	15,63± 0,52	1,61± 0,04	70,02± 0,19
PTE-75°C	15,87± 0,25	2,01± 0,10 *	69,39± 0,69 *

Test de Dunnet con un nivel de confianza del 95%. (*) En una columna indica diferencias significativas con respecto al PCTRL ($p \leq 0,05$).

5.3.4.8 Análisis microbiológico

Todos los tratamientos cumplieron con los requisitos microbiológicos exigidos por la norma colombiana NTC 1325, 2008 y son aptos para el consumo humano al momento de la evaluación. Los resultados se presentan en la tabla 23.

Tabla 23. Resultados de los Análisis microbiológico para Mesófilos aerobios, bacterias ácido lácticas (BAL), coliformes totales (CT), coliformes fecales (CF), *Staphylococcus aureus*, Esporas de *Clostridium sulfitorreductor* (E.C), *Salmonella Sp* y *Listeria monocytogenes* realizados a las lonchas de Jamón, sometida a (PTC-75°C, PTC-80°C, PTC-85°C) y al CTRL.(UFC / g)

	Mesófilos	BAL	CT	CF	S. aureus	E.C	Salmonella. Sp.	L. monocytogenes
PCTRL	≤100	10	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
PTE-85°C	≤100	10	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
PTE-80°C	≤100	10	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
PTE-75°C	≤100	10	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia

5.3.4.9 Análisis Sensorial – Prueba triangular.

Los resultados de la evaluación de los atributos sensoriales arrojaron que ninguno de los tres tratamientos evaluados presentan diferencias estadísticamente significativas respecto al PCTRL ($p > 0,05$), como se observa en la tabla 24..

Tabla 24. Prueba triangular para detectar diferencias respecto al PCTRL

	<i>Jueces</i>	<i>Repeticiones</i>	<i>Diferente</i>	<i>No diferente</i>	<i>Observaciones</i>
PTE - 85°C	7	3	10	11	No hay diferencias significativas respecto al PCTRL
PTE - 80°C	7	3	8	13	No hay diferencias significativas respecto al PCTRL
PTE - 75°C	7	3	8	13	No hay diferencias significativas respecto al PCTRL

5.3.5 Conclusiones

El efecto de los tratamientos térmicos a temperatura escalonada del medio sobre las coordenadas de color, no es significativo para el caso de los tratamientos elaborados con la formula alternativa (uso de EA y cultivo microbiológico), respecto al PCTRL.

Los espectros de reflexión no evidencian diferencias significativas, para el tratamiento PTE-75°C tanto en la periferia, como en la zona centro. La relación 650nm/570nm permite evidenciar que para todos los tratamientos y para el PCTRL se tiene un deseable desarrollo de color curado. A nivel visual, no se evidencian zonas decoloradas para ningún tratamiento.

Los tratamientos no presentan diferencias significativas respecto al PCTRL, en la dureza y en las propiedades sensoriales. A nivel químico y microbiológico dichos tratamientos cumplen con lo estipulado por las normas técnicas que regulan los productos elaborados en Colombia.

Las concentraciones de nitritos finales son menores que el PCTRL lo cual es deseable en cuanto a la tendencia actual para reducción de aditivos químicos, y dichos niveles cumplen con las mínimas concentraciones requeridas para lograr los efectos microbiológicos y sensoriales aportados por el nitrito.

Es posible inferir que los espectros de reflexión obtenidos en este estudio pueden ayudar a predecir las concentraciones finales de nitratos. Se recomienda realizar estudios posteriores, donde se tenga la medición de las

concentraciones de nitratos y nitritos en la zona periférica y en la zona central, con sus respectivos espectros de reflexión para verificar esta hipótesis.

En términos generales, todos los tratamientos propuestos en este estudio son comparables con el CTRL, lo cual constituye un aporte científico para el desarrollo de productos cárnicos curados naturalmente. El PTE-75°C se selecciona como mejor alternativa teniendo en cuenta integralmente la totalidad de los resultados, especialmente en coordenadas de color, espectros de reflexión, contenido de nitratos y dureza.



5.4 Utilización de una fuente natural alternativa de nitrito de sodio en el proceso de elaboración de un jamón cocido tipo Medellín: Influencia sobre la vida útil.

5.4.1 Resumen

En este trabajo, se determinó la influencia de un proceso de elaboración de un jamón curado naturalmente a través de la adición de extracto de apio (EA) y un cultivo nitrato reductor (*Staphylococcus carnosus*) sobre la vida útil del mismo. Se comparó el producto Control con un tratamiento que se hizo por triplicado. Se realizaron mediciones repetidas en el tiempo para las coordenadas de color CIEL*a*b*, las magnitudes psicofísicas C^*_{ab} y h^o_{ab} , pH, recuentos microbiológicos para alterantes y patógenos, nitritos residuales y análisis de perfil sensorial. No se evidenciaron diferencias significativas ($p > 0,05$) entre el Control y el tratamiento para las variables de color evaluadas, tampoco en pH, ni condiciones microbiológicas. Se encontró que el contenido de nitritos es significativamente superior ($p \leq 0,05$) en el Control que en el tratamiento, y a nivel sensorial, el Control es más fracturable que el tratamiento. En términos generales se concluye que son comparables el control y el tratamiento durante su vida útil sin afectación de las características sensoriales y microbiológicas.

5.4.2 Generalidades

La vida útil de los productos cárnicos cocidos, es limitada debido principalmente a la seguridad microbiológica y a otros temas relacionados con su deterioro (Vercammen y col, 2011). Las operaciones de tajado y empackado en un producto como el jamón cocido, pueden contaminar microbiológicamente el producto luego del proceso térmico, y las condiciones de pH (alrededor de 6) y la actividad acuosa (alrededor de 0,95) favorecen aún más proliferación de dicha carga bacteriana.

La vida útil, de este tipo de producto, depende también de otras condiciones intrínsecas, tales como: buenas prácticas de manufactura, control de la temperatura de almacenamiento y distribución, y condiciones del envasado (Vercammen y col, 2011).

El deterioro de los productos cárnicos cocidos, da como resultado defectos sensoriales, tales como: acidificación, decoloración, producción de gas y líquido viscoso, generalmente causado por bacterias ácido lácticas (BAL). Respecto a la seguridad microbiológica, sin lugar a dudas la mayor preocupación es respecto a la *Listeria monocytogenes* debido a su amplia distribución en el ambiente y su capacidad de crecer en productos refrigerados (Hu y col, 2009).

Aunque el nitrito no es generalmente reconocido por su efectividad en el control de bacterias entéricas gram negativas como la *Salmonella* y *Escherichia coli*, (Tompkin, 2005), algunos modelos predictivos para el crecimiento de patógenos como la *L. monocytogenes*, han mostrado una mayor efectividad del uso de antimicrobianos como el lactato de sodio y el diacetato de sodio en presencia de nitrito (Sindelar y Milkowski, 2012). Las estimaciones predicen que la tasa de crecimiento de bacterias patógenas como *L. monocytogenes*, *E.coli*, O157:H7, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus* son reducidos en presencia de nitritos a los niveles que son utilizados en los productos cárnicos curados (Milkowski y col., 2010). El efecto del nitrito en el control del *Clostridium botulinum* es indiscutible y ampliamente documentado, razón por la cual es utilizado en la industria de los productos cárnicos. El botulismo ha sido completamente controlado por el uso de nitrito en productos cárnicos curados (Sindelar y Milkowski, 2012).

Adicional al efecto bacteriostático y bactericida del nitrito en los productos cárnicos procesados, la fijación del color, el desarrollo del flavor y la protección contra la oxidación lipídica permite la extensión del tiempo de almacenamiento de los productos, lo cual afecta positivamente tanto a los productores como a los consumidores. A pesar de los cuestionamientos que puede tener la utilización del nitrito, hasta la fecha no se ha podido encontrar un ingrediente que permita la reproducción efectiva de las propiedades mencionadas anteriormente (Sindelar y Milkowski, 2011)

En la elaboración de productos cárnicos naturales y ecológicos (orgánicos), la adición de ingredientes y aditivos químicos como el nitrito, está prohibida

(USDA, 2005). Para suplir esta restricción, se ha descubierto que ciertos extractos vegetales, especialmente el de apio, pueden ser adicionados como fuente indirecta de nitratos y mediante bacterias nitrato reductoras, lograr las bondades tecnológicas que el nitrito confiere a los productos cárnicos. Se han realizado aplicaciones en jamones cocidos con porcentajes de inyección del 25% (Sebranek y Bacus, 2007a ; 2007b) y no se evidencia aplicaciones para jamones con inyecciones mayores al 50%.

El objetivo de este trabajo fue determinar la influencia en la vida útil de un Jamón cocido tipo Medellín, curado naturalmente y elaborado bajo condiciones colombianas con extracto de apio (EA) y el cultivo microbiológico.

5.4.3 Diseño experimental

Se usó como base, la fórmula control descrita en el numeral 4.1. En esta formulación, no se utilizó EA, ni cultivo iniciador, y el tiempo de reposo es el estipulado en el proceso productivo (0% EA y 24 h de tiempo de reposo). Se definió una fórmula alternativa para elaborar los tratamientos del diseño experimental en la cual se eliminó el nitrito de sodio adicionado directamente y se utilizó el cultivo iniciador, *Staphylococcus carnosus* (CS 300) al 0,02% sobre el peso total de la fórmula y el extracto de apio (EA) (Vegetable Juice Powder Natural) al 0,2 %. Ambos fueron proveídos por CHR Hansen Colombia S.A.

Se definió la concentración de 0,2% de EA y 0,02% del cultivo iniciador dados los resultados reportados en el numeral 5.3.

Una vez los productos fueron elaborados, los moldes de la fórmula control (CTRL) se llevaron a un tanque de cocción con agua a temperatura constante de 80°C y los moldes del tratamiento elaborado con la fórmula alternativa, fueron tratados con un proceso térmico a temperatura escalonadas del medio en las etapas iniciales (210 min a 40°C, 20 min a 50°C, 20 min a 60 °C, finalizando a TE-75°C). Lo anterior, debido a los resultados obtenidos en el capítulo 5.3. El proceso se llevo a cabo según lo descrito en el numeral 4.2. Los análisis microbiológicos se realizaron durante la vida útil, de acuerdo con el

diseño experimental. El producto fue almacenado en una cámara refrigerada a temperatura constante de 4°C.

Se realizó un diseño experimental de medidas repetidas en el tiempo, con tres réplicas en el tratamiento y una para el CTRL. Se determinó realizar un diseño desbalanceado, porque en experimentos anteriores, se mostró gran estabilidad de los valores para el CTRL.

Se definió la toma de los datos para cada una de las variables en el tiempo 0, 7, 14, 21, 28, 35, 40, 45, 50 días de almacenamiento. La fecha de vencimiento para este tipo de productos en Colombia, está alrededor de 40 días. Se realizó las medidas repetidas en el tiempo hasta el 125% de la vida útil de acuerdo con la norma ASTM E2454, 2005.

Se realizaron dos perfiles sensoriales por aproximación multidimensional según la NTC 3929 (1996), tanto al tratamiento como al control en el día 0 (inicio vida útil) y en el día 50 (fin de la vida útil). Este análisis se ejecutó con el objetivo de detectar las posibles variaciones en el tiempo de los atributos de sensoriales definidos internamente para estos productos

Las comparaciones se realizaron mediante un análisis de varianza con medidas repetidas en el tiempo, correspondiente a un diseño de efectos mixtos. La evaluación de las hipótesis se hace al 95% de confianza. El Software para el procesamiento de la información fue R. (R Foundation for Statistical Computing, Viena, 2010)

5.4.4 Resultados

5.4.4.1 Análisis de color

De acuerdo con los resultados reportados en el numeral 5.3, no fue necesario realizar mediciones de color para la zona periférica. Se efectuaron mediciones de las coordenadas CIEL*a*b* y de las magnitudes psicofísicas C^*_{ab} y h^o_{ab} tanto en el CTRL como en el tratamiento, para determinar objetivamente si existían

algunas diferencias significativas. En la Tabla 25, se presentan los valores promedios de las mediciones de color.

Tabla 25. Valores promedio de las coordenadas de color CIEL *a*b* y los parámetros C*_{ab} y h°_{ab}

DIA		Réplica	L*	a*	b*	C* _{ab}	h° _{ab}
0	Control	1	61,72	10,44	13,15	16,81	51,58
7		1	61,30	8,14	10,51	13,29	52,23
14		1	55,69	7,29	9,21	11,74	54,21
21		1	63,22	10,33	9,96	14,39	43,80
28		1	63,61	9,76	9,24	13,45	43,46
35		1	63,21	10,25	12,58	16,24	50,85
40		1	63,76	9,72	11,80	15,30	50,52
45		1	63,03	9,96	11,72	15,38	49,63
50		1	62,69	10,28	9,73	14,16	43,41
0		Tratamiento	1	62,68	7,25	11,11	13,27
7	1		62,85	8,08	10,75	13,45	53,09
14	1		64,24	9,27	9,87	13,55	46,79
21	1		63,69	9,12	9,48	13,18	46,15
28	1		63,80	9,04	12,02	15,05	53,09
35	1		63,33	9,57	11,93	15,31	51,26
40	1		63,16	9,59	12,27	15,58	51,99
45	1		64,09	9,36	9,91	13,64	46,70
50	1		64,17	8,83	10,73	13,90	50,56
0	Tratamiento		2	61,19	8,90	11,10	14,24
7		2	62,03	8,21	10,56	13,38	52,14
14		2	62,74	10,10	9,72	14,04	43,93
21		2	62,30	10,09	9,69	14,00	43,94
28		2	62,23	9,67	12,33	15,68	51,96
35		2	62,01	10,19	11,14	15,12	47,57
40		2	62,79	9,79	11,92	15,44	50,62
45		2	63,21	9,38	9,81	13,59	46,31
50		2	63,63	11,05	12,11	16,41	47,67
0		Tratamiento	3	62,48	7,57	11,07	13,41
7	3		62,00	7,92	10,78	13,39	53,76
14	3		63,75	9,47	9,72	13,59	45,77
21	3		63,87	9,12	9,43	13,12	45,97
28	3		63,86	9,54	12,87	16,02	53,45
35	3		62,99	9,86	11,62	15,26	49,70
40	3		63,98	9,29	12,12	15,29	52,55
45	3		64,77	8,68	10,23	13,42	49,66
50	3		63,35	9,22	10,74	14,18	49,39

Diseño de efectos mixtos con medidas repetidas en el tiempo.

El diseño estadístico, contempló que los efectos fijos eran el día, el tratamiento y la interacción día – tratamiento. El efecto aleatorio fueron las repeticiones. Para todas las coordenadas de color CIEL*a*b*, como para las magnitudes C*_{ab} y h°_{ab}, no fueron encontradas diferencias estadísticamente significativas (p>0,05) entre el CTRL y el tratamiento. Similares resultados fueron reportados por Sindelar y col (2007b), pero para un período de 90 días. Tampoco fueron encontradas diferencias significativas en las interacciones para ninguna de las mediciones de color (p>0,05). Con respecto al tiempo, tampoco se encontraron diferencias significativas, exepctuando para la variable L*, en la cual se encontró un efecto significativo (p≤0,05), es decir, a mayor tiempo de vida útil, se encontró que la coordenada L* incrementaba. Lo anterior, puede estar asociado a un aumento del agua libre sobre la superficie, lo que provoca el aumento de la variable (Sánchez-Zapata y col., 2008).

5.4.4.2 Análisis de nitritos residuales

Los resultados del comportamiento de los nitritos se presentan a continuación en la tabla 26..

Tabla 26. Valores promedio para el comportamiento del nitrito residual (mg / Kg)

DIA	Control		Tratamiento		Tratamiento		Tratamiento	
	Réplica	Nitritos	Réplica	Nitritos	Réplica	Nitritos	Réplica	Nitritos
0	1	107,25	1	53,71	2	1,62	3	4,02
7	1	85,64	1	22,50	2	24,55	3	24,95
14	1	79,39	1	22,18	2	21,29	3	23,29
21	1	83,99	1	18,91	2	15,43	3	22,69
28	1	65,69	1	27,79	2	33,05	3	21,71
35	1	60,44	1	11,04	2	13,38	3	13,11
40	1	54,77	1	12,52	2	14,53	3	14,59
45	1	58,17	1	15,76	2	14,98	3	14,61
50	1	47,50	1	8,94	2	8,58	3	9,35

Diseño de efectos mixtos con medidas repetidas en el tiempo.

De acuerdo con el análisis de varianza, existe diferencia estadísticamente significativa (p≤0,05) entre el CTRL y el tratamiento. El contenido de nitritos para el CTRL es mayor que en el tratamiento, lo cual ha sido consistente con los estudios anteriores realizados en esta investigación, y con lo reportado por Sindelar y col. (2007b). Los bajos niveles de nitrito residual encontrados en el

tratamiento, podrían constituir una preocupación desde el punto de vista de la seguridad alimentaria, pero como se podrá apreciar más adelante, los análisis microbiológicos realizados no argumentan dicha inquietud. Aún así, la variabilidad en la concentración de nitrito residual que se obtiene en el día cero de los diferentes estudios realizados en esta investigación, deberán ser tenidas en cuenta a la hora de realizar una aplicación comercial para poder asegurar la calidad del producto terminado. Lo anterior podría ser explicado, si el EA que se utilice tenga variaciones en su contenido de nitratos por ser un compuesto natural. Actualmente, se utilizan extractos de apio estandarizados que podrían mitigar esta situación Sebranek y col (2012). Adicionalmente, estudios posteriores deberán estudiar la viabilidad del cultivo para asegurar que las reacciones de nitrato reducción logren la conversión necesaria para las reacciones de curado. De igual manera, se evidencia un efecto estadísticamente significativo ($p \leq 0,05$) del tiempo sobre el comportamiento de los nitritos en el CTRL. En la medida que avanza la vida útil, el contenido de nitrito residual disminuye. La interacción también presenta una variación estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$), lo cual indica que la proporción de cambio en el contenido de nitritos es mayor en el CTRL que en el tratamiento, como se puede observar en la figura 17.

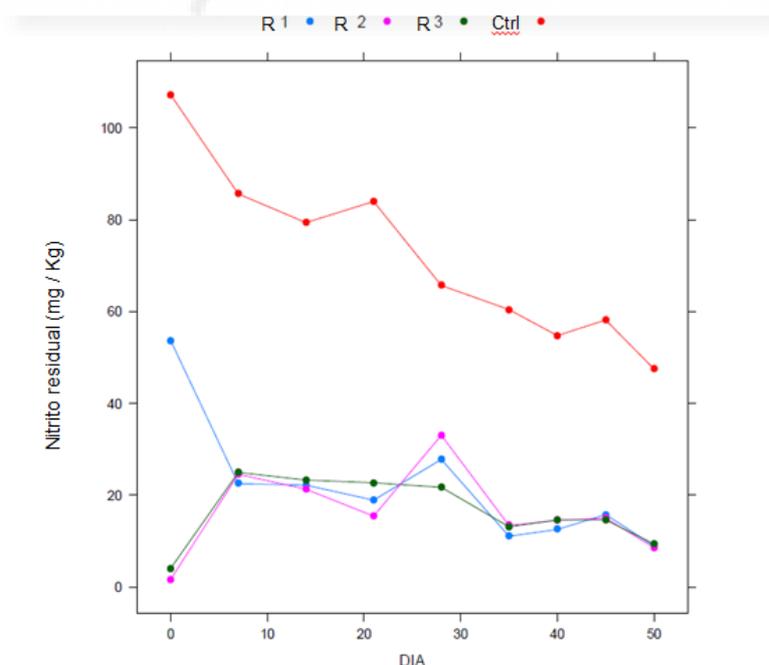


Figura 17. Comportamiento del contenido de nitrito residual.

El contenido de nitritos residuales en el tratamiento, muestra un comportamiento más estable en el tiempo que el CTRL. La tendencia descendiente no cae en la misma proporción, y al final de la vida útil, a pesar de la baja concentración de nitritos en los tratamientos no se presentan evidencias de deterioro microbiológico o rechazo comercial.

5.4.4.3 Análisis de pH

No existe diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$) en el comportamiento del pH entre el CTRL y el tratamiento para ninguno de los días evaluados. El tiempo no tuvo influencia sobre el pH en este estudio. Los resultados se presentan en la tabla 27. Los valores están comprendidos en un rango de 6,3 y 6,15, todos ellos adecuados para un Jamón cocido (NTC 1325)

Tabla 27. Valores promedio para el comportamiento del pH.

DIA	Control		Tratamiento		Tratamiento		Tratamiento	
	Réplica	pH	Réplica	pH	Réplica	pH	Réplica	pH
0	1	6,30	1	6,19	2	6,18	3	6,20
7	1	6,23	1	6,17	2	6,24	3	6,25
14	1	6,18	1	6,20	2	6,21	3	6,21
21	1	6,17	1	6,17	2	6,20	3	6,18
28	1	6,19	1	6,20	2	6,19	3	6,25
35	1	6,28	1	6,16	2	6,24	3	6,23
40	1	6,21	1	6,23	2	6,21	3	6,22
45	1	6,15	1	6,15	2	6,26	3	6,20
50	1	6,25	1	6,15	2	6,20	3	6,07

5.4.4.4 Análisis microbiológicos

Los resultados microbiológicos, están reportados bajo la norma técnica colombiana (NTC 1325, 2008), la cual contempla análisis para microorganismos alterantes, así como para patógenos. No existe diferencia estadísticamente significativa ($p > 0,05$) entre el CTRL y el tratamiento, con lo cual se puede asumir que la seguridad microbiológica para ambos es la misma, medida con los criterios mencionados en la norma técnica. En la tabla 28 se presentan los resultados microbiológicos.

El efecto del tiempo fue estadísticamente significativo ($p \leq 0,05$) sobre el contenido de microorganismos mesófilos. En la medida que aumenta el tiempo, aumenta en número de dichos microorganismos. Los valores encontrados, están por debajo del referente máximo de la norma, por lo cual no se considera como causante de un deterioro del producto durante la vida útil. Aunque no existan diferencias significativas, el contenido de mesófilos se percibe mayor en el CTRL que en el tratamiento.

Tabla 28. Resultados microbiológicos (Expresado en unidades formadoras de colonia (UFC / g))

DIA	TTO	REPLICA	Mesófilos	Ácido lácticas	Coliformes totales	Coliformes fecales	S. aureus	Esporas S Clostridium sulfito reductor	Salmonella sp	Listeria monocytogenes
0	Control	1	100	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
7	Control	1	≤100	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
14	Control	1	330	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
21	Control	1	≤100	4.000	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
28	Control	1	1.900	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
35	Control	1	1.200	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
40	Control	1	8.300	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
45	Control	1	1.900	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
50	Control	1	≤100	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
0	Tratamiento	1	210	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
7	Tratamiento	1	100	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
14	Tratamiento	1	100	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
21	Tratamiento	1	≤100	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
28	Tratamiento	1	5.700	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
35	Tratamiento	1	100	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
40	Tratamiento	1	≤100	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
45	Tratamiento	1	200	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
50	Tratamiento	1	220	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
0	Tratamiento	2	210	100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
7	Tratamiento	2	100	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
14	Tratamiento	2	100	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
21	Tratamiento	2	210	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
28	Tratamiento	2	≤100	1.500	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
35	Tratamiento	2	210	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
40	Tratamiento	2	≤100	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
45	Tratamiento	2	220	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
50	Tratamiento	2	300	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
0	Tratamiento	3	730	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
7	Tratamiento	3	≤100	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
14	Tratamiento	3	≤100	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
21	Tratamiento	3	210	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
28	Tratamiento	3	≤100	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
35	Tratamiento	3	330	9.500	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
40	Tratamiento	3	≤100	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
45	Tratamiento	3	300	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia
50	Tratamiento	3	330	≤100	≤10	≤10	≤10	≤10	Ausencia	Ausencia

5.4.4.5 Análisis sensorial – Perfil sensorial

Se realizó un análisis de varianza en dos tiempos (0 y 50 días), correspondiente a un diseño de efectos mixtos. Lo anterior se hizo para validar que no hubiera diferencias sensoriales entre el CTRL y el tratamiento durante la vida útil. También se determinó el impacto de la vida útil sobre los diferentes atributos sensoriales. En la Tabla 29 se presentan las calificaciones para cada atributo en el tiempo 0 días.

Tabla 29. Calificaciones promedio de cada atributo sensorial de las muestras de Jamón control y las tres réplicas del tratamiento elaborado con extracto de apio y cultivo iniciador para el tiempo 0 días.

Atributo	Control	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
AMARGO	1,44	1,48	1,56	1,69
CARNICO	2,86	2,63	2,84	2,81
DULCE	1,76	1,54	1,84	1,60
JABONOSO	1,56	1,52	1,43	1,44
LACTEO	1,63	1,54	1,64	1,61
PROTEINA VEGETAL	2,29	2,34	2,16	1,99
SALADO	2,71	2,69	2,79	2,62
UMAMI	1,89	2,08	2,24	2,17
FRIABILIDAD	2,59	2,33	2,33	2,39
COHESIVIDAD	2,59	2,11	2,20	2,41
DUREZA	2,00	1,89	1,91	1,79
ELASTICIDAD	2,61	2,34	2,45	2,50
FRACTURABILIDAD	2,25	2,07	1,97	1,95
HUMEDAD	2,84	2,69	2,70	2,68
JUGOSIDAD	2,12	2,14	2,26	2,25
MASTICABILIDAD	2,57	2,46	2,61	2,49

En la Figura 18 se aprecia el perfil sensorial para el tiempo 0 días, en escala de 1 a 5.

Perfil sensorial 0 días

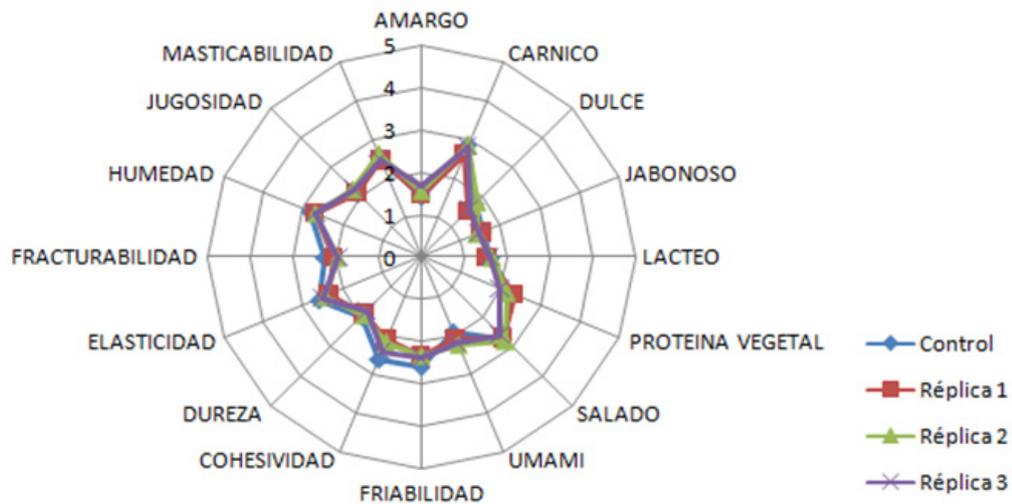


Figura 18. Perfil sensorial en el tiempo 0 días de Jamón control y las tres réplicas del tratamiento elaborado con extracto de apio y cultivo iniciador para el tiempo 0 días.

La tabla 30 muestra los datos promedio de los atributos sensoriales en el tiempo 50 días, es decir al final de la vida útil determinada para el presente trabajo. De igual manera se presenta en la Figura 19 el perfil sensorial para dicho tiempo, con escala de 1 a 5..

Tabla 30. Calificaciones promedio de cada atributo sensorial para el tiempo 50 días.

Atributo	Control	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
AMARGO	1,94	1,84	1,60	1,81
CARNICO	3,28	3,20	3,16	3,08
DULCE	2,00	1,85	2,22	1,93
JABONOSO	1,61	1,70	1,70	1,78
LACTEO	2,08	2,13	2,33	1,88
PROTEINA VEGETAL	2,54	2,66	2,64	2,58
SALADO	2,80	2,81	2,73	2,49
UMAMI	2,10	2,08	2,23	2,28
FRIABILIDAD	2,73	2,89	2,88	2,79
COHESIVIDAD	2,39	2,79	2,61	2,43
DUREZA	2,39	2,32	1,97	2,14
ELASTICIDAD	2,74	2,78	2,95	2,87
FRACATURABILIDAD	2,08	1,91	2,06	1,99
HUMEDAD	2,89	2,74	2,71	2,74
JUGOSIDAD	2,43	2,23	2,42	2,45
MASTICABILIDAD	2,84	2,82	2,88	2,87

Perfil sensorial 50 días

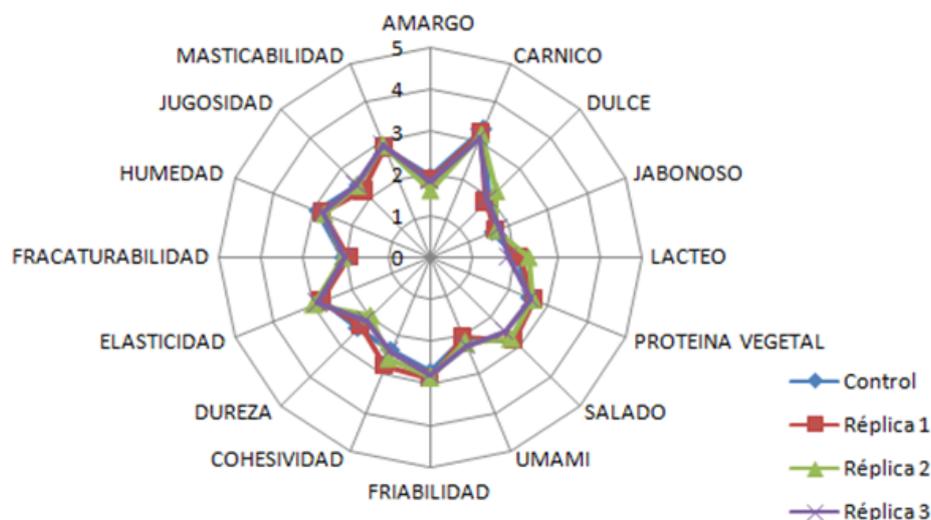


Figura 19 Perfil sensorial de Jamón control y las tres réplicas del tratamiento elaborado con extracto de apio y cultivo iniciador en el tiempo 50 días.

Para los atributos de sabor: amargo, cárnico, jabonoso, lácteo, proteína vegetal, y para los atributos de textura: dureza, elasticidad, masticabilidad, el análisis demuestra que dichas variables están afectadas significativamente ($p \leq 0,05$) por el tiempo 50 días frente a el tiempo de 0 días. Los productos estuvieron envasados al vacío durante todo el tiempo de evaluación. Para todos ellos, al aumentar el tiempo de vida útil, la calificación de cada atributo aumentó. En el caso de la humedad, el análisis es el mismo, aunque existe una diferencia significativa ($p \leq 0,05$), entre el CTRL y el tratamiento, siendo percibido más húmedo el CTRL. La humedad superficial en las tajadas de jamón, podría estar favorecida por las condiciones de proceso térmico y el efecto que hace el empaque al vacío sobre el producto. Dicho fenómeno, conocido como sinéresis, implica la salida de agua del producto hacia el paquete, por lo cual se podrían estar concentrando los sabores descritos e incrementando los atributos sensoriales. Cabe anotar que tanto el tratamiento como el CTRL estaban empacados al vacío. Las diferencias también pudieron estar asociadas a los diferentes métodos de cocción.

El tiempo de vida útil afecta significativamente ($p \leq 0,05$) sobre la friabilidad. Igualmente existe una interacción estadísticamente significativa. Al aumentar el tiempo de vida útil, aumenta la friabilidad tanto en el tratamiento como en el CTRL, pero este último tiene una proporción de cambio menor. La fracturabilidad indica que el CTRL tiene una condición mayor en este atributo que el tratamiento. Se percibe significativamente más fracturable el CTRL que el tratamiento, posiblemente influenciada por una mayor sinéresis percibida en el análisis sensorial.

Para los atributos de sabor salado y dulce, como para los atributos cohesividad y jugosidad, ninguna diferencia estadística ($p > 0,05$) fue detectada, entre el control y los tratamientos.

La humedad es percibida más alta en el CTRL que en el tratamiento por el panel sensorial, lo cual puede afectar indirectamente algunos atributos, como la fracturabilidad. Incluso, una condición ideal es tener menor humedad para disminuir la posibilidad de la proliferación microbiana, aunque esto no fue evidenciado en el presente estudio. En términos generales, tanto el CTRL como el tratamiento son comparables desde el punto de vista sensorial

5.4.5 Conclusiones

Las mediciones objetivas de color, no muestran diferencias significativas entre el CTRL y el tratamiento, aunque la variable L^* se ve afectada por el tiempo de vida útil, posiblemente influenciada por el aumento de humedad sobre la superficie de la tajada.

No se encontró diferencia de pH entre el CTRL y el tratamiento y dicha variable tampoco fue afectada por el tiempo de vida útil

A nivel microbiológico, tanto para alterantes como para patógenos, no se evidenció diferencia entre el CTRL y el tratamiento. Para ambos se encontró que el número de microorganismos mesófilos aumentan con el tiempo de vida

útil, pero en ningún caso supera los límites establecidos en la norma técnica colombiana, ni se evidencia signos para el rechazo comercial.

Sensorialmente, aunque se percibe más húmedo el CTRL que el tratamiento, en condiciones normales de consumidor ambos pueden ser comparables durante la vida útil.



6 CONCLUSIONES GENERALES

La revisión bibliográfica realizada en el presente trabajo permite concluir que no se conoce un compuesto que por sí solo reemplace todas las funciones tecnológicas y anti microbiológicas que aporta el nitrito en los productos cárnicos. Su reducción es posible, siempre y cuando tenga un efecto sinérgico mediante la adición de otros compuestos, por ejemplo, antioxidantes.

La aplicación de fuentes naturales de nitrato como alternativa para eliminar el nitrito adicionado directamente en las formulaciones, se ha convertido en una opción industrial con excelentes resultados en cuanto a las características de los productos. Lo anterior también se ha aprovechado para limpiar las etiquetas. En la presente revisión, se identificó el uso de extracto de apio, como la opción con mayor potencial para generar conocimiento científico en la elaboración de jamones de alta extensión para la Industria colombiana, que combinado con la adición de un cultivo nitrato-reductor permite el desarrollo de las características del producto elaborado tradicionalmente.

Elaborar productos curados naturalmente, a partir de fuentes naturales de nitrato y la adición de cultivos nitrato reductores, no permite emplear un proceso térmico tradicional con temperaturas del medio constantes a 80°C, debido a que los microorganismos presentes en la superficie de contacto con el molde, se podrían inactivar, impidiendo la formación de las reacciones típicas de curado.

Un mejoramiento en la genética de las cepas utilizadas (CS 299 y CS 300) de *Staphylococcus carnosus*, con el objetivo de lograr las reacciones que permitieran la reducción del nitrato a nitrito en condiciones de almacenamiento refrigerado (reposo), tampoco evitó la decoloración superficial del producto cuando fue elaborado con un proceso a temperatura constante del medio a 80°C.

La elaboración de un jamón curado naturalmente mediante la adición de cultivos nitrato-reductores, requiere indiscutiblemente el uso de procesos térmicos a temperatura escalonada.

El presente estudio demuestra que es posible elaborar un jamón cocido tipo Medellín (JCM), mediante la utilización de fuentes naturales alternativas de nitrito, sin encontrar diferencias apreciables respecto al producto elaborado tradicionalmente.

Se propone la elaboración de dicho jamón, a partir de un extracto de apio al 0,2% y contenidos de nitratos aproximados de 30.000 mg / Kg; adicionalmente, un cultivo iniciador nitrato-reductor (*Staphylococcus carnosus*) al 0,02% y un proceso térmico con temperaturas escalonadas, finalizando a 75°C.

Se recomienda para estudios posteriores, validar la seguridad del producto durante la vida útil, tomando como microorganismo de referencia el *Clostridium perfringens* debido a la alta variabilidad que se tiene en el contenido de nitritos residuales en un proceso de curación natural.

Esta investigación contribuye al conocimiento científico de la elaboración de jamones de alta extensión ó inyección (90%), típico en Colombia.

7 BIBLIOGRAFÍA

Adamsen, C.E., Moller, J., Laursen, K., Olsen, K., y Skibsted, L.H. (2006). Zn-porphyrin formation in cured meat products: Effect of added salt and nitrite. *Meat Science*, 72, 672 - 679.

Aleson-Carbonell, L., Fernández-López, J., Sayas-Barberá, E., Sendra, E., y Pérez- Alvarez, J.A. (2003). Utilization of lemon albedo in dry-cured sausages. *Journal of Food Science*, 68, 1826–1830.

Aleson-Carbonell, L. (2005). Aplicación de subproductos de la industria cítrica en la elaboración de productos frescos y cárnicos crudo-curados. *Ph.D. Thesis*. Universidad Miguel Hernández de Elche. Orihuela. Spain.

Al-Shuib, A.M. y Al-Abdullah, B.M. (2002). Substitution of nitrite by sorbate and the effect on properties of mortadella. *Meat Science*, 62, 473 – 478.

AMSA. American Meat Science Association. (1991). Guidelines for meat color evaluation. In *Proceedings 44th Annual Reciprocal Meat Conference*, 9 – 12 June 1991, Kansas, USA. (pp. 1- 17).

AMSA. American Meat Science Association. (2012). Meat Color Measurement Guidelines. Agosto 2012. (pp. 45 – 47).

Andrée, S., Jira, W., Schwind, K.H., Wagner, H. y Schwagele, F. (2010). Chemical safety of meat and meat products, *Meat Science*, 86, 38 – 48.

Anjana, Shahid-Umar y Muhammad-Iqbal.(2007). Nitrate accumulation in plants, factors affecting the process, and human health implications. A review: *Agronomy for Sustainable Development*, 27, 45 – 57.

AOAC. Association of Official Analytical Chemist. Official Method of Analysis 973.31 (2006). Nitrites in Cured Meat. 18th ed. Maryland: Assn. of Official Analytical Chemist.

AOAC. Association of Official Analytical Chemist. Official Methods of Analysis 2007.04. (2007) Fat, Moisture, and Protein in Meat and Meat Products FOSS FoodScan™ Near-Infrared (NIR) Spectrophotometer with FOSS Artificial Neural Network (ANN) Calibration Model and Associated Database First Action.

ASTM. ASTM International. E2454. (2005). Standard Guide for Sensory Evaluation Methods to Determine the Sensory Shelf Life of Consumer Products

Ayadi, M.A., Makni, I. y Attia, H. (2009). Thermal diffusivities and influence of cooking time on textural, microbiological and sensory characteristics of turkey meat prepared products. *Food and Bioproducts Processing*, 81, 327-333.

Baohua Kong, P., Chen, Q., Zheng, D. y Liu, N. (2013). Formation and identification of nitrosylmyoglobin by *Staphylococcus xylosus* in raw meat batters: A potential solution for nitrite substitution in meat products. *Meat Science*, 93, 67 – 72.

Barbieri, G., Bergamaschi, M., Barbieri, GE. y Franceschini, M. (2013). Kinetics of nitrite evaluated in a meat product. *Meat Science*, 93, 282 – 286.

Bekhit, A.E.D. y Faustman, C. (2005). Metmyoglobin reducing activity. *Meat Science*, 71: 407-439.

Benedinia, R., Rajaa, V. y Parolarib, G. (2008). Zinc-protoporphyrin IX promoting activity in pork muscle. *LWT*, 41, 1160 – 1166.

Binstok, G., Campos, C., Varelab, O. y Gerschensona, L.N. (1998). Sorbate - nitrite reactions in meat products. *Food Research International*, 31(8), 581 – 585.

Boles, J.A. y Pegg, R.(2009). Meat Color. Universidad de Saskatchewan, Canada. <http://www.agbio.usask.ca/sfpi/pubs/meatcolor.pdf>. Accessed Nov 2012.

Bradley Armstrong, F., Bennett Armstrong F., Bennett, T.P. y Cuchillo, C. (1982). Bioquímica. Barcelona: Reverté. P - 104. ISBN 8429170081, 9788429170085.

Brewer, M.S., Zhu, L.G.y McKeith, F.K.(2001). Marbling effects on quality characteristics of pork loin chops: Consumer purchase intent, visual and sensory characteristics. *Meat Science*, 59 (2), 153-163.

Cassens, R.G, Demeyer, D., Eikelenboom, G., Honikel, K.O, Johansson, G., Nielsen, T., Renerre, M., Richardson, Y. y Sakata,R. (1995). Recommendation of reference method for assessment of meat color.In *Proceedings of 41 st International Congress of Meat Science and Technology*. 28 August 2 September 1995, San Antonio, USA. (pp. 410-411).

Cassens, R. G. (1997). Residual nitrite in cured meat. *Food Technology*, 51, 53 - 55.

CHR Hansen. (2003). Manual Cárnico Bactoferm™. Producción de embutidos fermentados con cultivos starter Chr. Hansen. Vol I.

Comi, G., Manzano, M., Aggio, D., Duratti, R., Cantoni, C. y Cocolin, L. (2000). Selection of a microbial starter for production of traditional Friuli salami. *Ingegneria Alimentare Le Conserve Animali*, 16(3), 7, 9, 11, 13-17

Cui, H., Gabriel, A.A. y Nakano, H. (2010). Antimicrobial efficacies of plant extracts and sodium nitrite against *Clostridium botulinum*. *Food Control*, 21, 1030 – 1036.

Cuttle, C., Bierman, A. y Gotti, M.B. (2001).Effects of light exposure on the appearance of meat displays. *Journal Illuminating Engineering Society*, 30 (1), 116-122.

Davidson, P.M, Sofos, J.N. y Branen, A.L, (2004). Antimicrobials in Food. Boca Raton: CRC Taylor and Francis Group.

Decker, E.A. y Park, Y. (2010). Healthier meat products as functional foods. *Meat science*, 86, 49 – 55.

Deda, M.S., Bloukas, J.G. y Fista, G.A. (2007). Effect of tomato paste and nitrite level on processing and quality characteristics of frankfurters, *Meat Science*, 76, 501 – 508.

Demeyer, D., Honikel, K.O. y De Smet, S. (2008). The World Cancer Research Fund report 2007: A challenge for the meat processing industry. *Meat Science*, 80, 953 – 959.

Devcich D.A., Pedersen, I. K. y Petrie, K. J. (2007). You are what you eat: Modern health worries and the acceptance of natural and synthetic additives in functional foods. *Appetite*, 48, 333 – 337.

Directiva 2006/52/EC. (2006). Directive of the European Parliament and of the Council of 5 July 2006 amending Directive 95/2/EC on food additives other than colours and sweeteners and Directive 95/35/EC on sweeteners for use in foodstuffs, O.J. L204 of 26.7.2006.

Dineen, N.M., Kerry, J.P., Lynch, P.B., Buckley, D.J., Morrissey, P.A. y Arendt, E.K. (2000). Reduced nitrite levels and dietary α -tocopheryl acetate supplementation: effects on the colour and oxidative stability of cooked hams. *Meat Science*, 55, 475 – 482.

Doolaeye, E., Vossen, E., Raes, K., De Meulenaer, B., Verhé, R., Paelinck, H. y De Smet, S. (2012). Effect of rosemary extract dose on lipid oxidation, colour stability and antioxidant concentrations, in reduced nitrite liver pâtés. *Meat Science*, 90, 925 – 931.

Dvorak, P., Musilova, H. y Svarcova, I. (2001). On-line measurements of colour of pork. *Fleischwirtschaft*, 81, (7), 89-91.

Eyiler, E. y Oztan, A. (2011). Production of frankfurters with tomato powder as a natural additive. *LWT – Food Science and Technology*, 44, 307 - 3011.

Feiner, G. (2006). Meat products handbook, Practical science and technology. Boca Raton: CRC Press. (pp. 142 – 156).

Ferguson, L.E. (2010). Meat and Cancer. *Meat Science*, 84, 308 – 313.

Fernández-Ginés, J.M., Fernández-López, J., Sayas-Barberá, E., Sendra, E. y Pérez-Alvarez, J.A. (2003). Effects of storage conditions on quality characteristics of bologna sausages made with citrus fiber. *Journal of Food Science*, 68, 710–715.

Fernández-Ginés, J. M. (2005). Aplicación del subproducto de la industria cítrica en la elaboración de productos cárnicos de pasta fina. *Ph.D. Thesis*. Universidad Miguel Hernández de Elche. Orihuela. Spain.

Fernández-López, J., Pérez-Alvarez, J. A. Sayas-Barberá, E. y López-Santoveña, F. (2002). Reflectance spectra evaluate the effect of spices. *Journal of Food Science*, 67(6), 2410 – 2414.

Fernández-López, J., Sendra, E., Navarro, C., Sayas-Barberá, E., Viuda-Martos, M. y Pérez-Alvarez, J. A. (2009). Storage stability of a high dietary fiber powder from orange by-products. *International Journal of Food Science and Technology*, 44 (4), 748 - 756.

Foodbalt (2008). 3rd Baltic Conference on Food Science and Technology. Latvia University of Agriculture. Jelgava, April 17 – 18. <http://llufb.llu.lv/conference/foodbalt/Foodbalt-Proceedings-2008.pdf> Pág. 41- 45. Accessed Nov 2012

Galindo-Cuspinera, V., Westhoff, D. C. y Rankin, S. A. (2003). Antimicrobial properties of commercial annatto extract against selected pathogenic, lactic acid, and spoilage microorganisms. *Journal of Food Protection*, 66(6), 1074–1078.

Gallego Restrepo, J. A., Ochoa, O.A. y Pérez-Alvarez, J.A (2010) Los espectros de reflexión como herramienta auxiliar para la determinación del color en la carne y los productos cárnicos. *Alimentación, equipos y tecnología*, 250, 36 – 41.

Garcia-Varona, M., Santos, E., Jaime, I. y Rovira, J. (2000). Characterisation of *Micrococcaceae* isolated from different varieties of chorizo. *International Journal of Food Microbiology*, 54(3), 189 -195.

García-Esteban, M., Ansorena, D., Gimeno, O. y Astiasarán, I. (2003). Optimization of instrumental colour analysis in dry-cured ham. *Meat Science*, 63(3), 287-292.

Gonzalez-Martin, M. I., Fernandez-Bermejo, C., Hernandez-Hierro, J. M. y Sanchez-Gonzalez, C. I. (2009). Determination of hydroxyproline in cured pork sausages and dry cured beef products by NIRS technology employing a fiber-optic probe. *Food Control*, 20 (8), 752-755.

Hernández-Cázares, A.S. (2010). Control de calidad y seguridad de la carne y productos cárnicos curados mediante el uso de sensores enzimáticos. *Ph.D. Thesis*. Universidad Politécnica de Valencia.

Honikel, K.O. (1998). Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Science*, 49(4), 447-457.

Honikel, K.O. (2008). The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*, 78, 68 -76.

Hord, N.G., Tang, Y. y Bryan, N.S. (2009). Food sources of nitrates and nitrites: the physiologic context for potential health benefits. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 90, 1-10.

Hsu, J., Arcot, J. y Lee, N.A. (2009). Nitrate and nitrite quantification from cured meat and vegetables and their estimated dietary intake in Australians. *Food Chemistry*, 115, 334 – 339.

Hughes, E. (2004). Determination of nitrate and nitrite in fruit, vegetable and meat products. Campdeny Chorleywood Food Research Association .1-17.

Hu, P., Zhou, G., Xu, X., Li, C. y Han, Y. (2009). Characterization of the predominant spoilage bacteria in sliced vacuum-packed cooked ham based on 16 S rDNA-DGGE. *Food Control*, 20(2), 99–104.

Illescas Hernández, E., Pérez-Alvarez, J.A., Pagán-Moreno, M.J. y Aranda-Catalá, V. (1993). Estudio del efecto de la oscuridad sobre muestras de jamón curado tajado expuestas a diferentes intensidades de luz y temperaturas. In: Anales de Investigación del Master en Ciencia e Ingeniería de Alimentos. Vol. III. Universidad Politécnica de Valencia, España. (pp. 563 – 578)

Jackson, A.L., Sullivan, G.A., Kulchaiyawat, C., Sebranek, J.G. y Dickson, J.S. (2011 a). Survival and growth of *Clostridium perfringens* in commercial no-nitrate-or-nitrite-added (natural and organic) frankfurters, hams and bacon, *Journal of Food Protection*, 74, 410 – 416.

Jackson, A.L., Kulchaiyawat, C., Sullivan, G.A., Sebranek, J.G. y Dickson, J.S. (2011 b). Use of natural ingredients to control growth of *Clostridium perfringens* in naturally cured frankfurters and hams, *Journal of Food Protection*, 74, 417 – 424.

Jafari, M. y Emam-Djomeh, Z. (2007). Reducing nitrite content in hot dogs by hurdle technology. *Food Control*, 18, 1488 – 1493.

Jaworska, G. (2005). Nitrates, nitrites, and oxalates in products of spinach and New Zealand spinach. Effect of technological measures and storage time on the level of nitrates, nitrites, and oxalates in frozen and canned products of spinach and New Zealand spinach. *Food Chemistry*, 93, 395 – 401.

Jens K. S., Møller, J.K., Jensen, J.S., Skibsted, L.H. y Knöchel, S. (2003). Microbial formation of nitrite-cured pigment, nitrosylmyoglobin, from metmyoglobin in model systems and smoked fermented sausages by *Lactobacillus fermentum* strains and a commercial starter culture. *European Food Research and Technology*, 216, 463 – 469.

Karovicova, J. y Kohajdova, Z (2005). Biogenic Amines in Food. *Chemical Papers*, 59, 70 – 79.

Kawahara, Y., Nakamura, M., Sakagami, I. y Suzuki, Y. (2006). Bright Red Color Formation of Cooked Pork Loin Cured with Lactic Acid Bacteria Starter Culture without Adding Nitrite During Low-Temperature Storage. *Food Science and Technology Research*, 12 (2), 101 – 107.

King, N.J. y Whyte, R. (2006). Does it look Cooked? A review of factors that influence cooked meat color. *Journal of Food Science*, 71(4), 31-40

Krause, B.L., Sebranek, J.G., Rust, R.E. y Mendonca, A. (2011) Incubation of curing brines for the production of ready to eat, uncured, no-nitrite-or-nitrate-added, ground, cooked and sliced ham. *Meat Science*, 89, 507 – 513.

Laursen, K., Adamsen, C.E., Laursen, J., Olsen, K. y Møller, J.K.S. (2008). Quantification of zinc-porphyrin in dry-cured ham products by spectroscopic methods Comparison of absorption, fluorescence and X-ray fluorescence spectroscopy. *Meat Science*, 78, 336 -341.

Li, H., Li, C.B., Xu, X.L. y Zhou, G.H. (2012). Effects of illumination and packaging on non-heme iron and color attributes of sliced ham. *Meat Science*, 91, 521 – 526.

Lyon, B.G., Windham, W.R., Lyon, C.E. y Barton, F.E. (2001). Sensory characteristics and near-infrared spectroscopy of broiler breast meat from various chill-storage regimes. *Journal of Food Quality*, 24 (5), 435-452.

Magrinyà, N., Bou, R., Rius, N., Codony, R. y Guardiola, F. (2012). Effect of Fermentation Time and Vegetable Concentrate Addition on Quality Parameters of Organic Botifarra Catalana, a Cured–Cooked Sausage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 6882 – 6890.

Mancini, R.A. y Hunt, M.C. (2005). Current research in meat color. *Meat Science*, 71, 100-121.

Martín, M. (2001). Meat curing technology. In Y.K. Hui, W.K. Nip, R.W. Rogers, O.A. Young, Meat science and applications. Cap 20. New York, USA: Marcel Dekker, Inc. (pp. 1 -17).

Martin, A., Colin, B., Aranda, E., Benito, M. y Cordoba, M. (2007). Characterization of *Micrococcaceae* isolated from Iberian dry-cured sausages. *Meat Science*, 75(4), 696-708

Martinez, S. (2007). Food product introductions continue to set records. Amber Waves. <http://ageconsearch.umn.edu/bitstream/125371/2/FoodProduct.pdf>
Accessed Feb 2013.

Mendoza F., Valous, N., Allen, P., Kenny, T., Ward, P. y Sun, D. (2009). Analysis and classification of commercial ham slice images using directional fractal dimension features. *Meat Science*, 81, 313–320.

Milkowski, A., Garg, H.K., Coughlin, J.R. y Bryan, N.S. (2010). Nutritional epidemiology in the context of nitric oxide biology: A risk– benefit evaluation for dietary nitrite and nitrate: Review. *Nitric Oxide*, 22, 110 – 119.

Miltenburg, G. A., Wensing, T., Smulders, F. J. M. y Breukink, H. J. (1992). Relationship between blood hemoglobin, plasma and tissue iron, muscle heme pigment, and carcass color of veal. *Journal of Animal Science*, 70, 2766–2772.

Minguez-Saura, F., Pérez-Alvarez, J.A., Sayas-Barberá, E. y Aranda-Catalá, V. (1992). Estudio de la conservación del color en el jamón cocido. In Anales de Investigación del Master en Ciencia e Ingeniería de Alimentos.Vol. II. Universidad Politécnica de Valencia, España. (pp. 499 – 516)

Mintel (2013). Consulta personal.

Moarefian, M, Barzegar, M. y Sattari, M. (2011). Cinnamomum Zeylanicum essential oil as a natural antioxidant and antibacterial in cooked sausage. *Journal of Food Biochemistry*. doi: 10.1111/j.1745-4514.2011.00600.x

Møller, J.K.S., Adamsen, C.E., Catharino, R.R., Skibsted, L.H. y Eberlin, M.N. (2007). Mass spectrometric evidence for a zinc–porphyrin complex as the red pigment in dry-cured Iberian and Parma ham. *Meat Science*, 75, 203 – 210.

Morita H., Sakata R. y Nagata Y. (1998). Nitric Oxide Complex of Iron (IX) Myoglobin Converted from Metmyoglobin by *Staphylococcus xylosus*. *Journal of Food Science*, 63, 352 - 355.

NobelPrize. (2012). The Nobel Prize in Physiology or Medicine 1998. Nobelprize.org. http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1998/ Accessed Nov 2012.

NTC 3929. Norma Técnica Colombiana 3929. (1996). Análisis sensorial. Metodología. Métodos del perfil y sabor.

NTC 4129. Norma Técnica Colombiana 4129. (1997). Análisis Sensorial. Guía general para la selección, entrenamiento y seguimiento de evaluadores parte I. Evaluadores seleccionados.

NTC 4130. Norma Técnica Colombiana 4130 (1997). Análisis Sensorial. Guía general para la selección, entrenamiento y seguimiento de evaluadores parte II. Expertos.

NTC 2681. Norma Técnica Colombiana 2681. (2006). Análisis Sensorial. Metodología. Ensayo triangular. Primera actualización.

NTC 5554. Norma Técnica Colombiana 5554. (2007). Carne y productos cárnicos. Preparación de la muestra.

NTC 1325. Norma técnica Colombiana 1325. (2008) Productos cárnicos procesados no enlatados. Quinta actualización.

Ospina-Echeverri, J.C, Sierra-Cadavid, A. y Ochoa-González, O.A. (2011). Substitution of Saturated Fat in Processed Meat Products: A Review. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 52, 113 -122.

Østerlie, M. y Lerfall, J. (2005). Lycopene from tomato products added minced meat: Effect on storage quality and colour. *Food Research International*, 38, 925 – 929.

Ozcan, M. y Akbulut, M. (2008). Estimation of minerals, nitrate and nitrite contents of medicinal and aromatic plants used as spices, condiments and herbal tea. *Food Chemistry*, 106(2), 852-858.

Parks, S., Huett.,D., Campbell, C. y Spohr, L. (2008). Nitrate and nitrite in Australian leafy vegetables. *Australian Journal of Agricultural Research*, 59 (7), 632 – 638.

Parthasarathy, D. y Bryan, N. (2012). Sodium nitrite: The “cure” for nitric oxide insufficiency: Review. *Meat Science*, 92, 274 – 279.

Pegg, R. y Shahidi, F. (2000). Possible substitutes for nitrite. In Nitrite curing of meat. The N- Nitrosamine problem and nitrite alternatives. Connecticut: Food y Nutrition Press Inc. (pp. 209 – 250).

Pennisi Forell, S.C., Ranalli, N., Zaritzky, N.E., Andrés, S.C. y 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-Alvarez, J. A., Sanchez-Rodriguez, E., Fernández-López, J., Asunción Gago-Gago, M., Ruiz-Peluffo, C., Rosmini, M., Pagan-Moreno, M. J., Lopez-Santovenia, F. y Aranda-Catala, V. (1997). Chemical and color characteristics of 'lomoembuchado' during salting seasoning. *Journal of Muscle Foods*, 8, (4), 395-411.

Pérez-Alvarez, J.A. y Fernández-López, J. (2000). Aspectos físicos, fisiológicos, psicológicos, químicos e instrumentales para la determinación del color en los alimentos. Elche: Ed. Universidad Miguel Hernández de Elche.

Pérez-Alvarez, J.A., Fernández-Ginés J. M., Fernández-López J. y Sayas-Barberá, E. (2002). Procesos tecnológicos en la elaboración de productos de origen animal. Elche: Ed. Universidad Miguel Hernández. (p 139).

Pérez-Alvarez J.A. (2006) Color. In Y. H. Hui., I, Guerrero., M.R. Rosmini Ciencia y Tecnología de Carnes. Mexico city: Ed. Limusa S.A. de C.V.

Pérez-Alvarez J.A. y Fernández-López J. (2009 a). Color characteristics of meat and poultry processing. In Handbook of processed meats and poultry analysis. Boca Raton: CRC Press.(pp. 355 – 373).

Pérez-Alvarez J.A., y Fernández-López J, (2009 b). Color measurements on muscle based foods. *In Handbook of muscle foods analysis*. Boca Raton: CRC Press Boca Raton Florida. (pp. 467 – 478).

Pérez-Rodríguez, M.L., Bosch – Bosch, N. y García – Mata, M. (1996). Monitoring nitrite and nitrate residues in frankfurters during processing and storage. *Meat Science*, 73, 44-65.

Perigo, J.A., Whiting, E. y Bashford, T.E. (1967). Observations on the inhibition of vegetative cells of *Clostridium sporogenes* by nitrite which has been autoclaved in a laboratory medium, discussed in the context of sublethally processed cured meats. *Journal of Food and Technology*, 2, 377-397.

Petersson, J. (2008). Nitrate, Nitrite and Nitric Oxide in Gastric Mucosal Defense. <http://uu.diva-portal.org/smash/get/diva2:171763/FULLTEXT01> Accessed Feb 2013.

Pinotti, A., Graiver, N., Califano, A. y Zaritzky, N. (2001). Diffusion in of nitrite and nitrate salts in pork tissue in the presence of sodium chloride. *Journal of Food Science*, 67, 2165- 2171.

Prieto, N., Roehe, R., Lavin, P., Batten, G. y Andres, S. (2009). Application of near infrared reflectance spectroscopy to predict meat and meat products quality: a review. *Meat Science*, 83, (2), 175-186.

R DEVELOPMENT CORE TEAM.R. (2008). A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria; ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

R DEVELOPMENT CORE TEAM.R. (2010). A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria; ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

Ripoll, G., Joy, M., Muñoz, F. y Albertí, P. (2008). Meat and fat colour as a tool to trace grass-feeding systems in light lamb production. *Meat Science*, 80, 239–248.

Sakata, R. (2010). Prospects for new technology of meat processing in Japan: Review. *Meat Science*, 86, 243 – 248.

Sampaio, G., Castellucci, C., Pinto e Silva, M. y Torres, E. (2004). Report: Effect of fat replacers on the nutritive value and acceptability of beef frankfurters. *Journal of food composition and analysis*, 17, 469 - 474.

Sammel, L.M. y Claus, J.R. (2003) Whey protein concentrates effects on pink color development in a cooked ground turkey breast model system. *Meat Science*, 65, 1293–1299.

Sammet, K., Duehlmeier, R., Sallmann, H.P., von Canstein, C, von Mueffling, Y. y Nowak, B. (2006). Assessment of the antioxidative potential of dietary supplementation with a-tocopherol in low-nitrite salami-type sausages. *Meat Science*, 72, 270 - 279.

Sánchez-Zapata, E., Fernández-López, J., Sayas, E., Sendra, E., Navarro, C. y Pérez-Alvarez, J.A. (2008). Estudio orientativo para la caracterización colorimétrica de distintos productos de pescado ahumados y seco-salados presentes en el Mercado español. *Óptica pura y aplicada*, 41(3), 273 – 279.

Sánchez-Zapata, E.J., Viuda-Martos M., Navarro, C. y Pérez-Alvarez J.A. (2009). Non-meatingredients. In. I. Guerrero-Legarreta., Y. H. Hui.,A.D. Alarcón-Rojo., C. Alvarado.,A.S. Bawa.,F. Guerrero-Avenidaño.,J. Lunden.,L. McKee.,J.A. Pérez-Alvarez., Y. Mine.,C.M. Owens.,J.M. Regenstein., M.R. Rosmini., J. Soriano-Santos., J. E. Wu. Handbook of Poultry Science and Technology (Volume2, chapter 10). London: Wiley.

Sánchez-Zapata, E.J., Pérez-Álvarez, J. A., Fernández-López, J. y Barber-Valles, X. (2010). Descriptive study of reflectance spectra of Hake (*Merluccius australis*), Salmon (*Salmosalar*) and light and dark muscle from Tuna (*Thunnus thynnus*). *Journal of Food Quality*, 33, 391 -403.

Sebranek, J. y Bacus, J. (2007 a). Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? *Meat Science*, 77: 136-145.

Sebranek, J. y Bacus, J. (2007 b) Natural and organic cured meat products: Regulatory, Manufacturing, Marketing, Quality and Safety Issues. *American Meat Science Association*. White Paper Series. Number 1.

Sebranek, J., Jackson-Davis, A., Myers, K. y Lavieri, N. (2012). Beyond celery and starter culture: Advances in natural/organic curing processes in the United States. *Meat Science*, 92, 267 – 273.

Seyfert, M., Kropf, D.H. y Hunt, M.C. (2004). Final Cooked Temperature effects of Ground Pork on its Ability to react with nitrite. *Journal of Food Science*, 69 (7), 506 -510.

Shahidi, F., Pegg, R.B. y Sen, N.P. (1994). Absence of volatile N-nitrosamines in cooked nitrite-free cured muscle foods. *Meat Science*, 37(3), 327-336.

Shahidi, F., Pegg, R.B. y Fox Jr, J.B. (1997). Unraveling the chemical identity of meat pigments. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37(6), 561-589.

Shahid-Umar, A. y Iqbal, M. (2007). Nitrate accumulation in plants, factors affecting the process, and human health implications: A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 27(1), 45-57.

Shahid-Umar, A., Iqbal, M. y Abrol, Y. (2007). Are nitrate concentrations in leafy vegetables within safe limits? *Current Science*, 92(3), 355 – 360.

Sindelar, J., Cordary, J., Sebranek, J., Love, J. y Ahn, D. (2007 a). Effects of vegetable juice powder concentration and storage time on some chemical and sensory quality attributes of uncured, emulsified cooked sausages. *Journal of Food Science*, 72(5), 323 -332.

Sindelar, J., Cordary, J., Sebranek, J., Love, J. y Ahn, D. (2007 b). Effects of varying levels of vegetable juice powder and incubation time on color, residual nitrate and nitrite, pigment, pH, and trained sensory attributes of ready to eat uncured ham. *Journal of Food Science*, 72 (6), 388 -395.

Sindelar, J., Cordray, J., Olson, D., Sebranek, J. y Love, J. (2007). Investigating Quality Attributes and Consumer Acceptance of Uncured, No-Nitrate/Nitrite-Added Commercial Hams, Bacons, and Frankfurters. *Journal of Food Science*, 72 (8), 551 – 559.

Sindelar, J., Terns, M., Meyn, E. y Boles, J. (2010). Development of a method to manufacture uncured, No-Nitrate/Nitrite added whole muscle jerky, *Meat Science*, 86, 298 – 303.

Sindelar, J. y Milkowski, A. (2012). Human safety controversies surrounding nitrate and nitrite in the diet. *Nitric Oxide*, 26, 259 – 266.

Soltanizadeh, N. y Kadivar, M. (2012). A new, simple method for the production of meat-curing pigment under optimized conditions using response surface methodology. *Meat Science*, 92, 538 -547.

Sørheim, O., Langsrud, O., Conforth, D.P., Johannessen, T.C., Slinde, E., Berg, P. y Nesbakken, T. (2006). Carbon Monoxide as a Colorant in Cooked or Fermented Sausages. *Journal of Food Science*, 71(9), 549 – 555.

Sullivan, G., Jackson-Davis, A., Schrader, K., Xi, Y., Kulchaiyawat, C., Sebranek, J. y Dickson, J. (2012). Survey of naturally and conventionally cured commercial frankfurters, ham, and bacon for physio-chemical characteristics that affect bacterial growth. *Meat Science*, 92, 808 – 815.

Taketani, S., Ishigaki, M., Mizutani, A., Uebayashi, M., Numata, M., Ohgari, Y. y Kitajima, S. (2007). Heme Synthase (Ferrochelatase) Catalyzes the Removal of Iron from Heme and Demetalation of Metalloporphyrins. *Biochemistry*, 46, 15054 – 15061.

Terns, M., Milkowski, A., Rankin, S. y Sindelar, J (2011 a). Determining the impact of varying levels of cherry powder and starter culture on quality and sensory attributes of indirectly cured, emulsified cooked sausages. *Meat Science*, 88, 311 – 318.

Terns, M.; Milkowski, A., Claus, J. y Sindelar, J. (2011 b). Investigating the effect of incubation time and starter culture addition level on quality attributes of indirectly cured, emulsified cooked sausages. *Meat Science*, 88, 454 – 461.

Tompkin, R. B. (2005). Nitrite. In P. M. Davidson, J. N. Sofos, y A. L. Branen (Eds.), *Antimicrobials in food* (3rd ed.). Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor y Frances Group. Cui

USA (2005). Code of Federal Regulations, Title 21, Volume 3, Food and Drugs. Part 170, Food Additives, §§ 170.60, 172.175, 172.170.

USDA. (1995). Processing inspector's calculations handbook. United States Department of Agriculture. FSIS Directive 7620.3. <http://www.fsis.usda.gov/OPPDE/rdad/FSISDirectives/7620-3.pdf> Accessed Feb 2013.

USDA .(2005). Food standards and labeling policy book. http://www.fsis.usda.gov/oppde/larc/policies/labeling_policy_book_082005.pdf
Accessed Nov 2012.

Valous N.K., Mendoza F., Sun D.W. y Allen P. (2009). Colour calibration of a laboratory computer vision system for quality evaluation of pre-sliced hams. *Meat Science*, 81, 132–141.

Vercammen, A., Vanoirbeek, K.G.A., Lurquin, I., Steen, L., Goemaere, O., Szczepaniak, S., Paelinck, H., Hendrickx, M.E.G. y Michiels, C.W. (2011). Shelf-life extension of cooked ham model product by high hydrostatic pressure and natural preservatives. *Innovate Food Science and Emergin Technologies*, 12, 407 -415.

Viuda-Martos, M., Fernández-López J., Sayas-barbera., E, Sendra, E., Navarro, C. y Pérez-Alvarez J.A. (2009). Citrus co-products as technological tool to reduce residual nitrite content in meat products. *Journal of Food Science*, 74, 93 -100.

Vossen, E., Doolaee, E., Demewez Moges, H., De Meulenaer, B., Szczepaniak, S., Raes, K. y De Smet, S. (2012). Effect of sodium ascorbate dose on the shelf life stability of reduced nitrite liver pâtés. *Meat Science*, 91, 29 – 35.

Wakamatsu, J., Nishimura, T. y Hattori, A. (2004 a). A Zn–porphyrin complex contributes to bright red color in Parma ham. *Meat Science*, 67, 95 – 100.

Wakamatsu, J., Okui, J., Ikeda, Y., Nishimura, T. y Hattori, A. (2004 b). Establishment of a model experiment system to elucidate the mechanism by which Zn–protoporphyrin IX is formed in nitrite-free dry-cured ham. *Meat Science*, 68, 313 – 317.

Wakamatsu, J., Okui, J., Hayashi, N., Nishimura, T. y Hattori, A. (2007). Zn protoporphyrin IX is formed not from heme but from protoporphyrin IX. *Meat Science*, 77, 580 – 586.

Wakamatsu, J., Hayashi, N., Nishimura, T. y Hattori, A. (2010). Nitric oxide inhibits the formation of zinc protoporphyrin IX and protoporphyrin IX. *Meat Science*, 84, 125 – 128.

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.

Winter, CK. (2006).Organic foods. *Food Technology*, 60(10), 44-48.

Wyszecki, G. y Styles, W. G. (1982). Color science: Concepts and methods, quantitative data and formulae . 2nd ed: John Wiley y Sons, Inc.

Xi, Y., Sullivan,G., Jackson.A., Zhou, G. y Sebranek, J.(2012). Effects of natural antimicrobials on inhibition of *Listeria monocytogenes* and on chemical, physical and sensory attributes of naturally-cured frankfurters. *Meat Science*, 90, 130 – 138.

Young, O.A. y West, J. (2001). Meat color. In Y.K. Hui, W.K. Nip,R.W. Rogers, O.A. Young, Meat science and applications. Cap. 3. New York, USA: Marcel Dekker, Inc.

Zarringhalami, S., Sahari, M.A. y Hamidi-Esfehani, Z. (2009). Partial replacement of nitrite by annatto as a colour additive in sausage. *Meat Science*, 81, 281-284.

Zhang, X., Kong, B. y Xiong Y. (2007).Production of cured meat color in nitrite-free Harbin red sausage by *Lactobacillus fermentum* Fermentation. *Meat Science*, 77, 593-598

8 PUBLICACIONES RELACIONADAS CON LA TESIS

8.1 Revistas no Indexadas:

8.1.1 Alimentación Equipos y Tecnología:

“Los espectros de reflexión como herramienta auxiliar para la determinación del color en la carne y los productos cárnicos”

Autores: J.A. Gallego Restrepo; J.A. Pérez Álvarez; O.A. Ochoa.

2010. Vol: 250: 36-41

8.1.2 Journal of Meat Science and Technology

“Use of celery extract and starter culture (*Staphylococcus carnosus*) as an alternative sources of sodium nitrite in cooked ham: influence upon colour”

Autores: J.A. Gallego Restrepo; O.A. Ochoa; J.A. Pérez Álvarez.

2013. Vol 1: 14-23



LOS ESPECTROS DE REFLEXIÓN COMO HERRAMIENTA AUXILIAR PARA LA DETERMINACIÓN DEL COLOR EN LA CARNE Y LOS PRODUCTOS CÁRNICOS

EL COLOR INFLUYE EN EL CONSUMIDOR PARA SELECCIONAR LA CARNE Y LOS PRODUCTOS CÁRNICOS. POR ELLO, SE LE DEBE CONSIDERAR UN FACTOR IMPORTANTE EN EL ÁMBITO DEL CONTROL DE CALIDAD, PROCESOS Y DESARROLLO DE NUEVOS PRODUCTOS. EL USO DE LA ESPECTROFOTOMETRÍA DE REFLEXIÓN, COMO HERRAMIENTA PARA DETERMINAR EL COLOR, ES SENCILLA, RÁPIDA, NO INVASIVA Y CON UNA GRAN REPRODUCIBILIDAD. LOS ESPECTROS PUEDEN APORTAR INFORMACIÓN SOBRE LOS PROCESOS, INGREDIENTES Y ADITIVOS, ASÍ COMO SOBRE LA VIDA ÚTIL. SIN EMBARGO, SE DEBE CONSIDERAR EL PH, LA ESTRUCTURA Y EL GRADO DE INTEGRIDAD DEL MÚSCULO, LA ORIENTACIÓN DE LAS FIBRAS Y EL AGUA LIBRE EN SUPERFICIE



LOS ESPECTROS DE ABSORCIÓN Y REFLEXIÓN APORTAN INFORMACIÓN MUY ÚTIL PARA EVALUAR LA INFLUENCIA DE PROCESOS, INGREDIENTES Y ADITIVOS, ASÍ COMO DETERMINAR LA VIDA ÚTIL DE UN ALIMENTO

En la industria cárnica, la colorimetría y la espectrofotometría de reflexión están escasamente implantadas, a pesar de su gran potencial

J.A. Gallego Restrepo¹
J.A. Pérez Álvarez²
O.A. Ochoa¹

¹ Centro de Investigación y Desarrollo Cárnico CI+D, Industria de Alimentos Zenú S.A.S., Colombia

² Grupo de Investigación de Industrialización de Productos de Origen Animal (IPSOA), Departamento de Tecnología Alimentaria, Grupo REVE, Universidad Miguel Alemán (UMH)

EL COLOR ES UNO DE LOS FACTORES que más afecta a la apariencia de la carne y de los productos cárnicos e involucra tanto a las materias primas, procesos, etc., como a su vida útil. Por ello, el color es de suma importancia al generar la primera impresión, y ésta influye de forma significativa en la selección o no, por parte de los consumidores, en el punto de venta (1).

El grado y tipo de modificaciones en el color de la carne y de los productos cárnicos es una herramienta importante para el control de calidad y sirve también para definir la vida útil de los mismos. Además, se debe tener muy en cuenta que los consumidores utilizan el color de forma empírica, como indicador de frescura y salubridad de la carne y los productos cárnicos (2).

En muchos sectores de la industria cárnica, al color se le considera, únicamente, desde el punto de vista subjetivo. Sin embargo, el color se puede considerar como una herramienta objetiva muy útil, por ello, es importante definir al color.

El color se podría definir como la sensación subjetiva, resultado de la compleja serie de respuestas fisiológicas y psicológicas a la radiación electromagnética de longitudes de onda comprendidas en el intervalo de 400-700 nm (3).

Esta definición involucra distintos aspectos, que se deben tener en cuenta en el control de calidad, procesos y desarrollo de nuevos productos cárnicos. Al considerar al color como una herramienta importante para la industria cárnica, se debe tener en cuenta los siguientes factores: la fisiología de la visión, la psicología del observador, la composición química y las propiedades físicas de la carne.

Determinación del color de la carne y los productos cárnicos

De una forma sencilla, el color de la carne y de los productos cárnicos no es ajeno a las características anteriormente mencionadas.

Depende del contenido y del tipo de pigmentos (hemopigmentos y carotenos), de su distribución en el alimento, de las estructuras a nivel macroscópico (emulsiones gruesas o pastas finas, etc.) y microscópico (ultraestructuras) del mismo, de la fuente luminosa (luz incandescente, fluorescente, etc.) a la que está sometido, del observador (consumidor) y del entorno en el que se encuentra (3).

Tradicionalmente, la medición objetiva del color en la carne y en los productos cárnicos procesados se ha realizado mediante el uso de los sólidos o espacios de color (Hunter Lab y CIEL*a*b*), utilizando las coordenadas de color luminosidad (L): coordenada rojo/verde (a) y amarillo/azul (b). Desde el año 1995, se ha recomendado el uso del espacio de color CIEL*a*b* para la determinación del color de la carne y de los productos cárnicos, estableciendo el uso del iluminante D65 y el observador estándar 10° (4).

Espectrofotometría de reflexión

La espectrofotometría de reflexión permite analizar la respuesta espectral del alimento a la radiación visible (400-700 nm) o al infrarrojo cercano (NIR: >700 nm a 2.500 nm), y dichas respuestas pueden usarse en gran medida como huellas digitales.

Las metodologías aplicadas para la determinación de las "huellas digitales" es fácil de manejar, rápida, no invasiva y con una gran reproducibilidad.

LA ESPECTROFOTOMETRÍA DE REFLEXIÓN PERMITE ANALIZAR LA RESPUESTA ESPECTRAL DEL ALIMENTO A LA RADIACIÓN VISIBLE (400-700 NM) O AL INFRARROJO CERCANO (NIR: >700 NM A 2.500 NM). DICHAS RESPUESTAS PUEDEN USARSE COMO "HUELLAS DIGITALES"



Los espectros de absorción y reflexión pueden aportar información muy útil a la hora de evaluar la influencia de distintos procesos, ingredientes y aditivos, así como en la determinación de su vida útil. Por ejemplo, en el rango espectral en la región del NIR, se puede determinar la composición proximal de la carne y los productos cárnicos, el contenido energético, la capacidad de retención de agua y la ternura (5).

Mientras que, en la zona del visible, la información proporcionada está estrechamente relacionada con la percepción visual (6).

Por ello, se ha intensificado su uso como herramienta en la investigación (básica y aplicada), ya que se pueden verificar los cambios que tienen lugar en los

pigmentos (hemínicos) durante los procesos tecnológicos aplicados a la carne y a los productos cárnicos, sin necesidad de alterar la muestra (3).

Sin embargo, en la determinación del color por espectrofotometría de reflectancia, es muy importante considerar el pH, la estructura y grado de integridad del músculo, la orientación de las fibras (perpendicular o paralela), el agua libre en superficie, el contenido de grasa en el músculo de la carne (intramuscular: entreverado, marmoleado), así como en los productos cárnicos (distribución a un nivel macro y microscópico), y la concentración de pigmentos: hemopigmentos (hemoglobina, Hb, y mioglobina, Mb, y los citocromos y carotenos (1), ya que los valores de reflexión pueden verse modificados.

Pérez Álvarez y Fernández López (3) han demostrado que, en muchos casos, la incorporación de ingredientes, aditivos o tratamientos no modifican la forma espectral si los valores de los mismos incrementan o disminuyen. Así, en las figuras 1 y 2, se puede apreciar cómo la modificación del pH, por efecto de distintas concentraciones de ácido láctico y sal, incrementan y reducen,

CONCEPTOS BÁSICOS

Al analizar el color, se debe considerar la fisiología de la visión, la psicología del observador, la composición química y las propiedades físicas de la carne y de los productos cárnicos

En la industria cárnica, la colorimetría y la espectrofotometría de reflexión están escasamente implantadas, a pesar del gran potencial que tienen en este sector

Los espectros de reflexión permiten verificar los cambios en las ultraestructuras del alimento y en los pigmentos, causados por los procesos tecnológicos aplicados

Los índices son relaciones de longitudes de onda, que permiten determinar las variaciones en color de la carne y de los productos cárnicos

Los cocientes y diferencias en los valores de reflectancia permiten estimar el estado de la mioglobina, responsable del color de la carne fresca o curada

respectivamente, los valores del espectro de reflexión. Una herramienta importante en la medición espectral es la determinación de los puntos isobésticos. En el color de la carne, un punto isobéstico (PI) es aquel en el cual, a una misma longitud de onda, coinciden los distintos estados de la mioglobina.

En la figura 3, se pueden apreciar los PI de diferentes estados de la Mb (OMb: Oximioglobina; MMb: Metamioglobina y DMb: Deoximioglobina).

Índices basados en los espectros de reflexión

A partir de los espectros de reflexión (visible) se han determinado relaciones de distintas longitudes de onda que permiten determinar las variaciones en color de la carne y de los productos cárnicos; dichas relaciones se conocen como los índices. La utilización de estos índices evita las variaciones en las medidas debido a factores como el pH o la estructura muscular como se mencionó anteriormente (1). Los índices (cocientes y diferencias

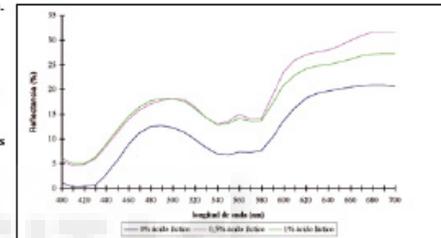


Figura 1. Espectros de reflexión (400-700 nm) de magro de cerdo a diferentes concentraciones de ácido láctico (adaptada de 2).

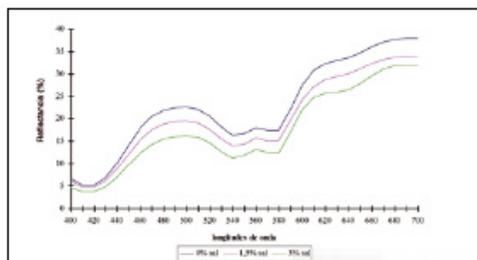


Figura 2. Espectros de reflexión (400-700 nm) de magro de cerdo adiccionado con distintas concentraciones de sal (adaptada de 3)

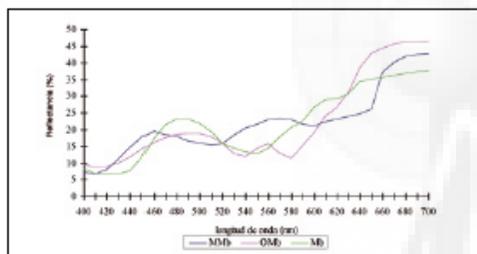


Figura 3. Espectros de reflexión (400-700 nm) de distintos estados de la mioglobina de magro de cerdo (adaptada de Pérez Álvarez y Fernández López (adaptada de 3)

LOS COCIENTES Y DIFERENCIAS EN LOS VALORES DE REFLECTANCIA DESCUBREN EL ESTADO DE LA MIOGLOBINA, QUE ES LA RESPONSABLE DEL COLOR DE LA CARNE FRESCA O CURADA

Esta relación permite estimar la proporción de pigmentos Fe (II) (Mb y NOMb) y de pigmentos Fe (III) (MMb) en los productos cárnicos. Es particularmente sensible a la intensidad de desarrollo de color curado (1, 4). Permite evaluar el grado de curado y de decoloración del producto. La ventaja que presenta este cociente de reflectancia, además de estar estrechamente correlacionado con la apreciación visual, es que minimiza el efecto debido a la concentración de pigmentos (4, 8, 10).

• **R630/R580 (ITP)**
Este índice es un buen indicador de los cambios de color en la carne fresca y, en especial, cuando se producen cambios del marrón al rojo en carne tratada térmicamente (4).

• **R630 – R580**
En carne de bovino, esta diferencia presenta una buena correlación entre el proceso de maduración y su aceptación por parte del consumidor (11). Esta diferencia es la relación más sensible a las modificaciones que ocurren durante la elaboración de los productos cárnicos, pudiéndose utilizar, en principio, como herramienta para control del proceso.

de longitudes de onda), obtenidos a partir de los distintos PI, permiten, por ejemplo en la carne fresca, determinar la proporción de cada uno de los estados de la mioglobina (MMb, OMb y DMb) y, con ello, hacer una estimación indirecta de la vida útil de la misma (4). Mientras, en los productos crudo-curados (madurados), y en los curados tratados térmicamente (cocidos y pastas finas), permiten seguir la evolución del color curado, así como su decoloración.

Los cocientes de reflectancia más utilizados para estimar los diferentes estados de la mioglobina en la carne y en los cárnicos son los siguientes: R560/R500 (IN), R650/R570 (ID), R630/R580 (ITP) (7, 8).

En algunos casos, además de estos cocientes, se puede utilizar la diferencia R630 – R580 (9). Cada una de estas relaciones permite estimar el estado en el que se encuentra el pigmento que es responsable del color que tengan la carne fresca o curada.

• **R560/R500 (IN)**
Determina la proporción relativa de pigmentos Fe (II) nativos y de los pigmentos Fe (II) estabilizados por nitrosación, la relación entre la Mb y la nitrosomioglobina (NOMb). Representa la eficacia del proceso de curado (1, 7). Tiene especial interés para determinar la decoloración de la superficie de un producto expuesto a la luz y al aire ya que la desaparición del color rojo brillante y la aparición del color rojo-marrón es fuerte cuando la proporción de los nitrosopigmentos es escasa (7, 8).

• **R650/R570 (ID)**

EN PROYECTO...

Un grupo de científicos de la Universidad de Maastricht (Países Bajos), que participa en el consorcio holandés de investigación "Carne in Vitro", está trabajando en un proyecto para obtener carne de porcino en el laboratorio. Aunque los científicos han obtenido carne de cerdo desde 2006, no les acaba de convencer, ya que se diferencia de la original en que tiene una textura más plástica y menos firme. Esta tecnología -que consiste en tomar las células germinales de un cerdo y multiplicarlas por un millón- tiene un doble propósito: primero, reducir el número de animales que se tendrían que criar para alimentar a la población, reduciendo así el impacto ambiental; y segundo, crear alimentos genéticamente funcionales, que aporten beneficios más allá de la nutrición básica con el fin de curar enfermedades. Otros países como EE UU, Escandinavia y Japón trabajan también en este tipo de proyecto.

A nivel industrial, la determinación objetiva del color, mediante la colorimetría y la espectrofotometría, está aún escasamente difundida a pesar del gran potencial que tiene esta herramienta en el sector cárnico.

• REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA DE AUTORES
Publicación gratuita de acceso abierto desde
el repositorio en almacenamiento.uma.es

Table of Contents:

Sr. No.	Title	Pages
1	Processing Characteristics of Buffalo Meat- A Review by G. Kandeepan, S.K. Mendiratta, V. Shukla and M.R. Vishmuraj	01-13
2	Use of Celery Extract and Starter Culture (<i>Staphylococcus carnosus</i>) as An Alternative Sources of Sodium Nitrite in Cooked Ham: Influence Upon Colour by J.A. Gallego-Restrepo, O.A. Ochoa and J.A. Pérez-Alvarez	14-22
3	Pork Specific Polymerase Chain Reaction Assay for Authentication of Meat and Meat Products by B. G. Mane, S. K. Mendiratta and A. K. Tiwari	23-29
4	Storage Quality of Chicken Meat Mince Incorporated Cookies Under Aerobic Packaging at Ambient Temperature by Raj Kumar Berwal, Nita Khanna and Rekha Berwal	30-38
5	Effect of Added Soy Protein on Physico-chemical Properties of Chevron Patties by Saket Kumar Yadav, Vinay Kumar Tanwar, Jitendra Kumar Sharma and Surbhi Yadav	39-44

Decision on Manuscript No. JMST-2013-103

De: jnst@jakraya.com
Enviado: sábado, 22 de junio de 2013 20:36:55
Para: J.A. Pérez-Alvarez (ja.perez@umh.es)
1 archivo adjunto
Article_2.doc (554,5 kB)

Dear Dr. J. A. Perez-Alvarez,

I write to inform you that your manuscript # JMST-2013-103 entitled "Use of Celery Extract and Starter Culture (*Staphylococcus carnosus*) as An Alternate Sources of Sodium Nitrite in Cooked Ham: Influence Upon Colour" has been accepted for publications in the Journal of Meat Science and Technology. Your article will be published in June, 2013 issue.

Kindly return the e-mail attached formatted article after final correction in red colour (if any) within next 48 hrs. Otherwise, we will publish your article online, if not return within 48 hrs.

Thank you for considering the Journal of Meat Science and Technology for the publication of your research.

Sincerely,

Editor

Journal Editorial Office

Journal of Meat Science and Technology

Jakraya Publications Private Limited

Pune, INDIA



RESEARCH ARTICLE

Use of celery extract and starter culture (*Staphylococcus carnosus*) as an alternative sources of sodium nitrite in cooked ham: influence upon colour

J.A. Gallego-Restrepo¹, O.A. Ochoa¹ and J.A. Pérez-Alvarez^{2*}

¹Centro de Investigación y Desarrollo Cárnico (CI+D). Industria de Alimentos Zenú S.A.S. Carrera 64 C No 104 -03. Medellín, Colombia.

²IPOA Research Group (UMH-1 and REVIV-Generalitat Valenciana). Agro-Food Technology Department. Miguel Hernández University. Crta. Beniel km. 3,2. E-03312 Orihuela, Alicante, Spain.

Received Date: 18/04/2013
Accepted Date: 20/06/2013
Published Date: xx/06/2013

Abstract

The effect of a new source of nitrites from vegetable origin was evaluated. A celery extract (CE) and holding time on the colour, reflectance spectrum, pH and residual nitrite in Medellin-type cooked ham (MCH), as well as effects of the cooking and cooling processes was studied. The CE was incorporated as a powder at concentrations of 0.2, 0.3 and 0.4%. The holding time was set at 12, 18 and 24 h. The control, to which only nitrite was added, showed a significantly higher residual nitrite content than the other treatments used. Two colour

zones were identified in all MCH containing celery extract, the peripheral zone differing significantly from the control values for the colour coordinates of lightness (L*), red-green (a*) and yellow-blue (b*). The reflectance spectrum for the external zone differed between the different experimental treatments and the control, especially for yellow and red wavelengths.

Keywords: cooked ham; nitrite substitutes; celery extract; colour; reflectance spectroscopy

***Corresponding author:** José Angel Pérez Alvarez. Tel: +34 96 674 9739; Fax: +34 96 674 96 77. E-mail: ja.perez@umh.es

Introduction

At present, nitrite is added directly as an ingredient for curing meats, although many attempts have been made to replace (Shahidi *et al.*, 1994; Shahidi *et al.*, 1997; Pegg and Shahidi, 2000) or reduce it (Alesón-Carbonell *et al.*, 2003; Fernández-Ginés *et al.*, 2003; Jafari and Emam-Djomeh, 2007; Fernández-López *et al.*, 2009; Zarringhalami *et al.*, 2009). In this respect, it has been found that plants and their extracts can be used as indirect sources of nitrate (Shahid-Umar and Iqbal, 2007; Shahid-Umar *et al.*, 2007; Parks *et al.*, 2008) in the production of meat products (Sebranek and Bacus, 2007). Sindelar *et al.* (2007) mentioned that certain plants are capable of storing nitrate in their structures, and that if added to meat products along with suitable starter cultures (nitrate-reductants), the nitrites necessary for transforming meat into a cured product may be generated in the matrix.

The most widely used plant extract in this field is celery extract (CE) since, unlike other vegetables; celery is highly compatible with cured meats since it has a low pigment concentration (carotenoids, anthocyanins or chlorophyll). From a

sensorial point of view, Sebranek and Bacus (2007), mention that celery extracts do not significantly modify the taste of the products. Moreover, in many meat formulations, especially cooked and emulsified meat products, celery is used as spice (Pérez-Alvarez *et al.*, 2002).

In general, the colour of meat products can be affected by several factors, some of them affected the ultrastructure. Thus ultra-structural changes can affect meat product appearance. Several technological factors and ingredients usually used in meat processing can affect directly or indirectly the meat appearance (meat colour) for example freezing and thawing techniques or addition of functional ingredients (Pérez-Alvarez and Fernández-López, 2009). According to Mendoza *et al.* (2009), the final colour of cooked ham depends on the formulation, microstructure imparted to the ham during fabrication (i.e., due to curing, roasting, cooking, smoking, and cooling processes), and storage conditions among others. Such differences in appearance are expected to be specific for each ham type. The specific colour characteristics of a specific cooked ham type can be used initially as a fingerprint. Thus colour coordinates and reflectance spectra could be regarded as useful tools not only to objectively check *in situ* the quality specifications during fabrication but also to judge the final product quality. Therefore, the substitution of nitrite by natural sources that contain nitrate requires, from a technological and scientific point of view, more information before new products can be launched.

Pérez-Alvarez (2006) describes the necessity to establish specific colour descriptors that specifically describe cooked meat products. Thus colour characteristics of cooked ham must be clearly specific. The

objective of this study was to determine the influence of using CE and different holding times on the colour characteristics, reflectance spectra, pH and residual nitrite levels in a Medellin-type cooked ham made according to the Colombian industrial elaboration process.

Materials and Methods

Raw material and Formulation

In this study was elaborated a Medellin-type cooked ham. The control formula was as follows: 53% lean pork meat, 29% water (ice), 6% wheat starch, 3.8% mixture of spices and commercial flavourings (w/w), 2.5% soy protein (w/w), 2.5% sodium lactate (w/w), 2.2% iodised salt (w/w), 0.5% sodium polyphosphates (w/w), 0.5% refined carrageenin (w/w), 500 mg/kg sodium ascorbate, 350 mg/kg sodium nitrite, all approved for use in foods. None of the natural or artificial colorants usually used in this type of product was used since it was intended that any effect on the resulting colour would be the effect of the factors under study.

Using the control formula (0% CE and 24 h holding time) as a base, two different concentrations (0.2% and 0.4% CE) plus an intermediate value (0.3% CE) with two different holding times (12 h and 24 h) with a central time (18 h) were used to evaluate the behaviour of the response variables. In this case the complete experimental layout is depicted in Table 1. The central point was set to verify whether the interaction was statistically significant or, in other words, to establish whether there was a non linear relationship between concentrations and holding times in the response surface.

Table 1: Randomized 2*2 with central point and a control level statistical model for the elaboration process of Medellin-type cooked ham (MHC) using different concentrations of celery extract (CE).

TREATMENT (Cmb)	% CE	RESTING TIME (h)	Batch 1			Batch 2			Batch 3		
1	0	24	1			2			3		
2	0.2	12	4			5			6		
3	0.3	18	7	8	9	10	11	12	13	14	15
4	0.4	12	16			17			18		
5	0.2	24	19			20			21		
6	0.4	24	22			23			24		

Cmb: Combinations

The starter culture, *Staphylococcus carnosus* (culture CS 299), was used at 0.02% weight of the formula in all cases where CE (Vegetable Juice Powder Natural NA) was used. Both were provided by CHR Hansen Colombia S.A.

Mixing process: The products were prepared in the pilot plant of Industria de Alimentos Zenú S.A.S., Medellín, Colombia, using the formula described below. The lean pork meat (kept at 2 ± 1 °C) was reduced in a grinder PT 98 (Mainca, Barcelona Spain) using 5 mm discs to favour the distribution of the brine within the meat pieces. The brine was previously prepared in an industrial liquidiser CLE 12/90 (Colcocinas, Medellín, Colombia), adding the ingredients in an order that favoured their total homogenisation. Both the ground meat and the brine were then placed in a 100 L tumbler, Model TV 100, (Talsa, Medellín, Colombia) for an hour at 16 rpm to facilitate the incorporation of the brine in the meat and the extraction of the protein necessary to bind the pieces. The holding time of 12 h and 24 h plus 18 h for the central point (a factor in the experimental design, where 24 h was used for the control level) was counted from the moment tumbling had finished. This took place in a refrigerated chamber at 4° C and was intended to favour the chemical and biochemical reactions that influence the

sensorial impact of the final product. After the different holding times, the mixture was stuffed in a chamber Vemag Roby TYP 134 (Germany) into plastic casings with an oxygen permeability of $20 \text{ cm}^3 / \text{m}^2 / 24\text{h}$ at 1 atm and then placed in 10x10 cm stainless steel moulds. The samples were then placed in a smoke chamber (Ahumadero Talsa, 1995, Medellín, Colombia) with saturated steam for 2 hours and 40 minutes at 80° C, until the product reached a temperature of 70 ± 2 °C at its geometrical centre (PT 100 sensor). The cooked hams were then placed in a cool chamber at 4° C for 24 h before cutting and slicing Trief NR 104740 (Trief, Germany) according to the needs of each analysis carried out. The meat was vacuum packaged by a Tiromat Compact 320 (CFS, Germany).

Residual nitrites concentration: The nitrite content of the CE and the final product was determined according to AOAC method (AOAC, 2006). Residual nitrite determination was reported in mg/kg of the sample.

Colour analysis: The CIELAB colour space was chosen to measure colour, as described by Cassens et al. (1995). This provided the coordinates lightness (L^*), redness (a^*), yellowness (b^*) and the psychophysical magnitudes Chroma (C^*_{ab}) and hue (h_{ab}). In addition, the reflection spectrum between 400 nm and 700 nm were

obtained at 10 nm intervals. An integrated sphere spectrophotometer was used Model SP 62 (measuring geometry d / 8), circular low reflectance glass and computer incorporating the software X-RiteColour Master QA II (Missouri, USA). The data were obtained with D_{65} illuminant and an observer angle of 10° (Honikel, 1998). Infinite solid was obtained according to Sánchez-Zapata et al. (2011).

Experimental design and statistical: The two factors were CE% and holding time, each evaluated at two levels, including a central point of the combination of both factors. Three replicates were made for each of the treatments and for each replicate a block with a different batch of meat to determine the effect that this might have on the results. Also three replicates were carried out in the central point of the statistical design (Table 1). The 24 assays were carried out randomly. All the samples were stored and the evaluations were carried out immediately after packaging.

In the colour analysis, an additional factor was included, corresponding to the slicing or cutting zone (central or peripheral).

A classical analysis of variance (ANOVA) was applied to determine any differences between the treatments. A Dunnett's test was carried out to establish specific differences between the control and the treatments. A confidence level of 95% was used in all cases to establish the level of significance. Statistical analysis was made using R statistical software (R 2008).

Results and Discussion

Residual nitrites: Table 2 shows the analytical results for the residual nitrite recorded in the final products. In this table can be observed that different treatments of celery extract and resting time

(Combinations: Cmb 2 to 6), had no statistically significant effect on the residual nitrite content ($p>0.05$). The low levels were found when CE is added. These results suggest that new studies are needed to determine the impact of this method of producing Colombian hams on the role of the starter culture in reducing nitrates to nitrites. In combinations 2 to 6, the concentration of 40-50 mg/kg, that are considered sufficient for the technological and microbiological effects sought in most products (USDA, 1995), was not reached. According to Sebranek and Bacus (2007), it is not possible to measure the quantity of nitrite produced when natural sources are used as nitrate source in a meat system. Since the nitrites rapidly react with meat's components.

Table 2: Mean values of residual nitrite levels in Medellin-type cooked ham (MCH).

TREATMENT (Cmb)	% EC	RESTING TIME (h)	NITRITES (mg/kg)
1	0	24	136.52 a
2	0.2	12	12.78 b
3	0.3	18	10.33 b
4	0.4	12	12.62 b
5	0.2	24	11.10 b
6	0.4	24	12.06 b

Cmb: Combinations Values followed by the same letter within the same column are not significantly different ($p>0.05$) according to Dunnett's Test.

Residual nitrite levels for all treatments are shown in Table 2. The type and concentration of starter culture used in this study (*Staphylococcus carnosus*) was the same as that used by Sindelar et al. (2007) in studies on sausages and cooked ham.

Colour analysis : Colour stability is one of the most important characteristics of cured meat products, and it is the primary quality attribute seen by the consumer. From a consumer's point of view, cured meat discolouration can be defined as divergence from the consumer-defined ideal to

something less desirable, for example, pink-reddish to grey (Illescas-Hernández *et al.*, 1993). Since the chroma value of the colour indicates how much a specified colour differs from grey, a faded red or pink colour may be considered as non-suitable for human consumption. Valous *et al.* (2009) described how in cooked ham, the morphological features of pores and fat-connective tissue may contribute to characterizing the appearance of sliced ham surfaces. In general, cooked hams look similar, with non-homogeneous colour surfaces. For example, the internal surface colour visibly differed between the central area and the peripheral area of the ham slices from the treatments 2, 3, 4, 5 and 6, while the control showed no such colour change (Fig 1). These observations might be explained because the ham surface was exposed to temperatures much above those considered optimal for the correct development of the microbiological culture during the heating process, especially in the treatments where CE was used. As mentioned above, new studies might point to the need to change the manufacturing process in order to favour the role of the starter culture and so correct the colour differences observed. Note that measurement of nitrites made in a homogenous sample and not in the differently coloured zones.

Table 3 shows the colour parameters studied. Lightness is considered to be the main parameter governing the quality of meat products (García-Esteban *et al.*, 2003) and the best predictor of visual pink colour intensity (Brewer *et al.*, 2001). Colour stability is very important for cooked cured meat products, and a less stable cured meat product or discolouration may result in a substantial financial losses to the retailer and other segments of the industry. It must be taken into account that this serious defect occurs during the storage of cured meat products, during which time

the desirable pink-reddish colour usually changes to grey.

The lightness values (L^*) increased in the treatments 2, 3, 4, 5 and 6 with respect to the control, although no statistically significant differences existed between the treatments in which CE was used as regards (L^*) in the external zone ($p>0.05$). However, there was a statistically significant difference ($p>0.05$) between these treatments and the control, the external zone being lighter in the treatments. For the same coordinate, there were no statistically significant differences ($p>0.05$) between the treatments.

According to Sammel and Claus (2003), L^* values significantly increased with higher end-point cooking temperatures and longer storage periods colour is also lighter, because denatured muscle proteins scatter more light. Valous *et al.* (2009) reported average L^* value in cooked ham surfaces of 69.0 ± 4.4 , while our results pointed to lower values.

The colour coordinate a^* is the most sensitive colour measurement parameter, characterizing redness and colour stability (García-Esteban *et al.*, 2003). A deeper red appearance is probably suggestive of added artificial colouring and in cooked ham greater redness is usually correlated with lower acceptability. It can be assumed that consumers prefer products with a lighter colour, with less red colouring, i.e. with a higher value of L^* and a lower a^* .

The parameter a^* was lower in all the treatments to which CE had been added, while the final product showed higher green components in the external zone. In agreement with Sammel and Claus (2003), lower values indicate less pinkness. Statistically significant differences in a^* were observed between the treatments 2-6 and the control but not in the central zone.

Figure 1. Illustrative images of Medellín-type cooked ham (a) control samples, (b) samples added with celery extract (Treatments: 2, 3, 4, 5, and 6).

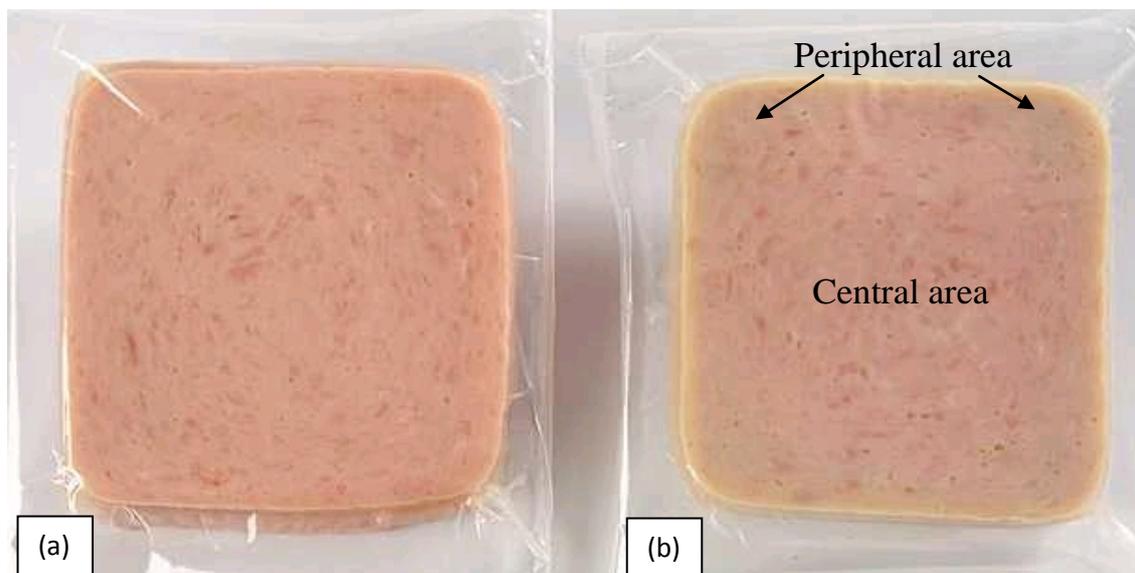


Table 3: Mean values for CIELAB colour parameters, lightness (L^*), redness (a^*), yellowness (b^*), chroma (C^*_{ab}) and hue (h_{ab}) in central and peripheral zones of Medellín-type cooked ham (MCH) produced using different concentrations of celery extract (CE).

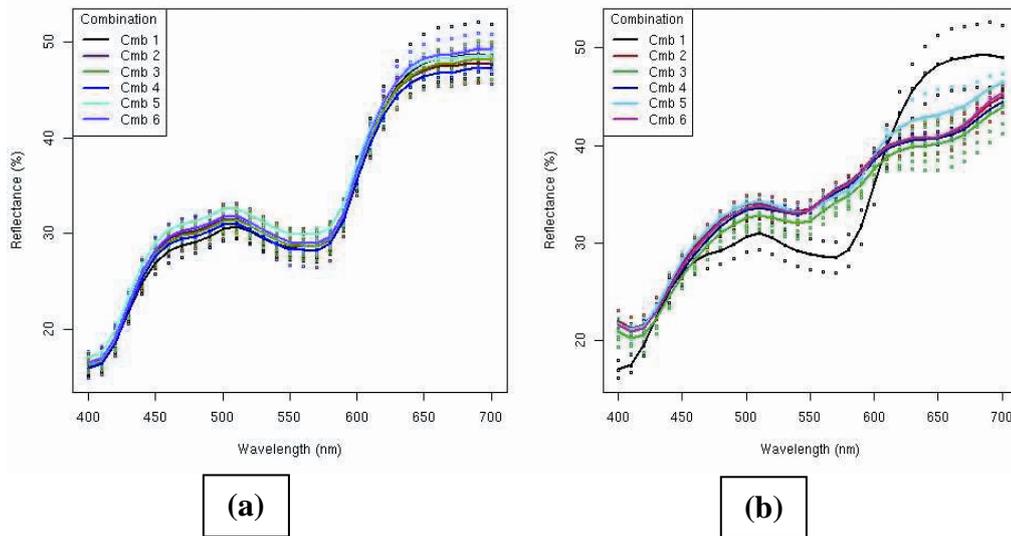
TREATMENT (Cmb)	ZONE	CIELAB COLOR PARAMETERS				
		L^*	a^*	b^*	C^*_{ab}	h_{ab}
1	Peripheral	62.91 a	6.44 a	8.20 a	10.43 a	51.83 a
	Central	62.70 a	6.44 a	8.29 a	10.50 a	52.16 a
2	Peripheral	65.77 b	1.45 b	10.56 b	10.67 a	82.13 b
	Central	63.08 a	5.88 a	7.36 c	9.43 b	51.44 a
3	Peripheral	64.93 b	1.68 b	10.73 b	10.86 a	81.05 b
	Central	63.01 a	5.99 a	7.67 a	9.749 b	52.03 a
4	Peripheral	65.48 b	1.53 b	10.91 b	11.02 a	81.98 b
	Central	62.71 a	5.87 a	7.42 c	9.47 b	51.68 a
5	Peripheral	65.81 b	2.17 b	10.26 b	10.52 a	77.80 b
	Central	64.02 a	5.54 a	7.45 a	9.30 b	53.43 a
6	Peripheral	65.67 b	1.50 b	10.84 b	10.95 a	82.08 b
	Central	63.42 a	6.08 a	7.47 a	9.64 b	50.82 a

Values followed by the same letter within the same column are not significantly different ($p>0.05$) according to Dunnett's Test.

As regards the yellow-blue coordinate (b^*), this was higher in the treatments 2-6 than in the control, yellow components increasing in the external zone to a statistically significant extent ($p<0.05$).

As regards the centre, only the pairs of treatments 1, 2, and 1, 4, showed statistically significant differences ($p<0.05$), both influenced by the holding time.

Fig 2: Reflectance spectra of central area (a) and peripheral area (b) of Medellin-type cooked ham (MCH) with different celery extract (CE) concentrations added [Treatments (Cmb: Combination): Cmb 1: control; Cmb 2: 0.2% CE; Cmb 3: 0.3% CE; Cmb 4: 0.4% CE; Cmb 5: 0.2% CE; and Cmb 6: 0.4% CE].



In the central zone, significant differences ($p < 0.05$) were found between the treatments and the control, in which the colour was more vivid since the grey colour component decreased. Miltenburg *et al.* (1992), reported that C^*_{ab} is also related to the quantity of pigments, but Pérez-Alvarez and Fernández-López (2000) mentioned that discolouration in cooked cured meat products means decreased C^*_{ab} values.

Hue is the attribute of a colour perception denoted by blue, green, yellow, red, purple, etc. (Wyszecki and Styles, 1982), and is related with the state of meat pigments (Pérez-Alvarez and Fernández-López, 2000).

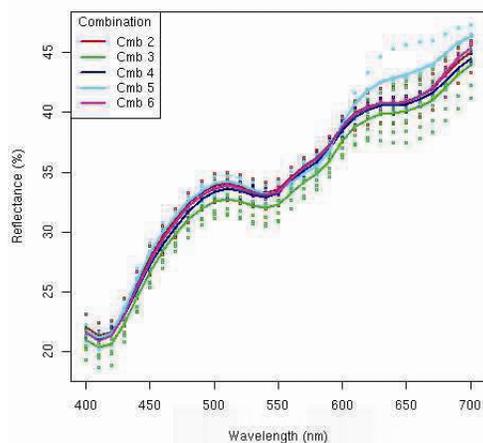
In the external zone, the hue parameter (h_{ab}) showed statistically significant ($p < 0.05$) difference between the control and the treatments 2-6, being lower (tendency towards red) in the former than in the latter (tendency towards yellow). No statistically significant ($p < 0.05$) differences were observed between any of the treatments (all presented reddish hue).

Reflectance spectra: Another tool for evaluating the meat (raw materials) (Sánchez-Zapata *et al.*, 2010), processing (Prieto *et al.*, 2009) and shelf life (Perez-Alvarez *et al.*, 1997) of these products is to use reflectance spectra (infrared and visible). Reflectance spectra have also been used to evaluate the effect of spices (Fernández-López *et al.*, 2002), colourants, antioxidants, ingredients and other functional ingredients (Fernández-Ginés, 2005), on meat products.

The reflectance spectra generated for the central zone (Fig 2a) do not show significant differences ($p > 0.05$) between the treatments for any of the wavelengths.

The reflectance spectra obtained for the peripheral zone (Fig 2b) show significant differences ($p > 0.05$) between the treatments and the control, mainly between 580-600 nm (yellow) and 650-700 nm (red).

Figure 3. Reflectance spectra of peripheral area of Medellin-type cooked ham (MCH) considered only the samples with different celery extract (CE) concentrations added [Treatments (Cmb: Combination); Cmb 2: 0.2% CE; Cmb 3: 0.3% CE; Cmb 4: 0.4% CE; Cmb 5: 0.2% CE; and Cmb 6: 0.4% CE].



For the same analysis and excluding the control (Fig 3), it can be seen that no statistically significant differences exist ($p < 0.05$), so that it can be affirmed that treatments 2-6 differ from the control in the peripheral zone. The results of this analysis are coherent with those obtained for residual nitrite and the colour coordinates ($L^* a^* b^*$). The spectral differences may reflect the greater development of nitrosylhemochrome in the central zones of treatments 2 and 6 than in the peripheral zone, perhaps due to deterioration of the culture on the ham surface as a result of exposure to high temperatures during the heating step.

Conclusions

In conclusion, the production process used led to the appearance of two colour zones in the MHC produced with all the

treatments containing CE, especially for the coordinates $L^* a^*$ and b^* , as corroborated by the reflectance spectra. New studies are needed to determine the impact of the processing method on the role of the starter culture, to throw light on the way in which nitrosopigments are obtained on the whole ham surface and to ascertain the most suitable way of obtaining a uniform colour (closer to that obtained with the control here) when CE is used.

Acknowledgement

To Industria de Alimentos Zenú S.A.S y CHR Hansen Colombia.

References

- Alesón-Carbonell L, Fernández-López J, Sayas-Barberá E, Sendra E, and Pérez-Alvarez JA (2003). Utilization of lemon albedo in dry-cured sausages. *Journal of Food Science*, 68: 1826–30.
- AOAC (2006). Nitrites in cured meat (Method 973.31). Official methods of analysis (18th Edn.), Association of Official Analytical Chemists, Maryland, USA.
- Brewer MS, Zhu LG, and McKeith FK (2001). Marbling effects on quality characteristics of pork loin chops: Consumer purchase intent, visual and sensory characteristics. *Meat Science*, 59 (2): 153-63.
- Cassens RG, Demeyer D, Eikelenboom G, Honikel K, Johansson G, Nielsen T, Renner M, Richardson Y, and Sakata R (1995). Recommendation of reference method for assessment of meat color. *Proceedings of 41st International Congress of Meat Science and Technology*; San Antonio, TX, USA, 410-411.
- Fernández-Ginés JM, Fernández-López J, Sayas-Barberá E, Sendra E, and Pérez-Alvarez JA (2003). Effects of storage

- conditions on quality characteristics of bologna sausages made with citrus fiber. *Journal of Food Science*, 68: 710–715.
- Fernández-Ginés JM (2005). Aplicación del subproducto de la industria cítrica en la elaboración de productos cárnicos de pasta fina. Ph.D. Thesis, Miguel Hernández University, Orihuela. Spain.
- Fernández-López J, Pérez-Alvarez JA, Sayas-Barberá E, and López-Santoveña F (2002). Reflectance spectra evaluate the effect of spices. *Journal of Food Science*, 67 (6): 2410–2414.
- Fernández-López J, Sendra E, Navarro C, Sayas-Barberá E, Viuda-Martos, M, and Pérez-Alvarez JA (2009). Storage stability of a high dietary fibre powder from orange by-products. *International Journal of Food Science and Technology*, 44 (4): 748-756.
- García-Esteban M, Ansorena D, Gimeno O, and Astiasarán I (2003). Optimization of instrumental colour analysis in dry-cured ham. *Meat Science*, 63 (3): 287-292.
- Honikel KO (1998). Reference methods for the assessment of physical characteristics of meat. *Meat Science*, 49 (4): 447-457.
- Illescas-Hernández E, Pérez-Alvarez JA, Pagán-Moreno MJ, and Aranda-Catalá V (1993). Estudio del efecto de la oscuridad sobre muestras de jamón curado loncheado expuestas a diferentes intensidades de luz y temperaturas. In: *Anales de Investigación del Master en Ciencia e Ingeniería de Alimentos* (V Aranda-Catalá, Eds.), Universidad Politécnica de Valencia, España, 563–578.
- Jafari M, and Emam-Djomeh Z (2007). Reducing nitrite content in hot dogs by hurdle technology. *Food Control*, 18: 1488-1493.
- Mendoza F, Valous N, Allen P, Kenny T, Ward P, and Sun D (2009). Analysis and classification of commercial ham slice images using directional fractal dimension features. *Meat Science*, 81: 313–320.
- Miltenburg GA, Wensing T, Smulders FJM, and Breukink HJ (1992). Relationship between blood hemoglobin, plasma and tissue iron, muscle heme pigment, and carcass color of veal. *Journal of Animal Science*, 70: 2766–2772.
- Parks S, Huett D, Campbell C, and Spohr L (2008). Nitrate and nitrite in Australian leafy vegetables. *Australian Journal of Agriculture Research*, 59 (7): 632-638.
- Pegg R and Shahidi F (2000). Nitrite curing of meat. The N- Nitrosamine problem and nitrite alternatives. Food & Nutrition Press Inc., Connecticut, USA.
- Pérez-Alvarez JA, Sánchez-Rodríguez E, Fernández-López J, Asunción Gago-Gago M, Ruiz-Peluffo C, Rosmini M, Pagan-Moreno MJ, López-Santoveña F, and Aranda-Catalá V (1997). Chemical and color characteristics of 'lomo embuchado' during salting seasoning. *Journal of Muscle Foods*, 8 (4): 395-411.
- Pérez-Alvarez JA and Fernández-López J (2000). Aspectos físicos, fisiológicos, psicológicos, químicos e instrumentales para la determinación del color en los alimentos. Universidad Miguel Hernández de Elche, Elche: Spain.
- Pérez-Alvarez JA, Fernández-Ginés JM, Fernández-López J, and Sayas-Barberá E (2002). Procesos tecnológicos en la elaboración de productos de origen animal. Universidad Miguel Hernández de Elche, Elche: Spain.
- Pérez-Alvarez JA (2006). Color. In: *Ciencia y Tecnología de Carnes* (YH Hui, I Guerrero, MR Rosmini, Eds.), Limusa S.A., Mexico City. Mexico, 163-183
- Perez-Alvarez JA, and Fernandez-Lopez J (2009). Color characteristics of meat and poultry processing. In: *Handbook of processed meats and poultry analysis*

- (LML Nollet, F Toldra, Eds.), CRC Press, Boca Raton, Florida, 355–373.
- Prieto N, Roehe R, Lavin P, Batten G, and Andres S (2009). Application of near infrared reflectance spectroscopy to predict meat and meat products quality: a review. *Meat Science*, 83 (2): 175-86.
- R (2008). A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. R DEVELOPMENT CORE TEAM, Vienna, Austria; ISBN 3-900051-07-0.
- Ripoll G, Joy M, Muñoz F, and Albertí P (2008). Meat and fat colour as a tool to trace grass-feeding systems in light lamb production. *Meat Science*, 80: 239–248.
- Sammel LM, and Claus JR (2003). Whey protein concentrates effects on pink color development in a cooked ground turkey breast model system. *Meat Science*, 65: 1293–1299.
- Sánchez-Zapata EJ, Viuda-Martos M, Navarro C, Pérez-Alvarez J.A. (2009). Non-meat ingredients. In: Handbook of Poultry Science and Technology (I Guerrero-Lejarreta, YH Hui, Eds.), Wiley, Volume 2, London, UK, 101-124.
- Sánchez-Zapata EJ, Pérez-Álvarez JA, Fernández-López J, and Barber-Valles X (2010). Descriptive study of reflectance spectra of Hake (*Merluccius australis*), Salmon (*Salmo salar*) and light and dark muscle from Tuna (*Thunnus thynnus*). *Journal of Food Quality*, 33: 391–403.
- Sánchez-Zapata E, Fuentes-Zaragoza E, Navarro-Rodríguez de Vera C, Sayas C, Sendra E, Fernández-López J, Pérez-Alvarez JA (2011). Effects of tuna pâté thickness and background on CIEL*a*b* color parameters and reflectance spectra. *Food Control*, 22: 1226-1232.
- Sebranek J, and Bacus J (2007). Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues?. *Meat Science*, 77: 136-145.
- Shahid-Umar A, Iqbal M, and Abrol Y (2007). Are nitrate concentrations in leafy vegetables within safe limits? *Current Science*, 92 (3): 355-360.
- Shahid-Umar A, and Iqbal M (2007). Nitrate accumulation in plants, factors affecting the process, and human health implications: A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 27 (1): 45-57.
- Shahidi F, Pegg RB, and Sen NP (1994). Absence of volatile N-nitrosamines in cooked nitrite-free cured muscle foods. *Meat Science*, 37 (3): 327-336.
- Shahidi F, Pegg RB, and Fox Jr JB (1997). Unraveling the chemical identity of meat pigments. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37 (6): 561-589.
- Sindelar J, Cordray J, Sebranek J, Love J, and Ahn D (2007). Effects of varying levels of vegetable juice powder and incubation time on color, residual nitrate and nitrite, pigment, pH, and trained sensory attributes of ready to eat uncured ham. *Journal of Food Science*, 72 (6): 388-395.
- USDA (1995). Processing inspector's calculations handbook. FSIS Directive 7620.3. Department of Agriculture, USA.
- Valous NK, Mendoza F, Sun DW, and Allen P (2009). Colour calibration of a laboratory computer vision system for quality evaluation of pre-sliced hams. *Meat Science*, 81: 132-141.
- Wyszecki G, and Styles WG (1982). Color science: Concepts and methods, quantitative data and formulae (2nd ed), John Wiley & Sons, Inc., New York, USA.
- Zarringhalami S, Sahari MA, and Hamidi-Esfehani Z (2009). Partial replacement of nitrite by annatto as a colour additive in sausage. *Meat Science*, 81: 281-284.