



UNIVERSIDAD MIGUEL HERNANDEZ  
ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA  
Departamento de Ingeniería

EFFECTOS DE LA DISMINUCIÓN DEL ION SODIO SOBRE EL  
SABOR EN UN JAMÓN COCIDO TIPO FIAMBRE ELABORADO  
EN MEDELLÍN, COLOMBIA

**Memoria realizada para optar al grado de Doctor**

**Presentada por:**

Gustavo Adolfo Zapata López

**Dirigida por:**

Dr. José Ángel Pérez Álvarez  
Orihuela, Febrero 2016

Dr. Oscar Alberto Ochoa Gonzalez  
Medellín, Febrero 2016





ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA  
DEPARTAMENTO DE INGENIERIA

**DÑA. CARMEN ROCAMORA OSORIO, DIRECTORA DEL DEPARTAMENTO DE INGENIERÍA DE LA UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE**

**INFORMA:** Favorablemente que la Tesis titulada “EFECTOS DE LA DISMINUCIÓN DEL ION SODIO SOBRE EL SABOR EN UN JAMÓN COCIDO TIPO FIAMBRE ELABORADO EN MEDELLÍN, COLOMBIA”, de la que es autor el doctorando D. GUSTAVO ADOLFO ZAPATA LOPEZ y dirigida por los Dres. José Ángel Pérez Álvarez, y Oscar Alberto Ochoa González 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 veintidós de enero de dos mil dieciséis.

**Fdo. Dra. Carmen Rocamora Osorio**





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

**JOSE ANGEL PEREZ ALVAREZ, CATEDRÁTICO DE UNIVERSIDAD DEL AREA DE TECNOLOGÍA DE ALIMENTOS, ADSCRITO AL DEPARTAMENTO DE TECNOLOGÍA AGROALIMENTARIA DE LA UNIVERSIDAD MIGUEL HERNANDEZ (UMH) E INVESTIGADOR RESPONSABLE DEL EQUIPO DE INVESTIGACIÓN DE INDUSTRIALIZACIÓN DE PRODUCTOS DE ORIGEN ANIMAL (GRUPO DE INVESTIGACIÓN Nº 1 DE LA UMH) Y MIEMBRO DE LA RED DE INVESTIGACIÓN VINCULADA DE LA GENERALITAT VALENCIANA (GRUPO REVIV).**

**CERTIFICA:** Que la Tesis Doctoral titulada “EFECTOS DE LA DISMINUCIÓN DEL ION SODIO SOBRE EL SABOR EN UN JAMÓN COCIDO TIPO FIAMBRE ELABORADO EN MEDELLÍN, COLOMBIA”, de la que es autor el doctorando D. GUSTAVO ADOLFO ZAPATA LOPEZ 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 Orihuela, a 22 de enero de dos mil dieciséis.**

**Dr. José Angel Pérez Alvarez**

Departamento de Tecnología Agroalimentaria  
Escuela Politécnica Superior de Orihuela  
Universidad Miguel Hernández de Elche  
Carretera a Beniel km. 3,2 E-03312 Orihuela Alicante  
[ja.perez@umh.es](mailto:ja.perez@umh.es)

1







**D. OSCAR ALBERTO OCHOA GONZÁLEZ, DIRECTOR DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO DE INDUSTRIA DE ALIMENTOS ZENÚ S.A.S. Y DIRECTOR DEL GRUPO CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO CÁRNICO (CI+D).**

**CERTIFICA:** Que la Tesis Doctoral titulada “EFECTOS DE LA DISMINUCIÓN DEL ION SODIO SOBRE EL SABOR EN UN JAMÓN COCIDO TIPO FIAMBRE ELABORADO EN MEDELLÍN, COLOMBIA”, de la que es autor el doctorando **D. GUSTAVO ADOLFO ZAPATA LOPEZ** 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 Medellín, a 22 de enero de dos mil dieciséis.**



## **AGRADECIMIENTOS**

Después de introducirme en la ciencia, hoy confirmo que sin el apoyo y la influencia de muchas persona que están a mi lado, difícilmente esta investigación se hubiese podido realizar. En primer lugar quiero agradecer a dos personas que aunque ya no están conmigo siguen presentes en mis actos y forjaron en mí, ese espíritu de aventura y curiosidad por la ciencia, ellos son mis padres +Antonio Zapata y +Amada López (QEPD), en segundo lugar quiero agradecer a mi Familia, a mi esposa Irma a mis hijos Salomé y Miguel Angel, que fueron siempre mi apoyo y mi motivación para culminar este estudio. Tambien quiero darle un reconocimiento a mis compañeros de trabajo que aportaron directa e indirectamente a esta Investigación, a Oscar por ser un “sirirí” y siempre motivador, a Ardis, Andres Felipe, Yaneth y Elly Vanessa por su ayuda incondicional, a Juan Guillermo, Hugo y Alejo por su capacidad de servicio, a Luz Amparo, Leti y Keneth por sus oportunos análisis, a Isa y Humberto por el apoyo logístico, a Juan Camilo y Jorge por unir esfuerzos, a Industria de Alimentos Zenú por brindarme los recursos necesarios. Sería un listado muy largo y me quedan personas por mencionar, pero a todos muchas gracias por el apoyo.





Algo he aprendido en mi larga vida: que toda nuestra ciencia, contrastada con la realidad, es primitiva y pueril; y, sin embargo, es lo más valioso que tenemos.

**Albert Einstein**



## INDICE

2. INTRODUCCIÓN .....	25
2.1 Generalidades.....	25
2.2 Aspectos de salud y sodio.....	28
2.3 Funcionalidad del sodio en la elaboración de productos cárnicos .....	36
2.3.1. La sal y la solubilidad de proteínas cárnicas .....	37
2.3.2 El sodio y la vida útil de los productos cárnicos .....	37
2.3.3. El sodio y las características sensoriales de los productos cárnicos .....	38
2.4 Alternativas para la sustitución y reducción de sodio en la industria de alimentos.....	40
2.4.1. Solubilidad de proteínas.....	40
2.4.2. Conservantes no sódicos en alimentos (Vida Util) .....	41
2.4.3. Sabor.....	42
2.5 Conclusiones.....	43
3. OBJETIVO GENERAL.....	48
3.1 Objetivos específicos .....	48
4. MATERIALES Y METODOS .....	50
4.1 Funcionalidad de la sal en la Solubilidad de las proteínas.....	50
4.1.1 Formulación .....	50
4.1.2 Proceso de elaboración de muestra.....	51
4.1.3 Diseño experimental.....	51
4.1.4 Técnicas de análisis .....	52
4.1.4.1 Tensión superficial en salmuera.....	53
4.1.4.2 Viscosidad.....	55
4.1.4.3 Fuerza de Gel .....	55
4.1.4.4 Medición de pH .....	56
4.1.4.5 Caracterización de proteínas en salmuera (Electroforesis).....	56
4.1.4.6 Método Cuantificación de proteínas en salmuera OPA y BCA.....	58
4.1.4.7 Cuantificación de proteínas en salmuera Método Kjeldahl.....	58
4.2 Funcionalidad del sodio en la conservación.....	59
4.2.1 Identificación de microorganismo alterantes y <i>Listeria Monocytogenes</i> 59	
4.2.1.1. Aislamiento e Identificación de <i>Listeria Monocytogenes</i> . .....	59
4.2.1.2 Aislamiento e Identificación de Microorganismos alterantes .....	59

4.2.2 Técnicas de análisis .....	60
4.2.2.1 Evaluación de conservantes mediante pruebas In-vitro .....	61
4.2.2.1.1 Prueba CMI (Concentración mínima inhibitoria).....	61
4.2.2.1.2 Prueba de eficacia antimicrobiana (USP).....	62
4.2.2.2 Evaluación de conservantes mediante prueba In-vivo .....	64
4.2.2.2.1 Formulación.....	64
4.2.2.2.2 Proceso de elaboración.....	64
4.2.2.2.3 Diseño experimental.....	65
4.2.2.2.4 Preacondicionamiento para Inoculación.....	67
4.2.2.2.5 Inoculación de los productos.....	68
4.2.2.2.6 Análisis Microbiológico .....	68
4.3 Funcionalidad del sodio en las características organolépticas.....	69
4.3.1 Entrenamiento a jueces con materia primas específicas .....	69
4.3.2 Formulación .....	71
4.3.3 Proceso de elaboración.....	71
4.3.4 Diseño experimental.....	73
4.3.5 Técnica de análisis sensorial. ....	74
5. RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	76
5.1 Funcionalidad de la sal en la Solubilidad de las proteínas .....	76
5.1.1 Resumen.....	76
5.1.2 Generalidades .....	76
5.1.2.1 Proteínas de la carne .....	77
5.1.2.2 Ingredientes no cárnicos .....	78
5.1.2.2.1 Solubilidad de las proteínas .....	78
5.1.2.2.2 Proteínas no cárnicas.....	80
5.1.2.2.3 Almidones modificados .....	80
5.1.2.2.4 Carrageninas.....	80
5.1.2.2.5 Polifosfatos.....	81
5.1.3 Resultados .....	82
5.1.3.1 Viscosidad.....	82
5.1.3.2 Prueba de fuerza de Gel .....	86
5.1.3.3 pH en Salmuera .....	87
5.1.3.4 pH en Gel .....	88
5.1.3.5 Tensión superficial en salmuera.....	90

5.1.3.6 Caracterización de proteínas en salmuera (Electroforesis).....	93
5.1.3.7 Cuantificación de proteína en Salmuera por método BCA.....	97
5.1.3.8 Cuantificación de proteína en Salmuera por método OPA.....	98
5.1.3.9 Cuantificación de proteínas método Kjeldahl.....	98
5.1.3.10 Análisis conjunto de las variables estudio.....	100
5.1.4 Conclusiones.....	101
5.2 Funcionalidad del Sodio en la conservación.....	104
5.2.1 Resumen.....	104
5.2.2 Generalidades.....	105
5.2.2.1 Sal como agente conservante.....	106
5.2.2.2 Nitritos.....	107
5.2.2.3 Lactatos.....	107
5.2.2.4 Sales y ácidos orgánicos.....	108
5.2.2.5 Bacteriocinas.....	108
5.2.2.6 Cultivos protectores- Bioconservadores (Carnobacterium).....	109
5.2.2.7 Crecimiento bacteriano.....	109
5.2.2.8 Microbiota Patógena (Listeria Monocytogenes).....	110
5.2.2.9 Microbiota Alterante (BAL).....	111
5.2.3 Resultados.....	112
5.2.3.1 Aislamiento e Identificación de Listeria Monocytogenes.....	112
5.2.3.2 Aislamiento e Identificación de Microorganismos alterantes.....	112
5.2.3.3 Prueba CMI (Concentración mínima inhibitoria).....	113
5.2.3.4 Prueba de eficacia antimicrobiana (USP).....	116
5.2.3.4.1. Categorización de conservantes según norma USP.....	116
5.2.3.4.2 Exploratorio prueba USP Invitro.....	118
5.2.3.4.3 Modelo.....	119
5.2.3.5 Exploratorio Prueba In vivo.....	120
5.2.3.5.1 Modelo estadístico.....	122
5.2.3.5.2 Consideraciones del comportamiento de los parámetros en el modelo. 123	
5.2.3.5.3 Consideraciones del análisis del modelo.....	125
5.2.3.5.4 Análisis microorganismos alterantes.....	126
5.2.3.5.5 Análisis de <i>L. monocytogenes nativa</i> .....	127
5.2.4 Conclusiones.....	129
5.3. Funcionalidad del sodio en las características organolepticas.....	132

5.3.1 Resumen .....	132
5.3.2 Generalidades .....	132
5.3.3 Resultados .....	134
5.3.3.1 Atributos de producto terminado .....	134
5.3.3.2 Diagramas multidimensional de análisis cuantitativo .....	136
5.3.3.3 Análisis exploratorio .....	137
5.3.3.4 Modelo estadístico .....	140
5.3.4 Conclusiones .....	150
6. CONCLUSIONES GENERALES .....	151
7. BIBLIOGRAFIA .....	153



## Indice de Gráficos

Gráfico 1 Número de Artículos publicados entre el 2008 y 2015, con relación a Sal y las enfermedades definidas como críticas en estados miembros de la OMS.....	32
Gráfico 2. Número de Artículos publicados entre el 2008 y 2015, con relación a Restricción de Sodio, Sodio reducido, Sodio y Alimentos, Sodio y enfermedad. ..	33
Gráfico 3 Número de Productos lanzados en el mundo entre el 2008 y 2015, con claims de “Bajo en Sodio/Sin Sodio”. .....	34
Gráfico 4 Número de Productos lanzados en el mundo entre el 2008 y 2015, por región geográfica, con claims de “Bajo en/sin sodio” .....	35
Gráfico 5. Contenido de sodio (mg) promedio por porción en el año 2013, en productos cárnicos colombianos .....	36
Gráfico 6. Exploratorio del $\log_{10}$ de la viscosidad a diferentes temperaturas, donde el punto mínimo de la curva es el inicio de la gelificación en la salmuera. ....	82
Gráfico 7. Temperatura de inicio de gelación de la salmuera de cada tratamiento. ....	83
Gráfico 8. Comparaciones pareadas, de acuerdo a Tukey, de temperaturas de inicio de gelación en los diferentes tratamientos. ....	84
Gráfico 9. Fuerza de gel (g) para cada tratamiento con 2 replicas. ....	86
Gráfico 10. pH en Salmuera antes de gelificación. ....	87
Gráfico 11. Comparaciones pareadas de pH de Salmuera. ....	88
Gráfico 12. pH en Gel. ....	89
Gráfico 13. Comparaciones pareadas de pH de Gel. ....	89
Gráfico 14. $\log_{10}$ de la Tensión superficial en el tiempo en segundo. ....	90
Gráfico 15. $\log_{10}$ de Tensión superficial (mN/m) en el punto de estabilización. El gráfico muestras dos replicas con sus repeticiones para un total de 4 datos por tratamiento. ....	91
Gráfico 16. Comparaciones pareadas de Tensión superficial de los diferentes tratamientos. ....	92
Gráfico 17. Contenido de proteína mg/mL por método BCA en cada tratamiento, .....	97
Gráfico 18. Contenido de proteína mg/mL por método OPA en cada tratamiento, .....	98
Gráfico 19. Contenido de proteína (%) por método OPA en cada tratamiento, .....	99
Gráfico 20. Diagrama biplot de componentes principales .....	100
Gráfico 21. Curva típica de crecimiento bacteriano .....	110
Gráfico 22. Estimación de la proporción de la identificación de microorganismos alterantes. ....	113
Gráfico 23. Exploratorio Concentración mínima inhibitoria de los grupos 1 y 2. ...	114
Gráfico 24. Modelos de inhibición de <i>L. monocytogenes</i> nativa y <i>Listeria</i> ATCC Prueba CMI .....	115

Gráfico 25. Modelos de inhibición de microorganismos alterantes ( <i>Lactococcus lactis</i> y <i>Leuconostoc pseudomesenteroides</i> ) para prueba CMI. ....	116
Gráfico 26. Categorización de conservantes para <i>Listeria</i> según norma de eficacia antimicrobiana USP. Eje y categoría del producto, ejex conservante, dosis, y replica .....	117
Gráfico 27. Categorización de conservantes para Alterantes según norma de eficacia antimicrobiana USP. Eje y categoría del producto, eje x conservante, dosis, y replica .....	117
Gráfico 28. Exploratorio de inhibición de crecimiento en el tiempo, de <i>Listeria</i> y Alterantes con diferentes conservantes a diferentes dosis. Cada cuadro identifica el conservante y el microorganismo en la parte superior. En el eje Y muestra el $\log_{10}$ de UFC y el eje X los días de almacenamiento.....	118
Gráfico 29. Modelos de inhibición de crecimiento por cada dosis de conservante con <i>L. monocytogenes</i> nativa y <i>Listeria</i> ATCC.....	119
Gráfico 30. Exploratorio de pruebas Invivo para mezcla de Alterantes, .....	121
Gráfico 31. Exploratorio de pruebas Invivo para <i>L. monocytogenes</i> nativa,.....	122
Gráfico 32. Modeló mediante una regresión no lineal asintótica logística .....	123
Gráfico 33. $\log_{10}$ de UFC de mezcla de la mezcla de alterantes para cada tratamiento inoculado y almacenado a 8°C.....	126
Gráfico 34. $\log_{10}$ de UFC de <i>L. monocytogenes</i> nativa para cada tratamiento inoculado y almacenado a 8°C.....	128
Gráfico 35. Diagrama del análisis descriptivo cuantitativo del atributo Olor y sus descriptores por aproximación multidimensional.....	136
Gráfico 36. Diagrama del análisis descriptivo cuantitativo de atributo Sabor y sus descriptores.....	136
Gráfico 37. Diagrama del análisis descriptivo cuantitativo del atributo Textura... ..	137
Gráfico 38. Exploratorio de atributo Olor con sus descriptores donde C (fórmula control), B( blanco), SF (Potencializador de fermentación), SR (Potencializador de reacción) .....	138
Gráfico 39. Exploratorio del atributo Sabor con sus descriptores donde C (fórmula control), B( blanco), SF (Potencializador de fermentación), SR (Potencializador de reacción) .....	139
Gráfico 40. Exploratorio de atributo Textura para panel con sus descriptores donde C (fórmula control), B( blanco), SF (Potencializador de fermentación), SR (Potencializador de reacción).....	140
Gráfico 41. Modelo líneal de efectos mixtos atributo Olor para panel. con sus descriptores. C (fórmula control), B( blanco), SF (Potencializador de fermentación), SR (Potencializador de reacción).....	141
Gráfico 42. Modelo líneal de efectos mixtos atributo Sabor para panel con sus descriptores. C (fórmula control), B( blanco), SF (Potencializador de fermentación), SR (Potencializador de reacción).....	141

Gráfico 43. Modelo líneal de efectos mixtos atributo Textura para panel con sus descriptores. C (fórmula control), B( blanco), SF (Potencializador de fermentación), SR (Potencializador de reacción) ..... 142

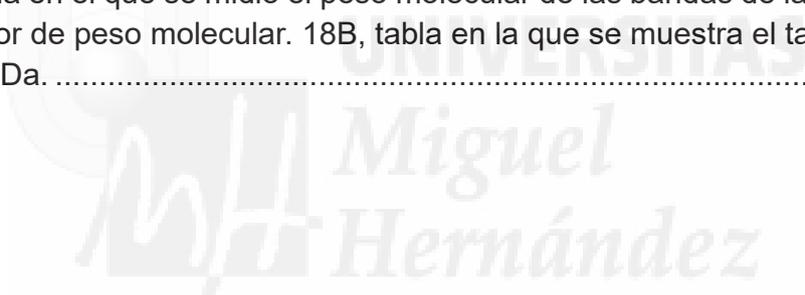


## Índice de Tablas

Tabla 1. Resumen Sustitución o reducción de Sodio en Productos Cárnicos.....	45
Tabla 2. Concentración, tipo de sal y agente emulsificantes de los diferentes tratamientos objeto de estudio. ....	52
Tabla 3 Origen y Concentración de los conservantes para prueba CMI y Eficacia antimicrobiana USP.....	61
Tabla 4. Categorización de conservantes según norma eficacia antimicrobiana USP .....	63
Tabla 5. Identificación de fórmulas, composición y concentración de agentes conservantes para pruebas In vivo.....	66
Tabla 6. Porcentaje de concentración de materia primas de jamon para entrenamiento sensorial a panelistas .....	70
Tabla 7. Parámetros Ø 1, Ø 2, Ø 3, de los diferentes tratamientos con alterantes y <i>L. monocytogenes nativa</i> .....	125
Tabla 8. Atributos Olor, Sabor y textura con sus respectivos descriptores. ....	135
Tabla 9. Valor P de de los atributos y sus respectivos descriptor .....	143
Tabla 10. Anova de la regresión del atributo Sabor descriptor Cárnico, con respecto a la reducción de Sodio.....	145
Tabla 11. Anova de la regresión del atributo Textura descriptor blando, con respecto a la reducción de Sodio.....	146
Tabla 12 . Anova de la regresión del atributo Sabor descriptor salado, con respecto a la reducción de Sodio.....	148
Tabla 13. Anova de la regresión del atributo Sabor descriptor amargo, con respecto a la reducción de Sodio.....	149

## Indice de Figuras

Figura 1. Flujo de elaboración de jamón cocido tipo fiambre .....	72
Figura 2. Identificación de tratamientos objeto de estudio. ....	73
Figura 3. Factores que afectan la gelación de la proteína con el proceso térmico de la emulsión cárnica.....	79
Figura 4. Perfil electroforético de Salmuera carril 1 salmuera 0.2 microlitros, carril MP marcador de peso molecular KDa.....	94
Figura 5. Patrón electroforético de los tratamientos 1,2,3,y T1SS con su correspondiente replica 10,11,12 .....	95
Figura 6. Patrón electroforético de los tratamientos 4,5,6, con su correspondiente replica, 13, 14, 15.....	95
Figura 7. Patrón electroforético de los tratamientos 7,8,9, con su correspondiente replica 16,17,28.....	96
Figura 8. Peso molecular de las bandas más representativas. 18A, gel de poliacrilamida en el que se midió el peso molecular de las bandas de la muestra T7, MP. Marcador de peso molecular. 18B, tabla en la que se muestra el tamaño de las bandas en kDa. ....	96



## **Anexos**

Anexo 1 Curvas de los estándares de las cuantificaciones de proteína BCA y OPA .....	173
Anexo 2 Anova de modelo mixto para temperatura inicial de gelacion .....	175
Anexo 3 Anova de modelo mixto para fuerza de gel .....	176
Anexo 4 Anova de modelo mixto para pH en salmuera .....	177
Anexo 5 Anova de modelo mixto para pH en Gel.....	178
Anexo 6 Anova de modelo mixto para Tension Superficial .....	179
Anexo 7 Anova de modelo mixto para cuntitativo de proteína método BCA .....	181
Anexo 8 Anova de modelo mixto para cuantitativo de proteína método OPA .....	182
Anexo 9 Anova de modelo mixto para cuantitativo de proteína método Kjeldahl	183



## 1. ESTRUCTURA DE LA TESIS

El desarrollo de este trabajo se llevó a cabo inicialmente con la recopilación de información científica relacionada con la reducción de sodio en los alimentos, donde se planteó una revisión con enfoques técnicos, tecnológicos y de salud y quedó registrado en el capítulo 2. Basado en esta información se trazaron tres objetivos generales relacionados con la funcionalidad tecnológica de la sal y el sodio en un jamón cocido (textura, vida útil y sabor). Posteriormente se construyó un capítulo con la descripción detallada de todas las metodologías empleadas en; elaboración de muestras, diseño experimental, análisis instrumental, análisis sensorial y análisis estadístico con los que se desarrolló el capítulo de resultados, compuesto a la vez de 3 subcapítulos; donde el primero se enfocó en la funcionalidad de textura, y se evaluaron los efectos de la sustitución y disminución de las sales de sodio, sobre la tensión superficial, la viscosidad y la solubilidad de proteínas presentes en la fórmula de un jamón cocido. El segundo subcapítulo se orientó a la funcionalidad de Conservación, en el que se analizaron los efectos de agentes Bioprotectores, mezcla de sales y ácidos orgánicos, sobre el crecimiento de *Listeria* y microbiota alterante, con herramientas de evaluación como pruebas *In vitro* e *In vivo*. El tercer subcapítulo se dirigió a la funcionalidad Sensorial, específicamente sabor y textura, donde se estudiaron los efectos de la disminución y sustitución del ión sodio y el uso de potencializadores de sabor de reacción y fermentación sobre las características sensoriales del Jamón cocido. Cada uno de los subcapítulos descritos tiene la siguiente estructura; título, resumen, generalidades, resultados, análisis de resultados y conclusiones. Seguidamente se registra un capítulo con las conclusiones generales y por último se describe la bibliografía utilizada en la tesis.

## 2. INTRODUCCIÓN

### 2.1 Generalidades

Los humanos como todos los demás mamíferos durante varios millones de años de evolución, han consumido menos de 0,25 g de sal por día, pero en la actualidad su consumo se ha incrementado de manera vertiginosa a niveles de 9 a 12 g por día (Ploegaerts, Desmet, y Van Krieken, 2016). El incremento en el consumo de sal se ha dado a pesar de las recomendaciones mundiales que promueven un consumo de 5 a 6 g/día (Aho y col, 1980; Ruusunen y Puolanne 2005, WHO 2013).

El incremento en el consumo de sal de la población mundial ha llevado a algunos gobiernos a diseñar leyes que promueven incluir cantidades adecuadas de sal en la dieta diaria. Adicionalmente, se han emprendido estudios sobre compuesto con el propósito de garantizar el bienestar y la salud de los consumidores, mediante una dieta equilibrada y sensorialmente agradable (Jiménez-Colmenero y col, 2001; Bobowski, Rendahl, y Vickers, 2015).

Recientemente se relaciona el consumo de sal con problemas cardiovasculares y de hipertensión arterial (Costa-Corredor y col 2009; Eoin, 2006; He y MacGregor 2010) ya que un gran porcentaje de la población tiene predisposiciones hereditarias a sufrir de este tipo de enfermedades (Jiménez y col, 2001, Hermansen 2000; Kloss, Meyer, Graeve, y Vetter, 2015). Lo que hace marcar una tendencia a bajar el contenido de sodio en los alimentos (Gelabert y col, 2003) y principalmente en la sal ya que se compone en un 40% del ion sodio (Eoin, 2006; He y col, 2010; Ruusunen y Puolanne 2005). Algunos estudios han demostrado que una disminución de Cloruro de Sodio en la dieta, reduce los riesgos cardiovasculares (Cook y col. 2007, Strazzullo y col. 2009, He y McGregor 2011, He y col. 2013) y consecuentemente los costos de salud pública (Barton y col, 2011; Briguglio y col. 2015).

El uso de la tecnología de sustitución del sodio presente en los alimentos preparados por medio de las sales potásicas (cloruro de Potasio) puede ayudar a proteger a quien lo consume, contra derrame cerebral, hipertensión, problemas del

ritmo cardiaco, insuficiencia renal y osteoporosis (Hall, 2003; Lilic y col. 2015). Sin embargo, no es suficiente la disponibilidad de este tipo de tecnología para las estrategias de reducción de sodio en la población, también debe tenerse en cuenta la información y creencias que tiene la población sobre los riesgos de salud, el conocimiento sobre ingesta de sal y la actitud y voluntad de cambio que se tenga para esto (Grimes y col 2009, Kim y col 2012; Bolhuis y col. 2015).

Desde una perspectiva sensorial, el hábito de la alimentación en los seres humanos ha trascendido a ser más que una necesidad biológica y se ha convertido en toda una experiencia cultural, social y económica (Borgogno y col., 2015). Es en el momento de la ingesta, que el sentido del gusto juega un papel muy importante en la aceptación o no del alimento, decisión que va más allá de todos los factores externos anteriormente mencionados y entran a hacer parte de este proceso todas las funciones fisiológicas del órgano del gusto. Para poder percibir el sabor de un alimento este debe difundirse por cada uno de los poros gustativos donde compuestos pequeños y difusibles como las sales, excitan en mayor proporción las terminaciones gustativas. Las primeras sensaciones del gusto son los sabores dulce, ácido, amargo y salado. Las papilas fungiformes (laterales) perciben el sabor ácido y salado, las papilas caliciformes (parte posterior de la lengua) perciben el sabor amargo (González y col, 2002).

Es así como en la gastronomía la sal sigue siendo un ingrediente indispensable, con una amplia gama de funciones tecnológicas en la elaboración de productos alimenticios (Armenteros y col, 2010; Patel y col. 2014), como: sopas, comidas preparadas, snacks y productos derivados de la carne. Estos productos se han convertido en los principales contribuyentes en la ingesta de sal en todo el mundo (Durack y col, 2008; Ahuja y col.2015). Es importante considerar, que además, de la sal usada en la preparación de algunos productos, otra fuente de sodio la constituye el contenido que los alimentos frescos contienen, en el caso de la carne fresca contiene una cantidad de sodio de 50-90 mg por cada 100g (Jiménez-Colmenero y col, 2001).

Intentar reducir la sal puede cambiar la percepción del sabor y la intensidad de otros sabores, resultando un producto cuyo gusto y aroma puede ser inferior a la del

producto original (Mitchell y col, 2011; Bobowski, Rendahl, y Vickers, 2015). Algunos autores plantean que no es posible hacer sustituciones totales del NaCl debido a que sales de otro tipo pueden afectar el sabor de los productos (Eoin, 2006; Gelabert y col, 2003; Jiménez-Colmenero y col, 2001). No obstante en la búsqueda de mecanismos para reducir los niveles de sodio en productos cárnicos, se plantean alternativas como el uso de sustitutos, en particular el uso de Cloruro de potasio (KCl), que a pesar de su sabor metálico, es frecuentemente incluido en las fórmulas y esto a ha incentivado investigaciones para reducir su amargura (Morris y col, 2010). También se han usado Cloruro de magnesio (MgCl), Lactato de potasio y la glicina, entre otros, en combinación con agentes mejoradores de sabor denominados “flavour-enhancers” o potenciadores de sabor, los cuales optimizan la percepción de sabor de la sal aumentando la salinidad en el producto y permitiendo que el sabor salino sea más biodisponible (Eoin, 2006). Un ejemplo de estos componentes son los hidrolizados de colágeno que permiten reducir sabores metálicos y amargos, posiblemente producidos por estas sales y en donde se alcanzan adicionalmente resultados satisfactorios en propiedades como color, vida útil y textura (Costa-Corredor y col, 2009).

En términos de textura en los productos cárnicos la sal adicionada alcanza niveles del 2 al 3% y es necesaria para que permita aumentar la capacidad de retención de agua y la capacidad emulsificante ya que al solubilizar las proteínas miofibrilares se abren las cadenas polipeptídicas y se dejan expuestos sus diferentes aminoácidos polares y no polares los cuales forman enlaces con el agua y la grasa (Horita y col. 2014).

Desde el aspecto de conservación, hace unos 5000 años los chinos descubrieron que la sal podría ser utilizada para preservar los alimentos y se volvió la materia prima más gravada y comercializada en el mundo hasta el invento del refrigerador (He y MacGregor, 2010). Comúnmente en la industria cárnica puede encontrarse que la sal no es el único conservante dentro de las formulaciones de los productos, pues se incluyeron otros tipos de conservantes, los cuales también realizan un aporte significativo de sodio como el Lactato y otras mezclas de sales, ya que son adicionados a los productos por su capacidad para prolongar la vida útil y mejorar

su seguridad microbiológica al reducir la actividad acuosa ( $A_w$ ) y al tener un efecto inhibitorio directo de los iones sobre ciertos microorganismos alterantes (Zhou y col, 2010). Adicionalmente en la búsqueda de garantizar la conservación e inocuidad de los productos cárnicos existen otras posibilidades de índole biológico, y es la adición de bacterias no patógenas productoras de ácidos orgánicos ó bacteriocinas, las cuales en su metabolismo producen sustancias con un efecto antagónico sobre otros microorganismos (Sarjit y Dykes, 2015).

De acuerdo con los aspectos antes descritos el objetivo de esta investigación es entender los fenómenos asociados al ion sodio en la preparación de productos cárnicos procesados y proponer alternativas para la reducción del sodio tradicionalmente usado en la elaboración de un jamón cocido de cerdo sin modificar sus características sensoriales y de vida útil.

## **2.2 Aspectos de salud y sodio**

Los seres humanos pueden sobrevivir en las dietas con una amplia gama de concentraciones de sodio y los resultados de Intersalt (Estudio de la presión arterial y la secreción de electrolitos en 32 países) informaron que la excreción urinaria media de sodio varió de 0,2 mmol / día en Yanomamo (indios en Brasil) a 242 mmol / día (Residentes de Tianjin, China). Esto corresponde a la ingesta diaria de aproximadamente 0,0046 g y 5,6 g de sodio, respectivamente. En Europa y América del Norte, la media de la ingesta diaria de sodio esta en el rango de 2,3 g (100 mmol) a 4,3 g (187 mmol) , (Reinivuo y col, 2006).

El impacto del exceso de sodio en la dieta sobre el sistema cardiovascular ha sido estudiado ampliamente en modelos experimentales con animales. La propiedad que tiene el sodio de incrementar la presión sanguínea ha sido demostrado en muchas especies (Maalouf y col.2015; Brian Penner y col, 2007). Una elevada tensión arterial es una de las principales causas de las enfermedades cardiovasculares, responsable del 62% del accidente cardiovascular y el 49% de la enfermedad coronaria. Se ha demostrado que un alto consumo de sal, un bajo consumo de frutas

y hortalizas (es decir baja ingesta de potasio) y la obesidad contribuyen al desarrollo de la hipertensión. (He y col 2010).

Existen tres mecanismos por los cuales, el sodio aumenta la presión arterial; el primero es el papel de los riñones, aunque no está entendido completamente como afecta el sodio a este órgano lo que sí está claro es que la primera anomalía que se presenta y da como resultado del incremento en la presión arterial es en el riñón; el segundo mecanismo es el volumen extracelular que resulta de la incapacidad del riñón para excretar sodio lo que genera un aumento en la retención de agua, dando origen a un aumento en el volumen y estimulando otros sistemas compensatorios, la persistencia de estos sistemas estimulan el incremento de la presión arterial con el fin de ayudar al riñón a excretar el exceso de sodio; por último el tercer mecanismo es la concentración del sodio plasmático ya que hay una relación directa entre el contenido intracelular y la tensión del músculo vascular liso (He y col, 2010).

Otros estudios demuestran que la hipertensión pueden tener efectos adversos sobre la función cerebral a través de una serie de mecanismos, incluyendo alteración del endotelio cerebral, autorregulación cerebral, microhemorragias cerebrales, hiperintensidad de la materia blanca (WMH), síntomas de Alzheimer como los cambios angiopatía amiloide y la atrofia cerebral (Fiocco y col, 2011).

Adicionalmente otro de los problemas relacionados con la hipertensión y el alto consumo de sodio, es el aumento en la secreción de calcio (Nowson y col, 2009). Generalmente el bajo consumo de calcio está asociado con la osteoporosis, hipertensión y cáncer de colon, varios autores sugieren que los derivados lácteos podrían ser una buena oportunidad como suplementos de calcio, dado que estos productos son consumidos por personas de todas las edades (Aliño y col, 2010), además incrementar el consumo de potasio puede ejercer un efecto protector contra el accidente cerebrovascular y también podría reducir la incidencia de cardiopatía coronaria y enfermedad cardiovascular (D'Elia y col, 2011).

También diversos estudios sostienen que niveles bajos de magnesio en el organismo están relacionados con problemas de hipertensión, con base en las propiedades vasodilatadoras que este catión posee, de hecho existe una clara relación dosis respuesta entre la ingesta de magnesio y la presión arterial (Beyer y

col, 2006). Reconociendo el papel que juegan estos minerales (Na, K y Mg) en el cuerpo se puede concluir que un desbalance en la concentración de estos afecta directamente la salud.

Micha y su grupo de investigación, discuten aspectos relacionados con el consumo de las carnes procesadas donde la evidencia actual sugiere el efecto nocivo de las carnes procesadas como factor de riesgo para la ECV y la DM2, siendo el contenido de sodio y otros preservativos más relevantes que los aportes de grasa total y saturada. Por lo anterior, mientras se realizan nuevas investigaciones para definir si según las categorías los efectos son diferentes en el riesgo cardiometabólico, con el respaldo de la evidencia actual sería prudente minimizar el consumo de todas las carnes procesadas. Así la industria debería focalizar sus esfuerzos en reducir el sodio y otros preservativos, lo cual sería muy importante para disminuir el daño generado a partir del consumo de carnes procesadas (Micha R y col 2012; Micha R y col 2013; Vidarium 2013).

Con la evidencia disponible sobre el efecto negativo del sodio en la salud, las recomendaciones para prevención primaria y secundaria están claramente dirigidas a disminuir su consumo. Por ejemplo, en el contexto de una alimentación saludable, la OMS recomienda un consumo de 5 g/día equivalente a 2.000 mg de Na (WHO 2003) por su parte The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure (JNC 7 report) sugiere un consumo no mayor a 6 g/día equivalente a 2.400 mg para lograr disminuciones entre 2 y 8 mm de Hg en la presión diastólica en sujetos hipertensos (Chobanian y col 2003) Sin embargo, la tendencia apunta a reducciones más significativas, como la propuesta por el Instituto de Medicina de los EEUU, que ha diseñado una estrategia para disminuir en toda la población el consumo de sal a 2,5 g/día equivalente a 1.500 mg/día de sodio. Al revisar las recomendaciones específicas para disminuir el sodio en la dieta, las carnes procesadas con frecuencia encabezan el listado de los alimentos a disminuir y/o eliminar.”(I.M.N.A 2010; Vidarium 2013)

El nivel de conciencia en salud, muestra un mayor grado de variación en toda la región de las Americas, como es el caso de Canadá y Estados Unidos que informan

que el 86% y 72% de la gente es consciente de su estado, en tanto Paraguay y Perú notifican niveles del 31% y 39%, respectivamente (Salud, 2009).

Se realizó una búsqueda en la organización mundial de la salud que dispone de una base de datos sobre las enfermedades crónicas y factores de riesgo en los estados miembros (OMS, 2012) y de los cuales se identificaron las siguientes enfermedades: Colesterol, Obesidad, Sobrepeso, Presión arterial. Posteriormente se realizó una búsqueda en **Scopus** (base de datos bibliográfica de resúmenes y citas de artículos de revistas científicas). A pesar de que el cáncer no aparece como enfermedad crónica, se decidió incluirla en la búsqueda de enfermedades asociadas al sodio.

Las ecuaciones para las búsquedas fueron las siguientes:

TITLE-ABS-KEY("SODIUM" AND "CANCER") AND PUBYEAR > 2007

TITLE-ABS-KEY("SODIUM" AND "CHOLESTEROL") AND PUBYEAR > 2007

TITLE-ABS-KEY("SODIUM" AND "OBESITY") AND PUBYEAR > 2007

TITLE-ABS-KEY("SODIUM" AND "OVERWEIGHT") AND PUBYEAR > 2007

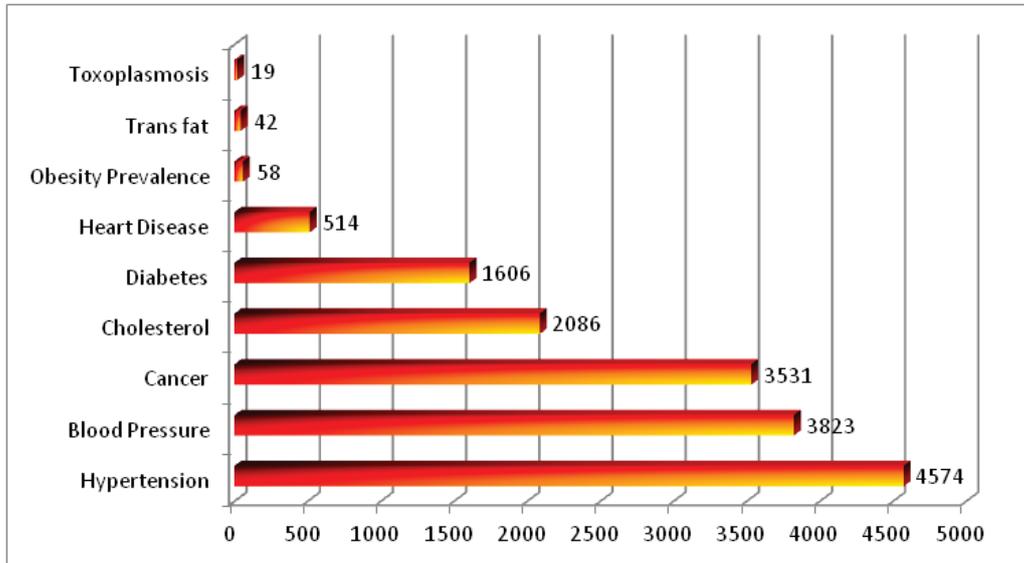
TITLE-ABS-KEY("SODIUM" AND "BLOOD PRESURE") AND PUBYEAR > 2007

TITLE-ABS-KEY("SODIUM" AND "HYPOTENSION") AND PUBYEAR > 2007

TITLE-ABS-KEY("SODIUM" AND "HYPERTENSION") AND PUBYEAR > 2007

Con la información obtenida se elaboraron los siguientes gráficos: El gráfico 1 muestra que la hipertensión es la enfermedad con más artículos publicados con un total de 4574, seguida de la presión sanguínea 3823 y cobra relevancia en el tercer el cáncer con 3531 publicaciones.

La situación descrita, ha traído como consecuencia, cambios en el perfil epidemiológico de la población, con una mayor incidencia de enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT): obesidad, diabetes tipo II, enfermedades cardiovasculares, hipertensión, accidentes cerebrovasculares y algunos tipos de cáncer, causantes de la más alta carga de morbilidad a nivel mundial (OMS 2002; OPS/OMS 2006).



**Gráfico 1** Número de Artículos publicados entre el 2008 y 2015, con relación a Sal y las enfermedades definidas como críticas en estados miembros de la OMS.

Fuente: SCOPUS Database

Según la Organización mundial de la Salud se estima que antes del 2020, las enfermedades crónicas, constituirán el 60% del total de las enfermedades y serán responsables del 73% de las muertes en todo el mundo. Colombia no es ajena a esta problemática, los datos de la Encuesta nacional de la situación nutricional en Colombia (2005), muestran que el sobrepeso y la obesidad representan el 32,3% y el 13,8% respectivamente, la mortalidad por enfermedad cardiovascular es de 113.4/100.000 habitantes (ADAP, 2005; OPS, 2002) constituyéndose en la primera causa de muerte en mujeres, la segunda en hombres y la primera en el grupo de 45 a 64 años de edad. La prevalencia de hipertensión arterial en mayores de 15 años es del 12,6% y el 7% de la población mayor de 30 años, padece diabetes mellitus (OMS, 2002).

El gráfico 2. Muestras que en promedio se publican 16 artículos en investigaciones de reducción de sodio cada año en el mundo siendo el año 2012, donde más publicaciones se han realizado en este tema.

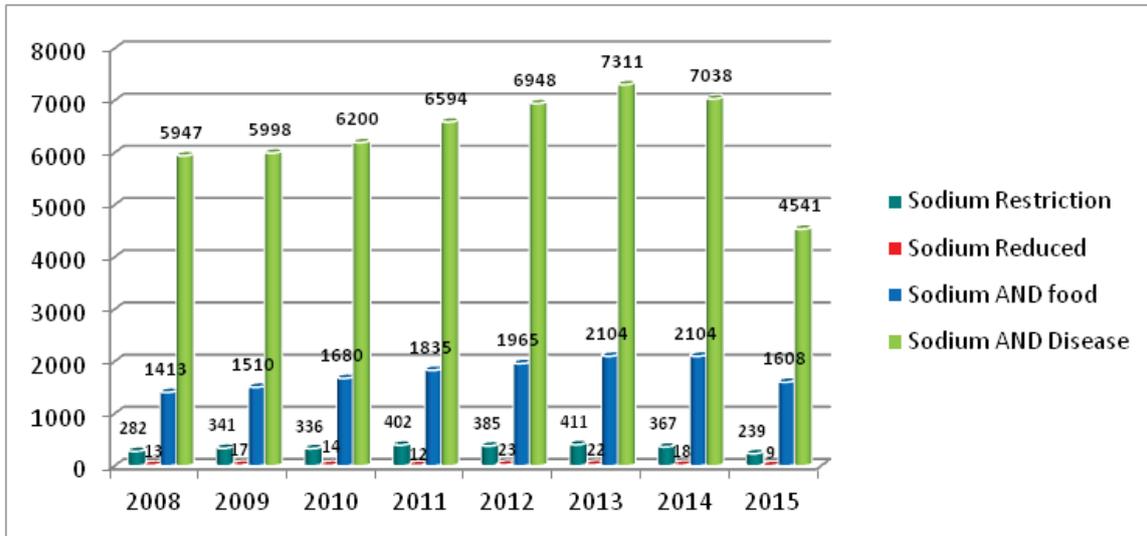
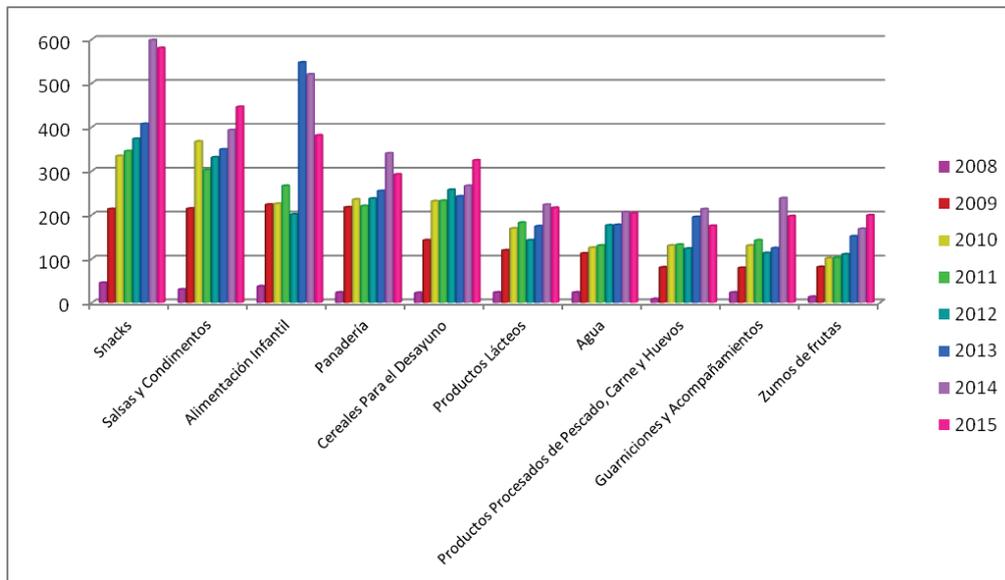


Gráfico 2. Número de Artículos publicados entre el 2008 y 2015, con relación a Restricción de Sodio, Sodio reducido, Sodio y Alimentos, Sodio y enfermedad.

Fuente: SCOPUS Database

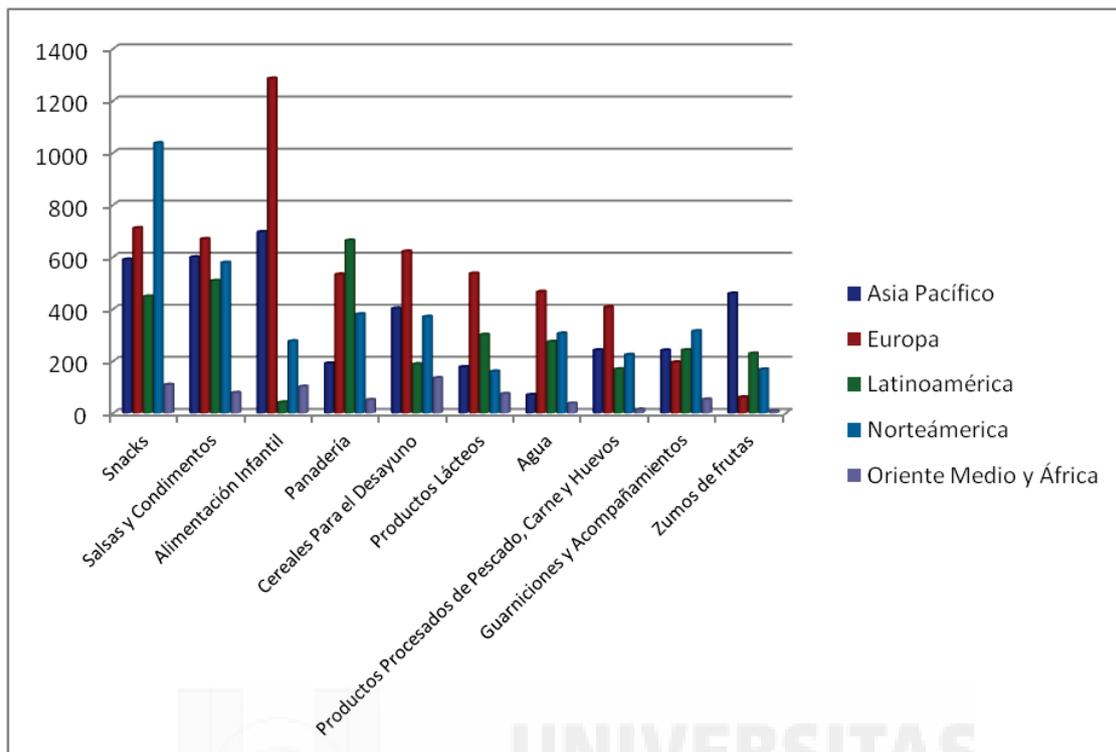
El gráfico 3 muestra que la categoría de Snacks, Salsas y condimentos, son la de mayor lanzamiento de productos con Claims de sodio con 598 en el año 2014, y 580 en el año 2015 (Resultados al mes de noviembre), la categoría de productos procesados de pescado y carne ha lanzado en promedio 177 productos por año en los últimos 4 años, siendo una de las categoría con mas bajo dinamismo dentro de los alimentos. De ahí la importancia de investigar nuevas formas de reducción de sodio que permitan dinamizar e innovar en la categoría de carnes procesadas.



**Gráfico 3.** Número de Productos lanzados en el mundo entre el 2008 y 2015\* con claims de "Bajo en Sodio/Sin Sodio".  
\*(Noviembre 20)

Fuente: SCOPUS Database

El gráfico 4 evidencia a Europa como el líder en lanzamientos de productos con Claims de sodio a nivel general, la categoría de snacks esta liderada por Norteamérica, la de panadería por Latinoamérica y la de zumos de frutos por Asia pacífico. En la categoría productos cárnicos procesados Latinoamérica ocupa el cuarto lugar en lanzamientos.



**Gráfico 4** Número de Productos lanzados en el mundo entre el 2008 y 2015, por región geográfica, con claims de “Bajo en/sin sodio”. Fuente: MINTEL

Es importante identificar el contenido sódico presente en los embutidos en Colombia, ya que esto permite tener evidencia de la problemática a la cual nos referimos como objeto de la investigación. El gráfico 5, muestra que las hamburguesas son el grupo de productos de más aporte de Sodio, debido a su porción de consumo de 100 g, seguida de los chorizos y las salchichas. En promedio el consumidor Colombiano esta consumiendo por porción de producto cárnicos procesado, un 25 % de sodio de la ingesta diaria recomendada, que para el caso colombiano es de 2400 mg de sodio por día. Esto representa una preocupación en las entidades gubernamentales ya que los embutidos junto con los lacteos y los productos de panadería, son los mayores aportantes de sodio en los alimentos procesados de dieta Colombiana, de ahí el interés del estado de generar estrategia de reducción de este elemento, que permita obtener dietas mas saludables en la población.

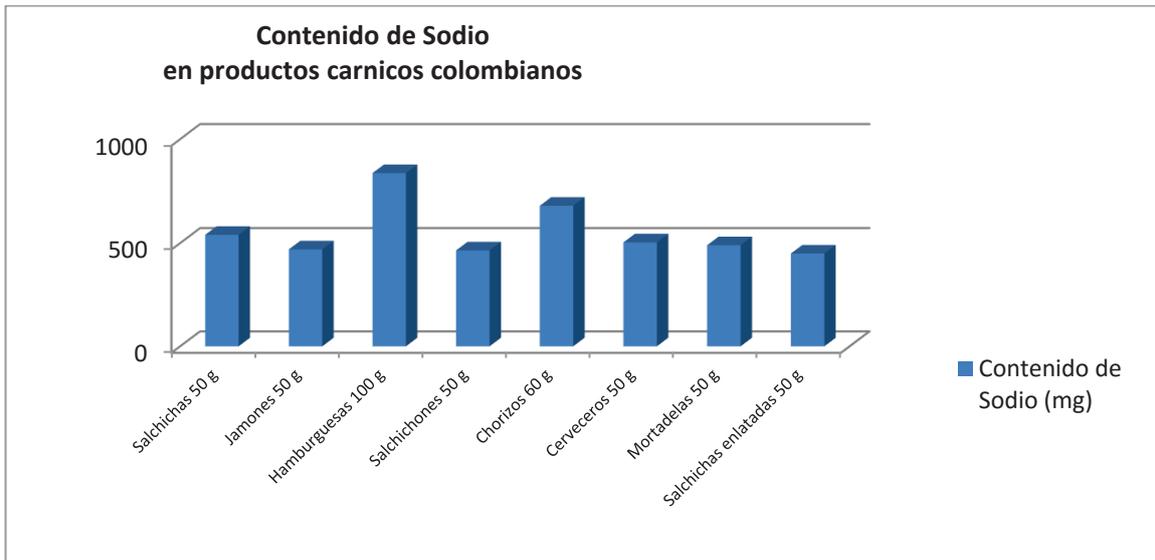


Gráfico 5. Contenido de sodio (mg) promedio por porción en el año 2013, en productos cárnicos colombianos

Fuente: Etiquetas de productos en el mercado Colombiano

### 2.3 Funcionalidad del sodio en la elaboración de productos cárnicos

La sal es la principal fuente de sodio en las formulas usadas para la elaboración de productos cárnicos, ha sido un ingrediente habitual en la elaboración de estos productos ya que cumple con varias funciones importantes para las características finales del productos. La sal es fundamental para la solubilización de las proteínas que hacen parte de la carne y que son necesarias al momento de desarrollar los geles y emulsiones usados en la la elaboración de los embutidos cárnicos. Otra función importante de la sal, por su contenido de sodio, es el efecto de conservación que cumple, sumada a otras fuentes de sodio como son los lactatos, los acidos organicos, entre otros. Finalmente, la sal es repsonsable del desarrollo de sabor, un aspecto fundamental para el consumidor de estos alimentos (Lilic y col.2015).

### **2.3.1. La sal y la solubilidad de proteínas cárnicas**

En el proceso de solubilización de las proteínas se produce una variedad de agregados de proteínas individuales no asociadas, como la sarcoplásmicas y miofibrilares, esta es última es en gran parte responsable de la gelificación y propiedades emulsificantes de productos cárnicos (Acton y col, 1978; Asghar y col, 1983;(Badii y Howell 2002). De la concentración de sal y tiempo de contacto con salmuera, se sabe que influyen en la solubilidad y desnaturalización de la proteína muscular, y que afectan la estructura de la matriz intra y extracelulares así como los efectos de la sal y curado sobre las proteínas también se han relacionado con la actividad enzimática, que se altera, pero no se elimina en el proceso de salazón (Stoknes y col 2005) afirmaron que las proteínas miofibrilares en cierta medida se degradan durante el salado y que las cadenas de miosina se rompen en fragmentos más pequeños durante este proceso, ya que influyen en la agregación de las proteínas y dan lugar a diferencias en la retención de agua y rendimientos en el peso durante el proceso (Thorarinsdottir y col, 2002; Nguyen y col, 2011; Goli y col. 2014). La razón es que el lento aumento en el contenido de sal conduce a una mayor inflamación de las miofibrillas en las etapas iniciales de la salazón. Al aumentar la distancia entre los filamentos de la proteína se facilita el ingreso de la sal en lugar de proteínas, es decir, que puede reducir el grado de agregación de las proteínas en concentraciones más altas (> 1MNaCl) (Thorarinsdottir y col, 2011).

### **2.3.2 El sodio y la vida útil de los productos cárnicos**

El mecanismo principal de la sal como conservante, es la reducción de la actividad acuosa e inhibición del crecimiento de microorganismos asociados a la producción de toxinas y descomposición del producto (Devlieghere F., 2009). En algunos casos el reemplazo de NaCl por KCl, CaCl<sub>2</sub> y MgCl<sub>2</sub> parece no reducir de manera significativa la cantidad de microbiota tolerantes a la sal y donde el género *Enterobacteriaceae* lactosa positiva y los Coliformes fecales no son afectadas por el reemplazo del NaCl (Aliño y col, 2010; Aaslyng y col. 2014).

El deterioro del jamón normalmente está acompañado por acidificación, exudados de la pasta, debido a la producción de gas y son generalmente causados por las bacterias ácido Lácticas (BAL). Los géneros principales implicados son *Lactobacillus* y *Leuconostoc*, como *Lb. Amor* y *Lb. Curvatus* (Vercammen y col, 2011; Magrinyà y col. 2015), respecto a la seguridad, la contaminación con patógenos como *Escherichia coli* O157: H7 o *Salmonella* es una preocupación, pero el peligro más importante es sin duda, *Listeria monocytogenes*, debido a su distribución generalizada del medio ambiente y capacidad de crecer en productos refrigerados (Talon y col, 2007).

### **2.3.3. El sodio y las características sensoriales de los productos cárnicos**

Más allá de las consecuencias técnicas, la reducción de sal en los alimentos también tiene un gran impacto en la aceptación de este, ya que generalmente presenta alteraciones en las características sensoriales y es un problema importante en el desarrollo de alimentos bajos en sal, donde es inútil elaborar alimentos procesados con un nivel reducido de sal, que no sean aceptados por el consumidor debido a una barrera del gusto (Nasri y col, 2011) .

El sabor no es una sola entidad, y es generalmente considerada como una combinación de tres tipos de respuestas quimio-sensoriales: los sabores básicos, compuestos aromáticos y estímulos del trigémino (Keast y col, 2004). Con respecto al sabor salado, uno de los aspectos más importantes a considerar, es la concentración de sodio salival ya que los receptores del gusto se empapan en saliva y se adaptan al nivel de sodio de este líquido para provocar una sensación de salado, este nivel se debe superar por una cantidad determinada en el individuo donde la solubilización implica la unión de las moléculas de agua con los iones de la sal. Este fenómeno es conocido como "salting-out". (Flores y col, 2007) e influye en la percepción de muchas características del sabor que depende en gran medida de la naturaleza y de la matriz del alimento que controla la liberación del sabor en

cada etapa de la preparación de productos y su consumo (Ruusunen y Puolanne, 2005; Aaslyng, Vestergaard, y Koch, 2014)

Todos los atributos sensoriales son afectados por el reemplazo parcial del NaCl (Armenteros y col, 2011). El más notable cambio a nivel sensorial como producto de la reducción de la sal es el aumento de la amargura, que puede ser debido a una pérdida de la inhibición de la amargura por la sal, o la amargura inherente en algunos sustitutos esta (Bobowski y col. 2015). La amargura que se percibe es considerada como algo negativo y un atributo indeseable en muchos productos, y este es otro factor que hay que tomar en consideración. (Kilcast D, 2007). A pesar de que el KCl es el principal responsable de la amargura en los productos cárnicos, es la mejor propuesta para la sustitución parcial del NaCl y la ventaja que ofrece es que el consumo de esta sal no está relacionada con la hipertensión ni problemas cardiovasculares (Buemi y col, 2002; Geleijnse y col, 2007; Kimura y col, 2004).

En Gran Bretaña, CASH (Consensus on Action on Salt and Health) confirma, que la reducción de 10 a 25% en el contenido de sal de los productos, no es detectada por los receptores del sabor salado, los consumidores prefirieron los alimentos con menos sal y la seguridad del producto no se afecta. Otros estudios analizaron diferentes alternativas para reducir el Cloruro de Sodio en productos cárnicos procesados, encontrando que niveles de NaCl por debajo de 1,4% en salchichas cocidas y de 1,75% en productos cárnicos bajos en grasa, producen un gel estable al calor, firme y con buena retención de agua y de grasa, y se percibe un aceptable sabor salado (Ruusunen y col, 2005). Además estudios de aceptación de salchichas fermentadas típicas en España con diferentes niveles de sustitución de NaCl, muestran que los productos en los cuales se hizo la sustitución del 50% de sal por KCl y en las que se sustituyó el 50% de NaCl con una mezcla de 40% de lactato de potasio y 10% de KCl tuvieron una alta aceptación (Guárdia y col, 2006), adicionalmente se han conseguido reducciones del 45% NaCl en jamon curado mediante el uso de KCl ( 25%), CaCl<sub>2</sub> (15%), MgCl<sub>2</sub> (5%) según (Aliño y col, 2010), también otros estudios realizados por (Aliño y col, 2009) alcanzaron un reemplazo de 50% del sodio en la misma matriz, y resultados similares fueron obtenidos por (Armenteros y col, 2011) en derivados de pescado.

Otra manera de reducir la sal en los productos es usando otras formas de la sal como la encapsulada donde se han logrado reducciones hasta de un 50% en producto de panadería (Noort y col, 2011). Todos estos alcances se han conseguido sin ningún cambio significativo tanto en la parte sensorial como de vida útil y el reto es superar el 70% de sustitución sin sacrificar las características sensoriales.

## **2.4 Alternativas para la sustitución y reducción de sodio en la industria de alimentos.**

### **2.4.1. Solubilidad de proteínas.**

Las dos materias primas asociadas directamente con la solubilidad de las proteínas cárnicas son la sal por sus iones cloro y sodio y los polifosfatos de sodio que pueden ser Tripolifosfatos de sodio y Pirofosfato tetrasódico para pH altos y pirofosfato ácido de sodio para pH relativamente bajos (Sarjit y Dykes, 2015). La industria a desarrollado polifosfatos de Potasio y cloruros de potasio que permiten una funcionalidad similar en proceso de fabricación de los embutidos, pero solo se pueden hacer sustituciones parciales, ya que los sabores residuales que dejan estas materias primas (sabores amargos y metálicos) pueden influir negativamente en la aceptación del producto (Horita y col. 2014).

Otras alternativas que se están explorando en el segmento de embutidos cárnicos son la sustitución de polifosfatos por retenedores de humedad como lo son; fibras vegetales y almidones modificados, esto permite hacer una “corrección” de la textura cuando no se ha logrado una suficiente solubilización de las proteínas cárnicas (Felisberto y col. 2015).

Por último, las mezclas de ácidos orgánicos también se proponen como una opción de sustitución de los polifosfatos, ya que permiten actuar como un condicionador de las proteínas cárnicas, favoreciendo su solubilidad (Kloss y col. 2015; Sarjit y Dykes, 2015).

#### 2.4.2. Conservantes no sódicos en alimentos (Vida Útil)

Las sales de ácidos orgánicos como el lactato de sodio, lactato de potasio y diacetato de sodio se utilizan ampliamente por la industria de la carne para aumentar la vida útil, mejorar el sabor a los productos y para proporcionar un mejor control de patógenos de origen alimentario. El lactato de Potasio y lactato de calcio son igualmente eficaces como el lactato de sodio en el control del crecimiento de las bacterias en la carne y actividades antilisterial (Devlieghere y col, 2001; Magrinyà y col. 2015; Horita y col. 2014)

Otra alternativa que tiene la industria cárnica para extender la vida útil de los productos es la utilización de ácidos orgánicos como el fumárico que ha demostrado su gran efecto inhibitorio de los microorganismos *Listeria monocytogenes* y *Salmonella typhimurium* según (Song y col, 2011), otros ácidos orgánicos probados como alternativa son los acetatos y diacetatos que de manera sinérgica han demostrado su efecto inhibitorio sobre *Listeria* en derivados cárnicos según los estudios realizados por (Devlieghere y col, 2009).

Las bacteriocinas son reconocidas como bioconservantes seguros y naturales, y son degradados por las proteasas en el tracto gastro-intestinal, donde pueden ser útil como obstáculo principal para el control de patógenos en alimentos (Chollet y col, 2008) . Se han desarrollado variedad de bacteriocinas ya que es una de las tendencias como agentes conservantes y han demostrado su eficacia en productos cárnicos según (Gálvez y col, 2007), una de las bacteriocinas mas común es la nisina, la cual ha demostrado su efectividad contra los microorganismos de los jamones como la *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* , *Staphylococcus aureus* (Hereu y col, 2011; Jofré y col 2008). Uno de los microorganismos que produce bacteriocinas son los que pertenecen a la especie *Carnobacterium* aunque no se ha encontrado evidencia científica sobre el efecto que tiene sobre la microbiota alterante del jamón si se ha usado en otros alimentos procesados como derivados de la actividad piscícola (Groth Laursen y col, 2005), que lo hace una buena alternativa para el uso de éste en la industria cárnica.

### 2.4.3. Sabor

Compuestos como los extractos de levadura, son objeto de investigación para su utilización como potencializadores de sabor salado en los productos cárnicos procesados, pues son ricos en ácido glutámico y otros nucleótidos, y tienen la propiedad de acentuar el sabor (Kloss y col. 2015). Algunos estudios muestran que la adición de 0,1-0,5% de extracto de levadura, reduce la adición de sal en un 40 a 60%, sin compromiso del sabor y otras características organolépticas. También potenciadores del sabor salado como el glutamato monosódico son muy usados en la industria y se incluyen en la lista de aditivos con el número E-600. Los nuevos aditivos han avanzado para intervenir en las características sensoriales como cuerpo, textura y palatabilidad a los alimentos, volviéndolos menos salados, es el caso de la guanosina 5' fosfato (GMP), cuya adición a platos con carnes y derivados cárnicos permite reducir un 50% la sal añadida, al tiempo que aumenta la percepción del sabor umami, comparable al de la carne. La inosina 5' monofosfato (IMP) y sus sales se emplean para potencializar sabores en sopas, salsas, salchichas, snacks salados como papas fritas, platos precocidos y aderezos como salsas y cremas, entre otros (Alimentaria, /2012).

La trehalosa es un disacárido no reductor. Conocido comercialmente como ASCENDTM, se ha utilizado como potenciador del sabor en los alimentos listos para comer, como carne y productos avícolas. A partir de estudios llevados a cabo por los fabricantes, Cargill, ASCENDTM puede efectivamente reducir o eliminar atributos, tales como metálico, amargo y astringente. Solicitud de patente europea EP08 13820 describe el uso de la trehalose para aumentar la salinidad de cloruro de sodio sin impartir ningún gusto y sabor insatisfactorio a los productos alimenticios.

Varios Dipéptidos derivados de L-ornitina ha sido descrita como salados. Entre ellos, la L-ornitiltaurine monoclóhidrato (Om-Tau.HC1) y ornitil-3-alanina monoclóhidrato (H-Om-9-Ala-OH.HC1) han sido usados para exponer el sabor salado de manera más fuerte y más claro sin ser acompañados por un sabor amargo. El Omitl-3-

alanina (OBA), Se ha encontrado que produce y mejora la salinidad del cloruro de sodio. Sin embargo, este es un ingrediente muy costoso para la síntesis, también se señala que una salinidad 20 veces mayor que la de cloruro de sodio es necesaria para evitar el consumo excesivo de aminoácidos o péptidos. (Kilcast D, 2007).

En cuanto a los Lactatos, hay tres tipos principales de sales que han sido reportados como potenciadores de sabor salado y son potasio, sodio y calcio. Lactatos de potasio y sodio son ampliamente utilizados en la industria de la carne y aves de corral como agentes antimicrobianos. Además se han utilizado en los productos cárnicos reducidos en sal y se encontró que pueden mantener un cierto nivel salado. Su aplicación para este propósito, sin embargo, no es generalizada. El lactato de calcio es a menudo añadido a los alimentos como una sal orgánica de aniones sin embargo, tiene un componente amargo considerable (Choi y col. 2014).

## **2.5 Conclusiones**

La industria cárnica cada vez se ve más influenciada por la tendencia de productos saludables, proceso que hace algunos años empezó la industria láctea y hoy ha generado muchas opciones alrededor de este concepto, especialmente las leches fermentadas que han ganado un gran terreno en la percepción de salud. Sin embargo segmentos de alimentos como los derivados cárnicos son asociados a enfermedades crónicas como la Hipertensión y la obesidad y tiene un gran reto en la sociedad, para contrarrestar esta situación, pues los niveles altos de sal los han catalogado como alimentos perjudicial para la salud. Esto ha llevado a que la ciencia investigue y desarrolle una variedad de materias primas de origen químico y orgánico, que permita a la industria de alimentos reducir el sodio, sin demeritar los atributos sensoriales, que el consumidor no esta dispuestos a sacrificar. Hasta el momento no ha sido posible eliminar 100% la sal, nio el sodio, sin afectar las características de sabor, textura y vida útil, pero algunos autores proponen retos del 70% de disminución logrado.

Latinoamerica evidencia un panorama muy bajo en propuestas de innovación en productos cárnicos procesados, lo que indica que propuestas de investigación enfocadas a la reducción de sodio en esta región , tienen una alta pertinencia ya que permitirá estar a la vanguardia de las tendencia de salud que se viven a nivel mundial.Especialmente en países como Colombia donde la cobertura del sistema de salud es bajo y los programas preventivos y de concientización de la sana cultura alimenticia no son ampliamente divulgados.

A continuación en la tabla 1 se resumen los principales ingredientes y sus porcentajes de sustitución de sodio embutidos cárnicos encontrados en el estado del arte, se eviden que el Cloruro potásico es la principal fuente de sustitución de la sal común, adicionalmente se identificaron en menor proporción hallazgos de sales de lactato y acidos organicos en conservación y de nucleótidos en potencializador de sabor.



Tabla 1. Resumen Sustitución o reducción de Sodio en Productos Cármicos.

Autor	Producto	Características analizadas	Materias primas utilizadas	Alcance o sustituciones	Conclusiones
Armamenteros. Y col. (2009)	Lomo curado con sal	Color, Textura, aroma, sabor y calidad en general, proteólisis y lipolisis	NaCl, KCl	Utilizó: I. 100% NaCl II. 65% NaCl y 35% KCl III. 50% NaCl y 50% KCl IV. 30% NaCl y 70% KCl	El reemplazo por encima del 50% de NaCl no afectó de manera significativa la proteólisis, ni la lipolisis. Con respecto al sensorial no se encontró diferencias marcadas al momento de reemplazar hasta un 50% de NaCl incluso fueron la mejor valoradas
Armamenteros y col (2011)	Lomo curado con sal	Aroma ,sabor, Dureza y Jugosidad, proteólisis y lipolisis	NaCl, KCl, CaCl <sub>2</sub> , MgCl <sub>2</sub>	Utilizó: I. 100% NaCl II. 50% NaCl y 50% KCl III. 55% NaCl, 25% KCl, 15% CaCl <sub>2</sub> and 5% MgCl <sub>2</sub>	La formulación III, no tuvo cambios significativos desde el punto de vista de la proteólisis y lipolisis, pero desde el punto de vista sensorial fueron afectadas de forma negativa todos los atributos evaluados y la formulación II tuvo puntajes similares al control pero en el sabor fue rechazado por su sabor amargo.
Talon y col (2010)	Salami italiano	Composicion físico-química y sensorial	NaCl, KCl, CaCl <sub>2</sub> y MgCl <sub>2</sub>	100% NaCl 50% NaCl, 25% KCl, 12.5% CaCl <sub>2</sub> y 12.5% MgCl <sub>2</sub>	La reducción implicó una pronta oxidación lipídica lo que a corto dramáticamente la vida útil del producto, además de esto la reducción de Na en este producto esta limitado por los cambio sensoriales que sufre al ser retirado el sodio.
Guardia y col (2006)	Salchichas fermentadas	Aceptacion	NaCl, KCL y Lactato de Potasio	No especifica	Se puede llevar a cabo una reducción hasta del 50% NaCl, sustituido por una mezcla de KCl/ Lactato de Potasio en proporciones (4:1, 3:2 y 2:3) sin modificar la aceptación del producto.
Autor	Producto	Características analizadas	Materias primas utilizadas	Alcance o sustituciones	Conclusiones

Aliño y col (2010)	Productos cárnicos	Microbiología	NaCl por KCl, CaCl <sub>2</sub> y MgCl <sub>2</sub>	No específica	La sustitución de sales no reduce significativamente la microbiota alterante
Aliño y col (2010)	Jamó curado	Aceptación	de KCl (25%), CaCl <sub>2</sub> (15%), MgCl <sub>2</sub> (5%)	Reducción del 45% de Na	Se puede hacer reducciones hasta el 45% con buena aceptación del producto.
Ruusunen y col 2005	Salchichas cocidas Productos bajos en grasa	Textura	Disminución de NaCl	1.4% en Salchichas 1.75% en Productos bajos en grasa	producen un gel estable al calor, firme y con buena retención de agua y de grasa, y se percibe un aceptable sabor salado
Devliegherey col, (2001)	Carne	Vida Útil	lactato de Potasio y lactato de calcio	Sustitución	Control de crecimiento bacteriano
Song y col, (2011)	Productos cárnicos	Seguridad alimentaria	Acidos Organicos (Fumarico)	Adicion	efecto inhibitorio de los microorganismos <i>Listeria monocytogenes</i> y <i>Salmonella typhimurium</i>
Devlieghere y col, 2009	Productos cárnicos	Seguridad alimentaria	los acetatos y diacetatos	Adición	efecto inhibitorio sobre <i>Listeria</i>
Hereu y col, (2011); Jofré y col (2008)	Jamones	Seguridad Alimentaria	Bacteriocinas, Nisina	Adición	Efectividad sobre <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>
Alimentaria, (2012)	Platos con carne	Sabor	guanosina 5' fosfato	Reduccion 50% de sal	Potencializador de sabor salado
Cargill (2010)	Productos cárnicos y avícolas	Sabor	Trehalose	Adición	Elimina atributos, tales como metálico, amargo y astringente
Kilcast D, 2007	Alimentos	Sabor	Omethyl-3-alanine	Adición	Produce una percepción de salinidad 20 veces mayor que la de cloruro de sodio



### **3. OBJETIVO GENERAL**

Entender los fenómenos asociados al ion sodio en la preparación de productos cárnicos procesados y proponer alternativas para la reducción del sodio tradicionalmente usado en la elaboración de un jamón cocido de cerdo sin modificar sus características sensoriales y de vida útil.

#### **3.1 Objetivos específicos**

Identificar los ingredientes que aportan sodio en la fórmula tipo de un jamón de cerdo y establecer cuál sería el impacto de reducir o sustituir su adición en la fórmula del producto.

Determinar los principales impactos en la solubilidad de proteínas, características organolépticas y de conservación, cuando se reduce o sustituye el contenido de sodio en la fórmula del producto.

Explicar los fenómenos funcionales que se presentan asociados a la reducción o sustitución del sodio en la fórmula del producto.

Proponer alternativas para hacer la mayor reducción o sustitución del sodio usado como parte de la fórmula de un jamón cocido sin que se afecte la funcionalidad de este en sus características organolépticas, textura y vida útil.



## 4. MATERIALES Y METODOS

El diseño de la fase experimental de la investigación se abordó desde las tres funciones que cumple la sal en la elaboración de un producto cárnico cocido, esta forma de realizar la investigación permite abordar en forma integral el impacto que tiene la sustitución de este ingrediente. Las tres partes que componen la investigación están relacionadas con la solubilidad de las proteínas que componen la materia prima cárnica, el aporte que hace a la conservación del producto y su impacto en el desarrollo del sabor.

### 4.1 Funcionalidad de la sal en la Solubilidad de las proteínas

A continuación se describe la metodología para medir la incidencia de la sustitución y reducción del Cloruro y polifosfato de Sodio en la solubilidad de las proteínas cárnicas extraídas en la salmuera de un jamon cocido en proceso. Es importante reiterar que la solubilidad de la proteína esta asociado a los iones Cloruro, por lo cual se plantea este capítulo como funcionalidad de la sal y no del sodio exclusivamente.

#### 4.1.1 Formulación

Se definieron nueve formulas de salmuera para un jamón tipo fiambre con una extensión del 90%, de la siguiente manera:

*Formula base:* 55% de Carne de cerdo, Salmuera (31.67% Agua-hielo, 6.3% Almidón de trigo, 0.021% Colorante natural, 2,5% Proteína de soya, 2% Maltodextrina, 1% Leche en polvo, 0.7% Sacarosa, 0.53% Carragenina refinada (p/p), 0.063% Eritorbato de sodio, 0.037% de Nitrito de sodio).

La sustitución del ión sodio, se dió en el reemplazo de Cloruro Sódico por Cloruro Potásico, y en Polifosfatos de Sodio por un sucedáneo de esta materia prima que es una mezcla de ácidos orgánicos proporcionada por la empresa Griffith<sup>®</sup> Laboratories USA

#### **4.1.2 Proceso de elaboración de muestra**

El proceso de elaboración de cada fórmula citada en la Tabla 2, se realizó de forma aleatoria en la planta piloto del Centro de Investigación y Desarrollo de Industria de Alimentos Zenu, ubicado en la ciudad de Medellín, Colombia. La preparación de cada salmuera se procesó siguiendo el orden de adición necesario para la homogenización total de todos los componentes de la fórmula, en una licuadora industrial Modelo CLE 12/90 (Colcocinas, Medellín Colombia). Posteriormente se dispuso el material cárnico, (pierna magra de cerdo en condiciones de refrigeración  $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ ) en el Tumbler 100Lt con vacío continuo (Talsa, Medellín Colombia) y se incorporó la salmuera según la fórmula. El proceso en el Tumbler se efectuó con temperatura de refrigeración  $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ , tuvo una duración de 120 min, 5 masajeos cada uno de 20 minutos, cuatro tiempos de reposo de 5 minutos cada uno y un programa de 14 giros por minuto. Luego de este masajeo se realizó un filtrado de la salmuera, con una malla metálica comercial número 18, (tamaño de partícula de 1,2 milímetro), para separar los trozos y fibra cárnica de la muestra de salmuera a evaluar. La cual denominaremos salmuera filtrada.

#### **4.1.3 Diseño experimental**

Se usó como base la fórmula descrita en el ítem 4.1.2, los factores del diseño experimental fueron el tipo y cantidad de cloruro y el tipo y cantidad de agente emulsificante como se observa en la Tabla 2. Se realizó un diseño factorial con selección de combinaciones para 9 tratamientos y 2 replicas por tratamiento, todas las replicas fueron elaboradas con bloqueo de materias primas cárnicas y no cárnicas y se procesaron de manera aleatoria. Se consideraron como variables respuesta en la salmuera filtrada; Tensión superficial, Reología, pH, Fuerza de Gel, Cuantitativo de proteína OPA, BCA, Kjeldahl.

**Tabla 2.** Concentración, tipo de sal y agente emulsificantes de los diferentes tratamientos objeto de estudio.

Tratamiento	Tipo de Sal	Tipo de agente emulsificante	% de Sal estudio	% de sal en la salmuera	% de agente emulsificante estudio	% de agente emulsificante en la salmuera
T1 y T10	NaCl	PS	100	4,30	100	1,10
T2 y T11	NaCl	PS	50	2,15	50	0,55
T3 y T12	Ausencia	PS	0	0,0	100	1,10
T4 y T13	Ausencia	Ausencia	0	0,0	0	0
T5 y T14	NaCl	Ausencia	100	4,30	0	0
T6 y T15	KCl	Ausencia	100	4,30	0	0
T7 y T16	Ausencia	MAO	0	0,0	100	1,10
T8 y T17	KCl	MAO	50	2,15	50	0,55
T9 y T18	KCl	MAO	100	4,30	100	1,10

Los porcentajes de sal en formula final equivalen a 2,0 % y de Polifosfatos de sodio a 0,5%, ya que es una salmuera para una extensión del 90% (100 kg de carne, 90 de salmuera). PS=Polifosfatos de Sodio, MAO= Mezcla de ácidos organicos

#### 4.1.4 Técnicas de análisis

Para analizar la extracción de proteínas por efecto de la sal se han implementado varios métodos como: Biuret (Torten, 1964), , fluorescencia (R.W, 2011). Microscopia electrónica de barrido (Comfort y Howell, 2003), colorimetría (Lowry y col, 1951) y electroforesis (Laemmli, 1970) que es una de las técnicas que se ha utilizado por autores como (Toldrá, 1993, Toldrá y col, 2000, Armenteros, 2010) donde se confirmaron los cambios moleculares que sufren las proteínas cárnicas al ser sustituida parcial o totalmente la sal. Estos cambios se reflejan en la cantidad de aminoácidos presentes en el corrido, donde algunas mezclas de sales presentan menor o mayor cantidad de aminoácidos fraccionados. Otras de las técnicas que se están utilizando para este análisis es la espectroscopica de fluorescencia (Estevez y col, 2008) pero han mencionado que esta técnica puede sobrestimar los carbonilos, lo que daría lugar a falsas lecturas sobre el grado de hidrolisis de las proteínas. Con respecto a la microfotografía ha sido utilizada por (Astruc y col, 2008) donde manifiesta que con esta técnica se podían observar los cambios que sufrían las proteínas miofibrilares al utilizar sustitutos de la sal. Otras formas en que se ha demostrado científicamente los cambios que se producen en la extracción de

proteínas ha sido a través de la reología que como lo demostraron (Ahmed y Ramaswamy, 2007; Comfort y Howell, 2003) hallaron que los iones monovalentes tienen un impacto directo sobre la fuerza de corte. También la tensión superficial de los alimentos es afectada por la cantidad y tipo de proteínas disponibles según (Romero y col, 2011; Rouimi y col, 2005).

A continuación se describen las técnicas usadas en el desarrollo de esta investigación

#### **4.1.4.1 Tensión superficial en salmuera**

Se realizó en un tensiómetro (KRÜSS K12, Alemania), limpiando previamente los aditamentos como, vaso portador de la muestra y el plato Wilhelmy con un detergente líquido. Posteriormente se efectúa una degradación por incineración de las moléculas tenso-activas de este agente limpiador para eliminar cualquier tipo de residuo que afecte el valor de tensión superficial.

Cada una de las muestras de salmuera filtrada se acondiciona hasta alcanzar una temperatura de 25°C. Seguidamente la muestra a evaluar se colocó en el vaso portador y se llevó a la plataforma del tensiómetro la cual permanece durante todo el proceso a 25°C. El vaso portador se tapó para reducir la probabilidad de evaporación de la muestra. Los parámetros de medición se programaron en el software KRÜSS Laboratory Desktop (Alemania): velocidad de la plataforma 6mm/min, Sensibilidad de detección de 0.01g, profundidad de inmersión 4mm para garantizar que todo el perímetro del plato se moje con la muestra, gas dentro de la cámara: aire. Tiempo de medición total: 3 horas. El registro de datos es reportado cada 5 segundos durante 3 horas y es graficado en una curva de tensión superficial en función del tiempo.

En estudios previos en este trabajo, se encontró que una salmuera sin sal y sin contacto con carne (*sin masajeo*), alcanza una tensión superficial de 53mN/m, y cuando se le agrega una cantidad de sal correspondiente al 50% del contenido en la fórmula estándar, genera una disminución de la tensión superficial hasta un valor de aproximadamente 49 mN/m, favorecido por efecto de la fuerza iónica correspondiente a tal cantidad de sal. Mientras que al agregar una cantidad de sal

igual a la contenida en la formulación estándar (100% NaCl) se obtiene un valor de 57 mN/m, mayor que para la salmuera sin sal y la salmuera con 50% de NaCl, lo cual podría indicar que aumentar el nivel de sal hasta el correspondiente contenido en la formulación estándar produce un aumento tal de la fuerza iónica que induce cambios conformacionales en las proteínas, tornándolas más hidrofílicas e induciendo un fenómeno de *salting in*, por lo tanto provocando un incremento en el valor de tensión superficial ya que como lo plantea Mohad, Ramachandran y Sankar 2006, las interacciones hidrofóbicas juegan un papel clave en la estabilidad de las estructuras de las proteínas nativas y ayudan a indicar el grado de desplegamiento de la proteína durante métodos de transformación diferentes; cuanto mayor es la hidrofobicidad mayor desenvolvimiento de esta. Además una proteína que sea buen agente emulsionante, debe mostrar un notable nivel de hidrofobicidad. En particular, la hidrofobicidad de superficie es alta si se tiene alta la solubilidad de los extractos de proteína cárnica, como hidrofobicidad y solubilidad a menudo se ha informado de una correlación negativa (Li-Chan y col, 1984)

Por lo anterior se estableció la tensión superficial como variable a explorar en la industria cárnica y seguir con ensayos experimentales donde se pretende encontrar información relacionada con:

- Extracción diferencial de proteínas hidrofóbicas de mayor actividad superficial.
- Cambios conformacionales en las estructuras protéicas por efecto salino, que causen variación en el carácter hidrofóbico o hidrofílico de las proteínas.
- Diferenciación de los tratamientos, mediante la actividad superficial de las proteínas en cada tratamiento (cuanto disminuye la tensión superficial), y la cinética con que lo logra (en el tiempo de análisis cual es

la magnitud del cambio en el valor de tensión superficial), es decir hacer un seguimiento de efectividad y eficiencia.

Para el análisis estadístico los tratamientos se procesaron con el Software de R 2010 y se realizará una Regresión local no paramétrica de comparaciones pareadas

#### **4.1.4.2 Viscosidad**

Se usó un Reómetro Bohlin Gemini HR nano (Malvern Instrument, Malvern, Inglaterra) con una geometría de cilindros concéntricos C25 Din. Cada muestra de salmuera filtrada pasó por un pre-acondicionamiento aplicando una velocidad de cizalla de  $50\text{s}^{-1}$  durante 10s. Posteriormente se dejó reposar la muestra durante 30s con el objetivo de eliminar la memoria de la muestra ha evaluar antes de la prueba de gelación, la muestra queda en reposo hasta que alcance una temperatura de  $25^{\circ}\text{C}$ . La medición consiste en realizar un perfil o rampa de temperatura iniciando a  $25^{\circ}\text{C}$ , hasta  $74\text{-}75^{\circ}\text{C}$  en 600s. Se aplico un esfuerzo de cizalla constante de 10 Pa durante todo el proceso de calentamiento. (Software Gemini 200 HR nano). Los datos son representados en una curva de viscosidad de la muestra en función de la temperatura.

Para el análisis estadístico los tratamientos se procesaron con el Software de R 2010 y se realizará un análisis de regresión local no paramétrica de comparaciones pareadas.

#### **4.1.4.3 Fuerza de Gel**

De cada muestra de salmuera filtrada se tomaron 9 alícuotas de salmuera filtrada y se envasaron en envases metálicos cilíndricos de 61x 61mm, las cuales posteriormente fueron selladas herméticamente con tapas metálicas (Lanico Maschinenbau Otto Niemsch, Alemania). Se realizó un proceso de cocción en baño maría a  $90^{\circ}\text{C}$  durante 1 hora hasta alcanzar una temperatura de  $78\pm 1^{\circ}\text{C}$  interna de

la muestra, con el propósito de permitir la gelificación de todos los componentes de la salmuera y simular las temperaturas reales de cocción a la que es sometido el jamon a nivel industrial. Las latas fueron enfriadas hasta una temperatura de  $6\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Una vez alcanzada esta temperatura se destapa el envase y se efectúa el análisis de fuerza de gel por penetración en un tuextorómetro TA-XT2i Texture Analyzer, Stable Micro Systems, Halsemere utilizando un cilindro de 5mm de diámetro (SMS P/4) con una celda de 5Kg a una velocidad de 1.00mm/s y una distancia de penetración de 10mm. Los datos son representados en una curva de fuerza en función del tiempo. El resultado para cada salmuera equivale al valor medio de 9 mediciones.

Para el análisis estadístico los tratamientos se procesaron con el Software de R 2010 y se realizó un análisis de varianza con efectos mixtos

#### **4.1.4.4 Medición de pH**

Para la determinación del pH se utilizó el Potenciómetro Microprocessor pH-211 (Hanna Instruments, Woonsocket, RI, Estados Unidos) con medición directa por electrodo de vidrio (Spearhead Electrode). La temperatura a la cual se hicieron todas las mediciones fue de  $6^{\circ}\text{C}$ .

Para el análisis estadístico los tratamientos se procesaron con el Software de R 2010 y se realizó un análisis de varianza de efectos fijos.

#### **4.1.4.5 Caracterización de proteínas en salmuera (Electroforesis)**

Los análisis se realizaron con el grupo de Investigación de Inmunomodulación (GIM) y Sustancias Bioactivas (GISB), Sede de investigación Universitaria (SIU), Universidad de Antioquia (Colombia), Inicialmente se realizó electroforesis de una muestra patrón, con el fin de estandarizar los métodos y evaluar la presencia de degradación proteica. Luego se realizó el análisis electroforético y la cuantificación de proteínas por dos métodos (uno colorimétrico y otro fluorométrico) haciendo

diluciones de las muestras para evitar la interferencia de las altas concentraciones de sales presentes en la salmuera con los métodos de cuantificación.

La distribución de la masa molecular de las proteínas de la salmuera filtrada se determinó usando electroforesis en geles de poliacrilamida del dodecil sulfato sódico (SDS-PAGE) siguiendo la metodología propuesta por (Darine ycol, 2010), con algunas modificaciones. Las muestras de salmuera se prepararon en una dilución de 1:20 para reducir la concentración y permitir una mejor detección de las bandas proteicas en el gel. De cada muestra diluida se tomaron 15 $\mu$ L y se mezclaron con 15 $\mu$ L de solución buffer de carga 2X a un pH de 6.8 (dodecil sulfato sódico (SDS),  $\beta$ -mercaptoetanol, glicerol y azul de bromofenol). Posteriormente estas muestras se calentaron a 90°C en un baño maría durante 5min. La electroforesis se realizó en un gel de poliacrilamida al 12% en una cámara Mini-PROTEAN (Tetra cell, BioRad Laboratories), en el primer pozo del gel se coloca un marcador de masa molecular con proteínas entre los 10 y 250KDa, en los demás pozos se sembraron 4 $\mu$ L de cada muestra. La electroforesis se condujo a 100 voltios durante dos horas (Fuente de poder "PowerPac Universal", BioRad). Posteriormente los geles se tiñeron con Azul brillante de Coomassie 0.2% y fueron desteñidos con ácido acético/metanol. Los geles se analizaron en el sistema de foto-documentación Universal HOOD II (BioRad) y se determinó la masa molecular de cada banda usando el software Quantity One 4.6 (Bio Rad, USA).

Perfil electroforético de extractos de proteínas fue monitoreado SDS-PAGE (Laemmli, 1970) utilizando un gel de acrilamida 12.3% de gradiente, mezclándolas 1:1 con buffer de carga 2X (cámara de electroforesis Mini-PROTEAN Tetra cell, BioRad Laboratories). Basados en experimentos preliminares que mostraron una alta concentración de proteínas en las muestras de salmuera, se estableció una dilución previa de 1:20 para poder lograr un buen corrido y observar claramente las bandas que componen la muestra. Los geles se corrieron a voltaje constante de 100 voltios durante 2 horas (Fuente de poder "PowerPac Universal", BioRad), teñidos con azul de Coomassie al 0.2% y desteñidos con ácido acético/metanol. Las

imágenes fueron adquiridas con el sistema de fotodocumentación Universal HOOD II (BioRad) y analizadas mediante el programa Quantity One 4,6 (BioRad).

Se procesaron un total de 20 muestras, una muestra para la estandarización y 19 muestras problema marcadas así: T1, T1 S.S, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11, T12, 13, T14, T15, 16, 17, T18. Las replicas o pares pueden observarse en la Tabla N°2.

La muestra identificada como T1 S.S, corresponde al perfil electroforético de la salmuera sin contacto con la carne. Este análisis se hizo para identificar las proteínas no cárnicas que están presentes en la Salmuera y en donde no se ha solubilizado proteína cárnica.

#### **4.1.4.6 Método Cuantificación de proteínas en salmuera OPA y BCA.**

Se realizó mediante dos métodos, uno colorimétrico y otro fluorométrico. El método colorimétrico fue el del ácido bichinónico (BCA protein assay kit, Pierce), el cual se leyó en un espectrofotómetro Power Wave XS2 (BioTek Instruments). El método fluorescente utilizó el reactivo o-phthalaldehyde (OPA, Fluoraldehyde OPA Reagent Solution, Pierce) y lectura en un espectrofluorómetro (Spectra Mac Gemini, Molecular Devices). Para ambos métodos se siguieron las recomendaciones del fabricante y se utilizaron curvas estándar con Albumina sérica bovina (BSA, Pierce) para calcular las concentraciones en las muestras problema (ver anexo 1).

Para el análisis estadístico los tratamientos se procesaron con el Software de R 2010 y se realizó análisis de varianza con efectos mixtos.

#### **4.1.4.7 Cuantificación de proteínas en salmuera Método Kjeldahl.**

El método de Kjeldahl se realizó siguiendo la metodología propuesta por la A.O.A.C. Official Methods of Analysis 13 th Edition, 1984.

Para el análisis estadístico los tratamientos se procesaron con el Software de R 2010 y se realizó análisis de varianza con efectos mixtos.

## **4.2 Funcionalidad del sodio en la conservación**

A continuación se describe la metodología para medir el efecto de diferentes conservantes sobre la inhibición de crecimiento de la microbiota alterante y *Listeria monocytogenes* como estrategia de sustitución de lactatos, ya que son considerados los segundos mayores aportantes de sodio en la fórmula.

### **4.2.1 Identificación de microorganismo alterantes y *Listeria monocytogenes***

#### **4.2.1.1. Aislamiento e Identificación de *Listeria monocytogenes*.**

Este procedimiento fue realizado siguiendo el método de la AFNOR VALIDATION (N° BIO-12/9-07/02 Protocolo común para los ensayos VIDAS® LIS y VIDAS LMO2) incluyendo enriquecimiento a 30°C. La etapa de aislamiento consistió en realizar un muestreo de diferentes zonas de la planta de Industria de Alimentos Zenú S.A.S (equipos, desagües, mesones, pisos, paredes, entre otros), realizando un frotis sobre las superficies con un hisopo pre-humedecido para pruebas medio ambientales Enviro Swab 3M™. Después de tomada las muestras se adicionó al hisopo 10ml de caldo Half Fraser y se incubó (Incubadora Memmert Modelo 400 D06060) durante 24-26 horas a 30±1°C antes de realizar el test VIDAS®. Para el proceso de identificación se usó el test VIDAS® *L. monocytogenes* II, el cual es un método cualitativo para detectar antígenos de *L. monocytogenes* por el método ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay). Esta metodología se aplicó según la norma AOAC OMA 2004.02.

#### **4.2.1.2 Aislamiento e Identificación de Microorganismos alterantes**

Para el aislamiento e identificación de microorganismos alterantes se tomaron 34 muestras de un jamón cocido tipo fiambre, con un deterioro significativo de sus características organolépticas (Babosidad, sinéresis, turbidez, sabor y olor ácido).

De cada una de las muestras se extrajo 0.1 ml del agua contenida en su empaque, producto de la sinéresis del jamón. Posteriormente se realizó una siembra en superficie en un agar para bacterias acidolácticas APT y se incubó (Incubadora Memmert Modelo 400 D06060) de 24-48 horas a 35°C. Como resultado del crecimiento bacteriano se identificaron varios tipos de colonias, con características morfológicas diferentes. Cada una de ellas fue aislada en cajas de petri (Agar Plate Count) e incubadas a las mismas condiciones, con el objetivo de aislar los microorganismos formadores de cada una de las colonias, de los cuales se obtuvieron 34 cepas para su posterior identificación.

El procedimiento de identificación se realizó en el laboratorio de la IPS Universidad de Antioquia-Colombia (Clínica León XIII) el cual se llevó a cabo en el equipo VITEK® 2 Compact (bioMérieux. Inc, 2005 U.S.A), usando una tarjeta de pruebas bioquímicas GP específica para bacilos Gram positivos, allí se ubican las cepas aisladas y son sometidas a una serie de reacciones, las cuales de acuerdo al resultado obtenido permitieron identificar 10 microorganismos alterantes de los cuales se escogieron solo dos de ellos (*Leuconostoc pseudomesenteroides* y *Lactococcus lactis*) por su relación con el deterioro de productos cárnicos procesados y su presencia repetible durante el periodo de análisis. Las cepas aisladas e identificadas se almacenaron en crioviales a -18°C.

#### **4.2.2 Técnicas de análisis**

Para evaluar la capacidad de inhibición de los conservantes sobre microorganismos se han usado técnicas convencionales, y se destaca la técnica in-vitro cantidad mínima inhibitoria la cual ha comprobado sus ventajas en la evaluación de vida útil de derivados cárnicos según los autores (Hayrapetyan y col, 2012).

A continuación se describen las técnicas de análisis usadas en el desarrollo de esta investigación.

#### 4.2.2.1 Evaluación de conservantes mediante pruebas *In-vitro*

Los conservantes descritos en la Tabla 3 se sometieron a dos tipos de pruebas CMI (Concentración mínima inhibitoria) y eficacia antimicrobiana USP, en las cuales se evaluó su efectividad en la inhibición de los microorganismos anteriormente aislados. Se seleccionó un grupo 1, (6 conservantes inoculados con *L. monocytogenes nativa* y *Listeria ATCC*) y un grupo 2 (6 conservantes inoculados con los alterantes *Leuconostoc pseudomesenteroides* y *Lactococcus lactis*)

**Tabla 3** Origen y Concentración de los conservantes para prueba CMI y Eficacia antimicrobiana USP

Denominación	Composición	Concentración en CMI	Concentración Eficacia antimicrobiana USP
Conservante 1	Lactato de Sodio	1.5%, 2.0%, 2.5%, 3.0%, 3.5%, 4.0%	2.5%, 3.0%, 3.5%
Conservante 2	Lactato de Sodio mas Diacetato de Sodio	1.0%, 2%, 2.7%, 3%, 3.2% y 3.4%	2,0 %, 2.7%, 3.2%
Conservante 3	Lactato de Potasio mas Diacetato de Sodio	1.0%, 1.5%, 2.7%, 3.2%, 3.7%, 4.0%	2,0%, 2.7%, 3.2%
Conservante 4	Mezcla de; Ácido Láctico, Ácido Ascorbico, Ácido Citrico, Extracto de Romero y Extracto de Oregano	0.1%, 0.3%, 0.5%, 0.75%, 1%, 1.1%.	0.5%, 0.75%, 1%
Conservante 5	Mezcla de; Acetato de Sodio, Sal, Diacetato de Sodio, Dioxido de Silicio	0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.5%, 0.7%, 0.9%	0.3%, 0.5%, 0.7%
Conservante 6	Mezcla de; Diacetato sódico, mono y digliceridos de ácidos grasos , ácido láctico	0.1%, 0.2%, 0.4%, 0.5%, 0.6%, 0.7%	0.2%, 0.4%, 0.5%,

##### 4.2.2.1.1 Prueba CMI (Concentración mínima inhibitoria)

La evaluación de conservantes mediante el método de CMI es una prueba cualitativa, la cual tiene como objetivo determinar la concentración mínima a la cual un conservante inhibe el crecimiento de un microorganismo. Se evaluaron 6 conservantes (ver tabla 3) en presencia de microorganismos alterantes (*Leuconostoc pseudomesenteroides* y *Lactococcus lactis*) y de *L. monocytogenes nativa* y una cepa de *Listeria ATCC*. Esta metodología se siguió según la norma

NTC 2455 con algunas modificaciones. Las concentraciones analizadas se definieron por la dosis sugerida del fabricante del conservante y se asignaron dosis mínima, dosis intermedias y dosis máxima de aplicación (ver tabla2)

Para esta prueba cada cepa se preparó realizando un pase del criovial a un tubo con 10ml de caldo CASO, el cual fue incubado durante 48 horas a 35°C. Posteriormente se tomó 1ml de cada una de las cepas y se realizaron diluciones en 10ml de agua peptonada hasta obtener un inóculo de  $10^5$  comparándolo con un patrón de McFarland. La preparación de los conservantes se realizó de la siguiente manera: Se prepararon 3 frascos con 100ml de agua estéril a los cuales se les adicionó cada conservante a las concentraciones referenciadas anteriormente. De cada frasco se tomaron 3.6ml y se llevaron a un tubo mas 0.4ml de la preparación del inóculo de cada cepa. A continuación fueron almacenados durante 48 horas a 35°C. El resultado de esta prueba se reporta de forma cualitativa en los siguientes términos: (+) si se encontró crecimiento bacteriano evaluado mediante la turbidez de los tubos, (-) para reportar el no crecimiento bacteriano.

Para el análisis estadístico los tratamientos se procesaron con el Software de R 2010 y se modeló mediante una regresión logística o también una regresión lineal generalizada con respuesta binomial y función de enlace logístico. (Hosmer, 2000).

#### **4.2.2.1.2 Prueba de eficacia antimicrobiana (USP)**

La segunda prueba a la que fueron sometidos los 6 conservantes fue la de eficacia de antimicrobiana USP (United States Pharmacopeia) 32. NF 27 (2009) usada ampliamente en la evaluación de conservantes en la industria Farmaceutica. Las concentraciones analizadas se definieron por la dosis sugerida del fabricante del conservante y se asignaron dosis mínima, dosis intermedia y dosis máxima de aplicación (ver tabla1)

Las cepas se prepararon realizando un pase de los crioviales a tubos con 10ml de caldo CASO y se incubaron durante 48 horas a 35°C. Posteriormente se tomó 1ml de cada una de las cepas y se realizaron diluciones en 10ml de agua peptonada hasta obtener un inóculo de  $10^5$  comparándolo con un patrón de McFarland.

Se prepararon 100ml de cada conservante en agua, a las concentraciones descritas anteriormente. A cada frasco se le adicionó 1ml del inóculo. Se realizaron cuatro réplicas de cada frasco para su evaluación, durante el tiempo de duración de la prueba. Los frascos son almacenados durante 28 días a temperatura ambiente. Durante los días 0, 7, 14, 21 y 28 se realizan recuentos mediante una siembra en agar Plate Count, incubándolos durante 24-48 horas a 35°C y seguidamente se determina el número de UFC.

En el día 0 (cero) se midió el número de UFC para determinar la carga bacteriana inicial, sin embargo fue el día 7 el momento en el cual se detectó el efecto de los conservantes. De acuerdo a la USP 32.NF 27 (2009). La categorización de los conservantes se realiza según Tabla 4.

**Tabla 4.** Categorización de conservantes según norma eficacia antimicrobiana USP

Días	Concentración mínima	Concentración ideal	Concentración máxima	Categoría
0	dosis inicial	dosis inicial	dosis inicial	
7				
14	reducción de 1 log	reducción de 1 log	reducción de 1 log	1
21	reducción de 1 log	reducción de 1 log	reducción de 1 log	2
28	reducción de 1 log	reducción de 1 log	reducción de 1 log	3
28	No hay reducción ni crecimiento	No hay reducción ni crecimiento	No hay reducción ni crecimiento	4

Para el análisis estadístico los tratamientos se procesaron con el Software de R 2010 y se modeló mediante una regresión con un modelo doble exponencial con respuesta de doble logaritmos de las UFC en el tiempo (Varfolomeyev y Gurevich, 2001).

#### **4.2.2.2 Evaluación de conservantes mediante prueba *In-vivo***

##### **4.2.2.2.1 Formulación**

Se definieron cinco formulas de un jamón cocido con una extensión del 90% de la siguiente manera:

*Formula Blanco:* Carne de cerdo 53.7%, agua 30.38%, almidón de trigo 6.12%, Mezcla de saborizantes y colorantes comerciales 4.26%, Proteína de soya 2,42%, Sal yodada (p/p) 1.46%, Polifosfatos de sodio (p/p) 0.51%, carragenina refinada (p/p) 0.5%, Eritorbato de sodio 0.06%, 350 ppm de nitrito de sodio.

Es de anotar, que el nitrito de sodio, no fue modificado de la formula, debido a que su función principal es actuar como agente antimicrobiano del *Clostridium botulinum* y como agente de curado (Codex alimentarius, Join FAO/WHO)

##### **4.2.2.2.2 Proceso de elaboración**

Los jamones fueron elaborados en la planta de Industria de Alimentos Zenú S.A.S ubicada en la ciudad de Medellín-Colombia, bajo el siguiente proceso: Las materias primas cárnicas (carne de cerdo) se procesaron entre 0°C y 4°C. La carne de cerdo fue reducida en un molino Weiller 860B SER 82168 (Talsa, Medellín Colombia) empleando como accesorio un disco precortador. Las salmueras de cada formula se elaboraron en un agitador Molistick 750 (Metalquimia S.A, Girona España). Posteriormente cada una fue llevada mediante tuberías a un dispositivo de agujas Movistick 3000 Duplex (Metalquimia S.A, Girona España) que inyecta los trozos carne de cerdo hasta alcanzar un nivel de inyección del 90%. Todo el músculo inyectado se pasó por un sistema de bandas hacia el tenderizador Filogrind 360 (Metalquimia S.A, Girona España), donde a través de una acción mecánica se obtiene un daño de las fibras musculares con el objetivo de propiciar una mayor extracción de la proteína miofibrilar durante el masajeo. El primer proceso de masajeo de la pierna de cerdo y el brazuelo inyectados, se realizó en el Reactor Termomat 3x durante un tiempo de 100 minutos, con el fin de facilitar la

incorporación de la salmuera en el material cárnico y permitir la extracción de proteína necesaria para la ligación de los trozos. El siguiente proceso fue la maduración donde la mezcla se dispuso en recipientes de acero inoxidable y se llevó a cuarto de refrigeración (0°C a 4°C) por un espacio de 16 a 18 horas. Pasado este tiempo se procedió al segundo masajeo, dicho proceso se llevó a cabo en el Reactor Termomat 3x, durante 100 minutos. Transcurrido este proceso, la mezcla se embutió (Hadtmann VF 20 Alemania) en una tripa pre ahumada fibrosa con un diámetro de 9.5 pulgadas y puesta en moldes de acero inoxidable de 10x10 cm. Los moldes se llevaron a un cocinador estático donde fueron sometidos a cocción durante 220 minutos, con una temperatura de bulbo seco de 80°C y una humedad relativa 99%. Todos los tratamientos fueron cocidos hasta lograr una temperatura del producto en su centro geométrico de 72°C. Posterior al proceso térmico los jamones se introdujeron en una cava con temperaturas entre -15°C y -18°C por 24 horas. Los bloques se desmoldaron manualmente y se tajaron en la tajadora Webber CC5904-02 SLICER (Alemania). Las muestras de cada tratamiento se empacaron al vacío (Tiromat Power Pack Zipper, Alemania) en porciones de 100g. Para el empaque se utilizó una película de alta barrera a los gases y a la humedad.

#### **4.2.2.2.3 Diseño experimental**

Los factores de diseños fueron los tipos de conservantes y las inoculaciones con bacterias alterantes y listeria *Monocytogenes*, se realizó un diseño factorial con medidas repetidas en el tiempo, se experimentó con 7 tratamientos y 3 replicas de cada tratamiento. Las muestras fueron elaboradas de manera aleatoria y las materias primas cárnicas y no cárnicas fueron bloqueadas. Se analizaron UFC de mesofilos y UFC de *Listeria Monocytogenes* como variables respuesta.

En las pruebas *in vivo*, se evaluaron 5 conservantes de diferentes orígenes aplicado a una formula de un Jamón cocido (Ver tabla 5)

**Tabla 5.** Identificación de fórmulas, composición y concentración de agentes conservantes para pruebas *In vivo*

NA= No aplica, fórmula sin adición de conservantes estudio. AF1 y LF1: Formulas blanco sin inoculación. Mezcla de alterantes: Mezcla de *Lactococcus lactis* y *Leuconostoc pseudomesenteroides*.

Tratamiento	Composición del conservante	Concentración del conservante	Inoculación con mezcla de alterantes	Inoculación con <i>L. monocytogenes</i> nativa	Inoculación con <i>Carnobacterium maltaromaticum</i>
AF1	NA	NA	no	no	
AF2	NA	NA	si	no	
AF3	<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>		si	no	si
AF4	Lactato de Sodio mas Diacetato de Sodio	2.0%	si	no	
AF5	Lactato de Potasio mas Diacetato de Sodio	2.0%	si	no	
AF6	Mezcla de; Diacetato sódico, mono y digliceridos de ácidos grasos , ácido láctico	0.4%	si	no	
AF7	Nisina	0.018%	si	no	
LF1	NA	NA	no	no	
LF2	NA	NA	no	si	
LF3	<i>Carnobacterium maltaromaticum</i>		no	si	si
LF4	Lactato de Sodio mas Diacetato de Sodio	2.0%	no	si	
LF5	Lactato de Potasio mas Diacetato de Sodio	2.0%	no	si	
LF6	Mezcla de; Diacetato sódico, mono y digliceridos de ácidos grasos , ácido láctico	0.4%	no	si	
LF7	Nisina	0.018%	no	si	

Para el análisis estadístico los tratamientos se procesaron con el Software de R 2010, se realizó un análisis exploratorio para microorganismos alterantes y *L. monocytogenes* nativa, posteriormente se efectuó una marcación de la tendencia de los datos mediante una regresión local no paramétrica (LOESS Locally Weighted Scatterplot Smoothing). Posteriormente se modeló mediante una regresión no lineal asintótica logística y ajuste a modelo logístico simple de 3 parámetros (Pinehiro , 2000), se tomo como variables respuesta el crecimiento de UFC de microorganismos Alterantes y *Listeria monocytogenes* en el tiempo.

#### 4.2.2.2.4 Preacondicionamiento para Inoculación

Se tomaron crioviales almacenados a  $-18^{\circ}\text{C}$  de las cepas de *L. monocytogenes nativa* y los microorganismos alterantes (*Leuconostoc pseudomesenteroides* y *Lactococcus lactis*). Se realizaron cuatro subcultivos, el primer subcultivo se efectuó transfiriendo los criobiales a tubos, cada uno con 10ml de caldo CASO. La incubación de la *L. monocytogenes nativa* se efectuó durante 24 horas a  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ , para los microorganismos alterantes a una temperatura de  $30^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. En el segundo subcultivo se revisó el crecimiento mediante la detección de turbidez en los tubos del subcultivo anterior. Se tomaron  $10\mu\text{l}$  de cada uno, los cuales fueron llevados a otro tubo con 10ml de caldo CASO y se incubaron a las mismas condiciones anteriores. El tercer subcultivo se ejecutó de la misma manera que el segundo, adicionalmente se realizó una siembra en superficie de la siguiente manera: Tanto con los tubos inoculados con *L. monocytogenes nativa* y los microorganismos alterantes (*Leuconostoc pseudomesenteroides* y *Lactococcus lactis*) se hizo una serie de diluciones hasta  $10^{-8}$  teniendo en cuenta que se tomó como  $10^0$  uno de los tubos del segundo subcultivo. Posteriormente se realiza una siembra en superficie adicionando 0.1ml de las últimas tres diluciones ( $10^{-6}$  -  $10^{-8}$ ) en un medio PALCAM específico para *L. monocytogenes nativa*, las placas se incubaron a  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$  por 24 horas. Para los alterantes, la siembra se realiza por separado tanto para el *Leuconostoc pseudomesenteroides* como para el *Lactococcus lactis*. El procedimiento se llevó a cabo en un medio APT específico para bacilos Gram positivos y se incubaron a  $30^{\circ}\text{C}$  durante 24 horas. El cuarto subcultivo se realizó tomando  $10\mu\text{L}$  de cada uno de los tubos del tercer subcultivo y siguiendo el mismo procedimiento del segundo subcultivo. Todas las siembras se realizaron por duplicado. La metodología anterior se hizo para acondicionar los microorganismos y determinar la concentración inicial para ser inoculada en cada una de las fórmulas.

#### 4.2.2.2.5 Inoculación de los productos

*L. monocytogenes nativa*: Se tomaron 4 ml de los tubos del cuarto subcultivo y se transfirieron a tubos cónicos y se centrifugan (Seleda S-240) a 6000rpm durante 5 minutos. El sobrenadante se descarta y se adiciona 4ml de solución salina estéril al 0.90% con el objetivo de re-suspender las células. Posteriormente esa solución se diluye hasta  $1.0 \times 10^5$ , esto asumiendo un completo crecimiento en el cuarto subcultivo de  $1.0 \times 10^8$  UFC/g.

*Alterantes*: Se realizó el mismo procedimiento anterior para las cepas de *Leuconostoc pseudomesenteroides* y *Lactococcus lactis* por separado. Es importante resaltar que para esta etapa se preparó dos tubos por cada microorganismo, seguidamente se mezclan 5ml del *Leuconostoc pseudomesenteroides* y 5ml del *Lactococcus lactis* en tubos estériles, obteniendo en total cuatro tubos con alterantes.

La inoculación en los productos terminados se realizó de la siguiente manera: Se abrió asépticamente cada uno de los siete paquetes (5 tajadas/paquete) correspondientes a las formulas, en ellos se inocularon 100 $\mu$ l de las cepas, en cada una de las tajadas usando un asa estéril para una mejor homogenización de la cepa. Esto se efectuó en una cabina de flujo laminar (MMCS-001 Metal forta). El producto inoculado se re-empaca en una bolsa y se sella a vacío (Komet a vacío, modelo DIGI-GAS 1995).

#### 4.2.2.2.6 Análisis Microbiológico

Los análisis microbiológicos se realizaron los días 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42 donde se evaluó el crecimiento microbiano mediante la determinación del número de UFC. Los paquetes de cada uno de los tratamientos se analizaron de forma aleatoria. Cada uno se abrió asépticamente y el producto se traspasó a una bolsa estéril, donde se le adicionó 50ml de agua peptonada al 0.1%, la duración del enjuague fue de 20 segundos. El empaque inicial del producto también fue enjuagado con 50ml

de agua peptonada al 0.1%. Ambos enjuagues se mezclan y se realizaron diluciones sucesivas de 1:10, el día 0 y 7 se hicieron diluciones hasta  $10^{-6}$  los siguientes días de acuerdo al crecimiento microbiano.

Posteriormente se sembró en superficie 0.1ml de las diluciones en agar PALCAM en el caso de las formulas inoculadas con *L. monocytogenes nativa* y APT para el caso de los alterantes (*Leuconostoc pseudomesenteroides* y *Lactococcus lactis*). Las cajas del medio PALCAM con *L. Monocytogenes* se incubaron a  $35\pm 2^{\circ}\text{C}$ , las cajas de agar APT para los alterantes a  $30^{\circ}\text{C}$

#### **4.3 Funcionalidad del sodio en las características organolepticas**

A continuación se describe la metodología para determinar la Incidencia de la sustitución y reducción de la sal, en el sabor de un jamón cocido tipo fiambre, mediante el uso de Cloruro potásico y potencializadores de origen orgánico.

##### **4.3.1 Entrenamiento a jueces con materia primas específicas**

Para realizar la prueba sensorial se utilizaron las instalaciones del laboratorio de Análisis Sensorial de la Universidad de Antioquia (Medellín-Colombia) cuyo diseño esta soportado en la Norma Técnica Colombiana (NTC) 3884 (1996), se utilizó un panel de jueces entrenados según NTC 4129 (1997) y NTC 4130 (1998) cuya descripción corresponde a la selección y entrenamiento de cada uno de los jueces pasando por cada una de las etapas de motivación, preselección, selección, entrenamiento y comprobación. Los jueces del panel (Universidad de Antioquia) poseen una trayectoria de 10 años.

Inicialmente se realiza el entrenamiento en materias primas utilizadas en la elaboración de la salmuera que compone la fórmula de un jamón tipo fiambre (Ver Tabla 6)

La concentración de las soluciones se calcula en base a la dosis mínima presente en la formulación del jamón tipo fiambre y la máxima obtenida en la salmuera de la

mismo y otras dos concentraciones intermedias calculadas sobre el 25% de las dosis máxima y mínima.

**Tabla 6.** Porcentaje de concentración de materia primas de jamon para entrenamiento sensorial a panelistas

<b>Ingredientes</b>	<b>% dosis mínima</b>	<b>%dosis intermedia 1</b>	<b>% dosis intermedia 2</b>	<b>% dosis máxima</b>
lactato de Sodio + Diacetato Sodio	2,00	2,50	3,17	4,22
Lactato de Potasio + Diacetato de Sodio	2,00	2,50	3,17	4,22
Eritorbato de sodio	0,06	0,08	0,10	0,13
Polifosfato de sodio	0,40	0,50	0,63	0,84
Cloruro de Sodio	1,43	1,79	3,00	4,00
Cloruro de potasio cocrystalizado	0,51	0,64	1,15	1,53
Mezcla de Polifosfato de Sodio y Potasio	0,40	0,50	0,63	0,84
Almidón	6,00	7,50	9,00	12,00
Sabor Jamón	0,46	0,57	0,68	0,90
Azúcar	0,70	0,88	1,05	1,40
Carragenina	0,50	0,63	0,75	1,00
Maltodextrina	2,00	2,50	3,00	4,00
Leche en polvo	1,00	1,25	1,50	2,00
Proteínas de soya	1,18	1,48	1,77	2,36

Se preparan soluciones volumétricas de las materias primas según tabla realizando un pesaje en balanza analítica (Precisa XB 220) con sensibilidad 0.0001g, se diluye en agua de botellón marca comercial Brisa hasta volumen. Se deposita la muestra en envases de vidrio color ámbar de un litro para evitar la incidencia de luz, cada muestra es identificada con nombre y código.

Se entrega al juez las muestras del mismo ingrediente a diferentes concentraciones y previamente aleatorizadas. El juez debe ordenar las muestras según la concentración.

Los jueces también identificaron los atributos de un jamón cocido tipo fiambre cuya fórmula no tenía reducciones de sodio.

### 4.3.2 Formulaci3n

Se definieron 13 formulas de salmuera para un jam3n tipo fiambre con una extensi3n del 90%, obteniendo reducciones de sodio del 30%, 40%, 50% y 60% por medio de las siguientes sustituciones;

Los Polifosfatos de Sodio se reemplazan en su totalidad por mezcla de Polifosfatos de Sodio y Potasio, El Lactato de Sodio m1s diacetato por Lactato de Potasio m1s idacetato, el porcentaje de sodio restante para llegar a los porcentajes de reducci3n requeridos, se ajustaron con el reemplazo de Cloruro de Sodio por Cloruro de Pot1sico co-cristalizado, (la cocrystalizaci3n se hace con una prote3na, capaz de bloquear los receptores amargos).

*Formula base o control:* 55% de Carne de cerdo, Salmuera (31.67 % Agua-hielo, 6.3 % Almid3n, Lactato de sodio m1s diacetato de sodio 2.0%, Sal yodada 2%, Prote3na de soya 2,5%, Maltodextrina 2%, Leche en polvo 1%, Sacarosa 0.7%, Carragenina 0.53%, Polifosfatos de sodio 0,5%, Eritorbato de sodio 0.063%, Colorantes natural 0.021 %, Nitrito de sodio 0.037%).

Los potencializadores de sabor de origen fermentativo (SF) y de origen de reacci3n (SR), fueron bloqueados para los tratamientos correspondientes, es decir la concentraci3n fue constante en la formula, independiente del porcentaje de reducci3n de sodio.

### 4.3.3 Proceso de elaboraci3n

El proceso de elaboraci3n se esquematiza en la figura 2. Se elaboraron lotes de 35 Kg. cada uno, La carne refrigerada a 4°C fue molida por un disco de 8 mm. (Molino Mainca, modelo PT 98), posteriormente se elabor3 una salmuera con los ingredientes y aditivos hasta completa homogeneizaci3n de estos seg3n protocolo de elaboraci3n de salmueras de la Compa1a Industria de Alimentos Zen3 S.A.S, por espacio de 10 minutos para despu3s ser mezclado a vac3o (mezclador Risco) conjuntamente con la carne de cerdo por espacio de 15 minutos (Ver figura 1). Una vez elaborada la mezcla, se deja en reposo por espacio de 18 horas en cava de

refrigeración a 4 °C, para posteriormente ser embutida en tripa fibrosa preahumada, e introducida en molde de acero inoxidable 10 cm x 10 cm (embutidora Vemag Roby TYP 134). El tratamiento térmico se realizó en cámaras de cocción con calentamiento por medio de vapor saturado hasta alcanzar 74 ° C de temperatura interna, después de alcanzar la temperatura se realiza un enfriamiento con duchado de agua y se lleva a cámara de refrigeración a 4 °C por espacio de 18 horas. Posteriormente se realiza el proceso de tajado (Trief 00 NR 104740) en espesor de 2 mm por cada tajada y se empaca a vacío en gramaje 200g en películas de polietileno de alta barrera a los gases y humedad (empacadora Tiromat Compact 320) y en porciones de 100g.

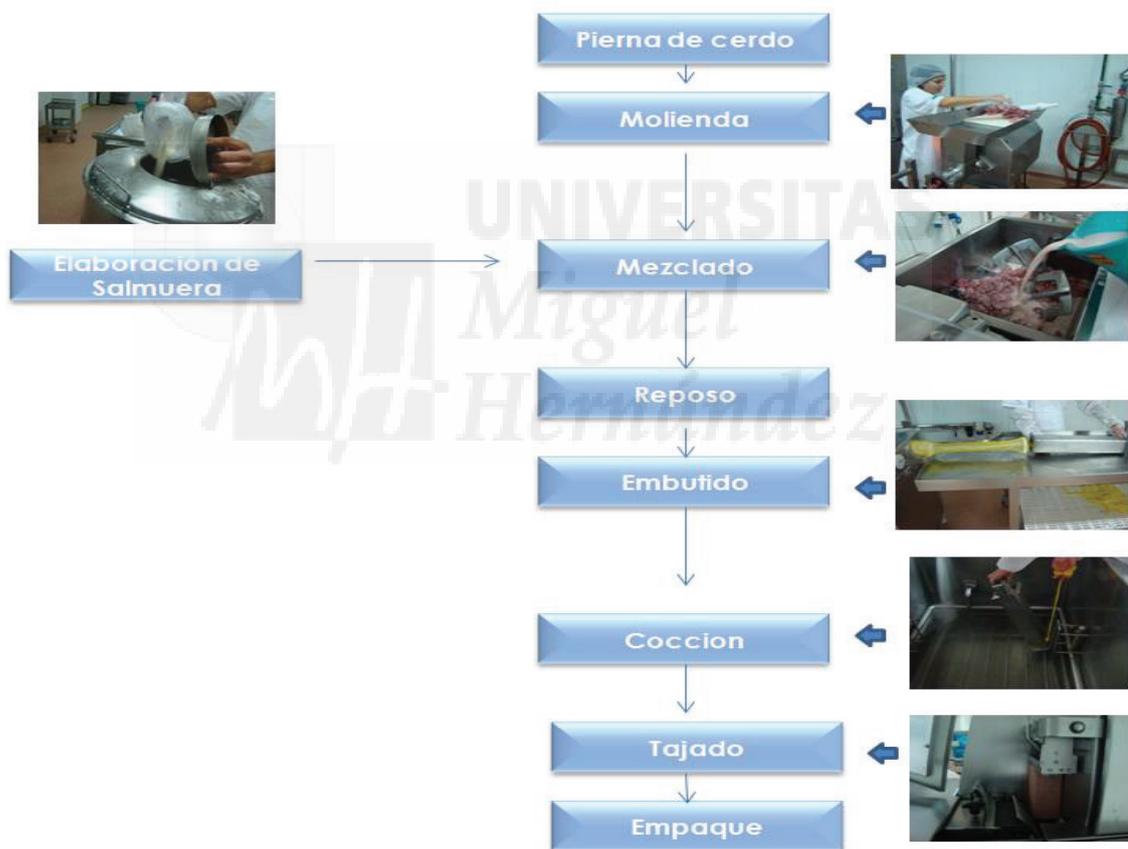


Figura 1. Flujo de elaboración de jamón cocido tipo fiambre

#### 4.3.4 Diseño experimental

Se uso como base la firmula descrita en el numeral 4.3.3. Los factores de diseño experimental fueron el porcentaje de reducci3nde sodio y el uso de potencializadores. Se realiz3 un modelo factorial con superficie de respuesta, de 13 tratamientos y 2 replicas por tratamiento. Se bloquearn la materias primas c3rnic y no c3rnicas y se determinaron como variables de respuesta los an3lisis descriptivos y los perfiles sensoriales.

La figura 2 muestra las diferentes formulas y los porcentajes de reducci3n que se dise1aron para el estudio



Figura 2. Identificaci3n de tratamientos objeto de estudio.

Todos los tratamientos fueron procesados con el Software de análisis estadístico R 2010. Los resultados de la evaluación sensorial se procesaron mediante modelos de regresión lineal simple.

#### **4.3.5 Técnica de análisis sensorial.**

Para evaluar los atributos sensoriales se desarrollaron procedimientos de prueba para el vino, el té, carne, lácteos y otros productos importantes. La mayoría de estos procedimientos pertenecen a la categoría de análisis descriptivos que desde el perfil de sabor en la década de 1940 y el perfil de textura en la década de 1960, se convirtieron en los métodos de aplicación más amplia a todas las propiedades sensoriales de un alimento, como los cuantitativos el análisis descriptivo se basa en juicios independientes de los expertos y las pruebas estadísticas, en lugar de un grupo de discusiones y procesos de concertación. (Lawless y Heymann, 1999; Tuorila y Monteleone, 2009).

Seguidamente se describe la técnica usada en el desarrollo de la investigación. Se realizó una prueba descriptiva denominada Perfil sensorial por aproximación multidimensional según Norma Técnica Colombiana 3932. La cual consiste en caracterizar la muestra de jamón en los atributos apariencia, olor, sabor y textura; posteriormente cada uno de los descriptores son calificados en una escala de 0 a 5 donde cero (0) es ausencia y cinco (5) es muy intenso. Las muestras se evalúan a una temperatura de 8°C y son codificadas de forma aleatoria. Cantidad de muestra = ¼ de tajada, y servida de forma aleatoria. El análisis se realiza por duplicado, en presencia de luz blanca y controladas las condiciones ambientales al momento de la prueba, (temperatura T°C=24°C y Humedad relativa HR 62%), la prueba tiene una duración de 1.5 horas.

Todos los productos fueron evaluados a los 7 días de almacenamiento, y se conservaron a una temperatura de 4°C, en paquetes al vacío.



UNIVERSITAS

*Miguel*

*Hernández*

## **5. RESULTADOS Y DISCUSIONES**

### **5.1 Funcionalidad de la sal en la Solubilidad de las proteínas**

#### **5.1.1 Resumen**

El objeto de estudio de este capítulo fue analizar el efecto de disminución y sustitución del ión sodio sobre la solubilidad de las proteínas cárnicas presentes en una salmuera de un jamón después de masajeo. Se elaboró un diseño experimental donde se modificaron las cantidades y tipo de cloruros, además del uso de diferentes agentes de emulsificación que están incursionando como sustitutos de los tradicionales polifosfatos de sodio. Los análisis se efectuaron a la salmuera filtrada y se usaron diferentes técnicas para cualificar y cuantificar las proteínas cárnicas extraídas como; perfil electroforético, Tensión superficial, Viscosidad, fuerza de gel, pH y cuantitativo de proteínas por diferentes técnicas. Se identificó la correlación en el estudio de todas las pruebas excepto perfil electroforético que es una prueba cualitativa. Se concluye que el uso o no de Polifosfatos de Sodio, Mezcla de ácidos orgánicos y Cloruros, no influyen en la fuerza de gel, la tensión superficial y electroforesis. Sin embargo, el pH sí se ve modificado por el uso de plifosfatos donde se encontró una diferencia significativa. Se recomienda hacer una evaluación de perfil de textura en producto terminado sin la adición de fosfatos, confirmar los datos obtenidos en salmuera.

#### **5.1.2 Generalidades**

Parece ser que cada vez tienen más fuerza, proyectos de regulación normativa de productos procesados en el mundo, que permitan establecer límites de consumo de algunos micro y macro nutrientes que estén asociados a enfermedades crónicas de la población, como es el caso de la sal común, donde su reducción en productos procesados, representa varios retos tecnológicos, especialmente en la elaboración de embutidos cárnicos donde características como la textura puede verse afectada

por la presencia y cantidad en fórmula de materias primas como la Sal y los polifosfatos, que asociados a técnicas de proceso como el tumbling o masajeo Inducen al ablandamiento del tejido y a la ruptura de la estructura, provocando un aumento en la absorción de la salmuera y extracción de proteínas y en consecuencia un incremento de rendimiento de cocción (Xargayoy col, 1998)

#### **5.1.2.1 Proteínas de la carne**

Además de su aporte nutricional, las proteínas cárnicas son importantes como ingrediente funcional en los productos cárnicos; influyen la textura, el sabor, forman geles, reducen la sinéresis, son importantes emulsionantes naturales, tienen la capacidad para retener agua (CRA) entre otros. Existen tres grupos de proteínas cárnicas; el primer grupo son las contráctiles o miofibrilares (actina 20-25% y miosina 50-55%) que constituyen el 50%- 55% de la proteína total; el segundo grupo son las sarcoplásmicas o solubles (albúminas, globulinas y enzimas) que forman geles y coagulan, son emulsionantes y tienen la capacidad de retener agua y conforman el 30-34% de la proteína total, y el tercer grupo son la del tejido conectivo que constituyen del 10 al 15% de la proteína total, está compuesto por colágeno, elastina y reticulina, su principal característica es que tienen influencia sobre la terneza de la carne (a mayor tejido conectivo la carne es más dura), El colágeno es la proteína de mayor importancia en este grupo de proteínas (Tornberg, 2005). Todas estas proteínas intervienen en una emulsión cárnica, que no es más que una mezcla compleja de tejido muscular, proteína solubilizada, sal, grasa y agua, (Tornberg, 2005), Los jamones cocidos de “alta inyección de salmuera” (normalmente por encima del 50% del peso de la carne) aunque no son precisamente emulsiones cárnicas, necesitan de ingredientes y aditivos que permitan retener humedad y solubilizar proteínas que ayudaran a la textura final del producto. A estos niveles de extensión la tecnología alimentaria a desarrollado para la categoría de jamones cocidos, diversidad de materias primas como carrageninas, almidones nativos y modificados, proteínas aisladas y concentradas de soya entre otros, que permiten retener humedad y le dan estructura al Jamón. Es así como estas materias primas,

también llamadas extensores de fórmula, contribuyen de manera sinérgica a que en un Jamón cocido se unan los trozos de carne, dependiendo también de la cantidad de tejido conectivo, del proceso térmico y del grado de hirolisis de las proteínas miofibrilares de la carne (Desmond, 2006), Estos extensores de fórmula, forman gel y dan apariencia homogénea, evitando exudados en el paquete y pérdidas en el tajado.

El papel de la miosina en la gelificación de la proteína de la carne es bien conocida como un factor que afecta la capacidad de formación de gel y ha sido investigado (Ko, 1995; Morioka, 1998). Las proteínas Sarcoplásmica contienen myogens y albúminas como proteínas principales, así como pequeñas cantidades de varios cientos de otras, proteínas (Scopes 1968), que forman una matriz pegante que da estructura a la carne (Davey y Gilbert, 1974) y fueron importantes para determinar los valores de tensión (cohesión) en una pasta de una salchicha cocida (Farouk y col, 2002).

#### **5.1.2.2 Ingredientes no cárnicos**

A continuación se hace una descripción de los principales ingredientes no cárnicos en una formulación de embutidos, que compiten con las proteínas cárnicas en la retención de agua y hacen sinergia en la estabilización de la matriz cárnica.

##### **5.1.2.2.1 Solubilidad de las proteínas**

La solubilidad de una proteína está influenciada por los siguientes factores: (a) su composición en aminoácidos (una proteína rica en aminoácidos polares es en general más soluble que una rica en aminoácidos hidrofóbicos); (b) su estructura tridimensional (las proteínas fibrosas son en general menos solubles que las globulares); (c) el entorno de la propia proteína donde se ve afectada por factores ambientales como la temperatura, la constante dieléctrica del medio, el pH del mismo y la fuerza iónica. (Ver figura 3)

Existe poca información sobre la correlación entre la solubilidad de las proteínas y fuerza iónica; pero en general, las proteínas requieren algo de sal para entrar en solución (fenómeno de “salting-in”) y son precipitadas por concentraciones relativamente elevadas de sales (fenómeno de “salting-out”). Ahora bien, la respuesta de las diferentes proteínas no es uniforme; concentraciones salinas que hacen precipitar a unas, dejan en solución a otras.(Voet, 2006).



Figura 3. Factores que afectan la gelación de la proteína con el proceso térmico de la emulsión cárnica (Adaptado de Andersson , 2000)

#### **5.1.2.2.2 Proteínas no cárnicas**

Las proteínas no cárnicas, se utilizan con propósitos funcionales o como ingrediente opcional. Se obtienen de fuentes vegetales, soya (concentrado o aislados), otras leguminosas, cereales, nueces y oleaginosas. También existen proteínas de derivados lácteos como la leche en polvo desgrasada, caseinato de sodio y suero deshidratado, se utilizan en los productos cárnicos tipo emulsión (pasta fina salchichas), son buenas aglutinantes, que permite elaborar productos más estables y con mejor textura (Dolata W, 2002).

#### **5.1.2.2.3 Almidones modificados**

Resultan de someter los almidones nativos a procesos industriales de pregelatinización, hidrólisis ácida o alcalina u otros tratamientos, para volverlos más estables durante la cocción y el almacenamiento, evitar la retrogradación (cristalización) y la sinéresis (pérdida de agua). Por sus características, gelatinizan a temperaturas más bajas, incrementan la capacidad de retención de agua, mejoran la textura y la tajabilidad en los sistemas cárnicos. Los almidones más utilizados se obtienen del trigo, arroz, avena, maíz, papa, yuca (Singh y col, 2007).

#### **5.1.2.2.4 Carrageninas**

Las carrageninas son polisacáridos solubles en agua, se obtienen de algas marinas y tienen la propiedad de formar geles. Se conocen tres tipos que son: kappa, iota y lambda. La Kappa forma geles fuertes y brillantes que son reversibles cuando se somete a tratamiento térmico, la Iota forma geles débiles y elásticos reversibles por calor y lambda es espesante, no forma gel. Se utilizan en los productos cárnicos para estabilizar y dar textura, reducir la purga, facilitar el tajado y también como reemplazantes de la grasa. Otras gomas utilizadas en productos cárnicos son la goma xantán, la goma guar y la goma arábiga. Se utilizan solas o combinadas (Trius y col, 1994; Xiong y col, 1999).

#### 5.1.2.2.5 Polifosfatos

Las sales de fósforo se agregan como aditivos en muchas formulaciones con fines tecnológicos específicos: en carnes y en productos congelados para aumentar la capacidad de retención de agua, en lácteos como emulsificante, en alimentos instantáneos para prevenir la formación de grumos. Actúan como secuestrantes de iones metálicos, disocian el complejo actomiosina incrementando la capacidad de retención de agua, tienen además la propiedad de modificar el pH. Las sales alcalinas (tripolifosfato de sodio y pirofosfato tetrasódico) elevan el pH, lo que contribuye a una mayor retención de agua y las sales ácidas (ácido ortofosfórico y ácido pirofosfórico) lo bajan. Los polifosfatos también disminuyen la viscosidad de la carne (Univirtual, 02/15/2012).

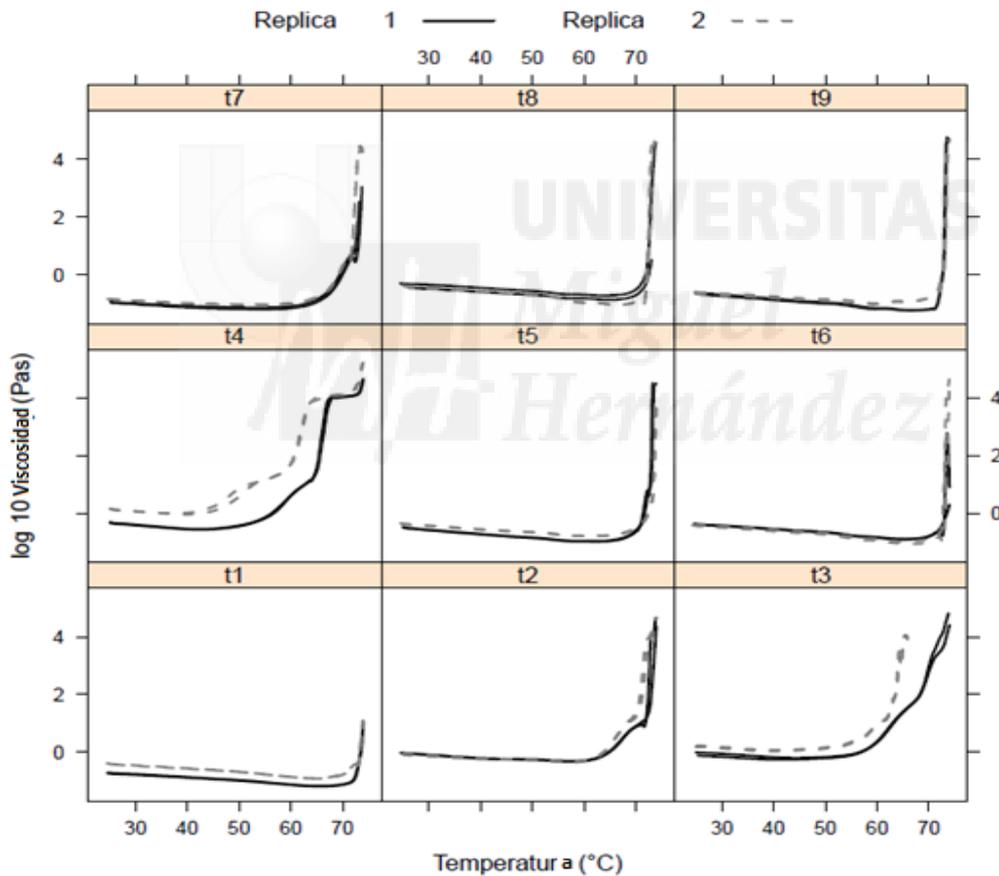
El Tripolifosfato de sodio  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$  (STPP), es la forma más común de fosfato utilizado en la industria cárnica, tiene una alta solubilidad por lo tanto la formación de precipitados insolubles es menos frecuente. Se utiliza frecuentemente en mezclas y en salmueras con alto contenido de calcio, evita la precipitación (Unal y col, 2004).

La adición de sal junto con los fosfatos, cumple un efecto sinérgico de importancia, presentando un mayor efecto sobre la fuerza iónica, especialmente por la acción del ión cloro que causa repulsión electrostática de la proteína del músculo y permite un mayor atrapamiento de agua en la fibra muscular o en las células, reduciendo la pérdida durante la cocción. (Knife, 2004)

### 5.1.3 Resultados

#### 5.1.3.1 Viscosidad

Se procedió a estimar Viscosidad en temperaturas equivalentes, este procedimiento se realizó mediante regresión local no paramétrica. Seguidamente se desplegó el comportamiento del logaritmo en base diez de la viscosidad en la temperatura, teniendo en cuenta las replicas y las repeticiones como se muestra en la gráfico 6. Se observa que el logaritmo de la viscosidad va disminuyendo lentamente hasta alcanzar un punto mínimo y después aumenta de manera exponencial.



**Gráfico 6.** Exploratorio del log<sub>10</sub> de la viscosidad a diferentes temperaturas, donde el punto mínimo de la curva es el inicio de la gelificación en la salmuera.

Cada cuadro está identificado con el número de tratamiento en donde se diferencian cada replica por el tipo de línea (continua y punteada) y a su vez en cada replica se muestra su respectiva repetición

El nivel en el cual se llega al mínimo de viscosidad y se inicia el proceso de gelificación al aumentar el logaritmo de la viscosidad de manera exponencial, se utilizara como la temperatura de comparación entre los 9 tratamientos. El resultado se observa en la gráfica 7.

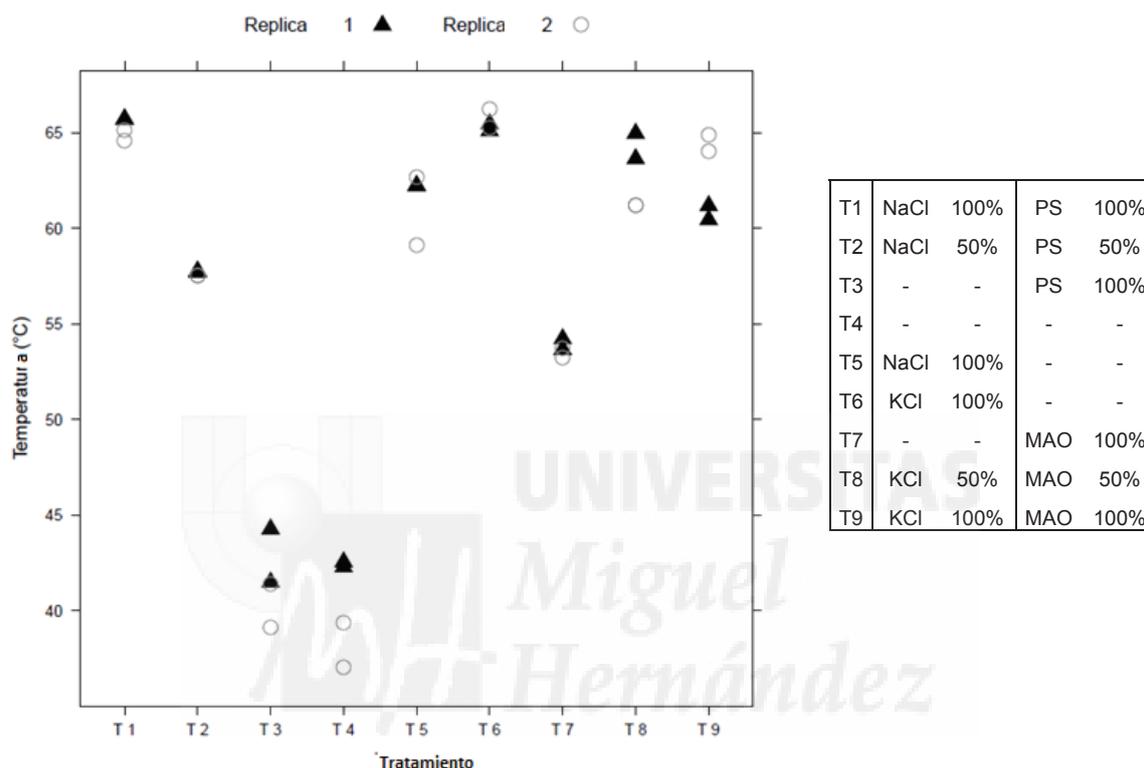
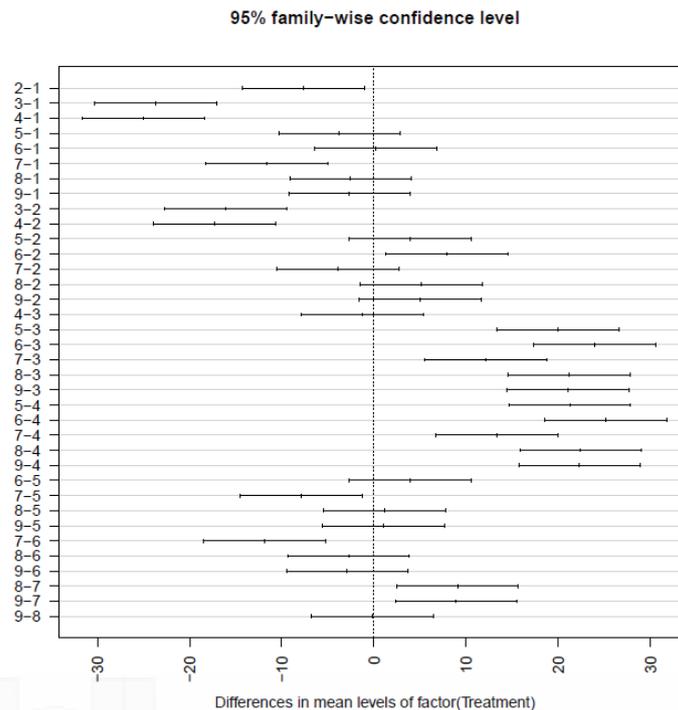


Gráfico 7. Temperatura de inicio de gelación de la salmuera de cada tratamiento.

PS (Polifosfato de sodio), MAO (Mezcla de ácidos orgánicos), T4 (Formula Blanco)

Teniendo en cuenta las replicas y las repeticiones se procedió a ajustar un modelo mixto en donde se contrastan los distintos tratamientos en los niveles mínimos de del  $\log_{10}$  de la viscosidad, como se observa en el Anexo 2. Anova de modelo mixto para temperatura inicial de gelación. También se realizaron comparaciones pareadas para determinar si algún par de tratamiento mostraba diferencia significativa (ver gráfico 8).



**Gráfico 8.** Comparaciones pareadas, de acuerdo a Tukey, de temperaturas de inicio de gelación en los diferentes tratamientos.

El resultado muestra que los tratamientos 1, 5, 6, 8 y 9 al 95% de confianza no son significativamente diferentes. Cabe anotar que a un nivel de significancia del 90% los tratamiento 1 y 5 son significativamente diferentes.

Los tratamientos 2 y 7 no son significativamente diferentes a un 95% de confianza. Los tratamientos 3 y 4 no son significativamente diferentes a un 95% de confianza, pero si son significativamente diferente con los demás tratamientos.

Dado el comportamiento de los datos al comparar los tratamiento con NaCl y/o PS (T1,T2,T3,T5), se encuentra que la presencia del anión Cloruro inhibe, respecto a la salmuera T4(Blanco), la gelación temprana de las proteínas cárnicas extraídas por la salmuera. En el gráfico 7, se puede notar que la temperatura de inicio de gelación para el "Blanco" es relativamente baja (42,5 °C) respecto a los tratamientos con NaCl, cuyas temperaturas son ligeramente superiores a los 57°C. que coinciden con el dato reportado por (Graiver y col, 2006) del pico endotérmico característico relacionado principalmente con la miosina y su desnaturalización subunidades.

(Macfarlane y col 1977), informaron que las proteínas Sarcoplasmicas sinérgicamente aumentan el poder de unión de la miosina en ausencia de sal, generando cambios estructurales, que impliquen mayor requerimiento de energía, en forma de calor, para que se presente el inicio de la gelación. Además, se debe tener en cuenta el efecto en la capacidad calorífica por la ausencia o presencia de sal en la formulación de la salmuera, ya que la presencia de ésta implicaría mayor energía en forma de calor para lograr un incremento en un grado centígrado (1°C) de la temperatura del sistema. Así, los posibles efectos en la estructura de la proteína, dada una fuerza iónica debida a la presencia de sal, podría aumentar el requerimiento de calor provocando puntos de inicio de gelación a más altas temperatura.

Como puede observarse en el gráfico 7, el tratamiento T3 (100% PS) comienza a gelar a una temperatura de 41,3 °C, alrededor de 1°C menos que el T4 (Blanco), cuya diferencia no resultó ser estadísticamente significativa. Mientras que al comparar el tratamiento T3 con respecto a los tratamientos T1,T2,T5 (con NaCl), hay una diferencia significativa, entre las temperaturas a las que comienzan a gelar los sistemas. Esto podría presentarse por la disociación de la actomiosina en sus componentes, actina y miosina, y al aumentar la concentración de miosina utilizable se mejora la capacidad de gelificación y en general todas las propiedades funcionales (Arango y Restrepo, 2001). Además se debe considerar que el fosfato puede afectar características como fuerza iónica, pH, e interacción con cationes divalentes, factores que influyen y conducen a un cambio conformacional en las estructuras protéicas, a una desnaturalización, favoreciendo el comienzo de la gelación a temperatura equiparable a la del T4 (Blanco). La carne al ser masajeadada en contacto con la salmuera no solo aporta proteínas, también este sistema carne-salmuera, podría ser fuente de cationes divalentes como  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{+2}$  y  $Fe^{2+}$ , iones que pueden aumentar la extracción y solubilidad de proteínas, estabilidad de la emulsión, y favorece la gelificación ordenada de proteínas (Barbut y Findlay 1991; Nayak y col. 1998; Piggot, 2000; Seman y col, 1980)

Según el comportamiento de los datos al comparar los tratamientos con KCl y/o MAO (,T6,T7,T8,T9), se encuentra que la presencia del anión Cloruro, respecto a la

salmuera T4 (Blanco) inhibe el inicio de la gelación, lo que coincide con los resultados cuando hay presencia de NaCl.

### 5.1.3.2 Prueba de fuerza de Gel

Se analizaron los resultados mediante un análisis de varianza con efectos mixtos, en donde se consideraron los tratamientos como efectos fijos y en cada una de ellos dos replicas autenticas y en cada replica las repeticiones se tomaron como efectos aleatorios como se observa en la gráfica 9

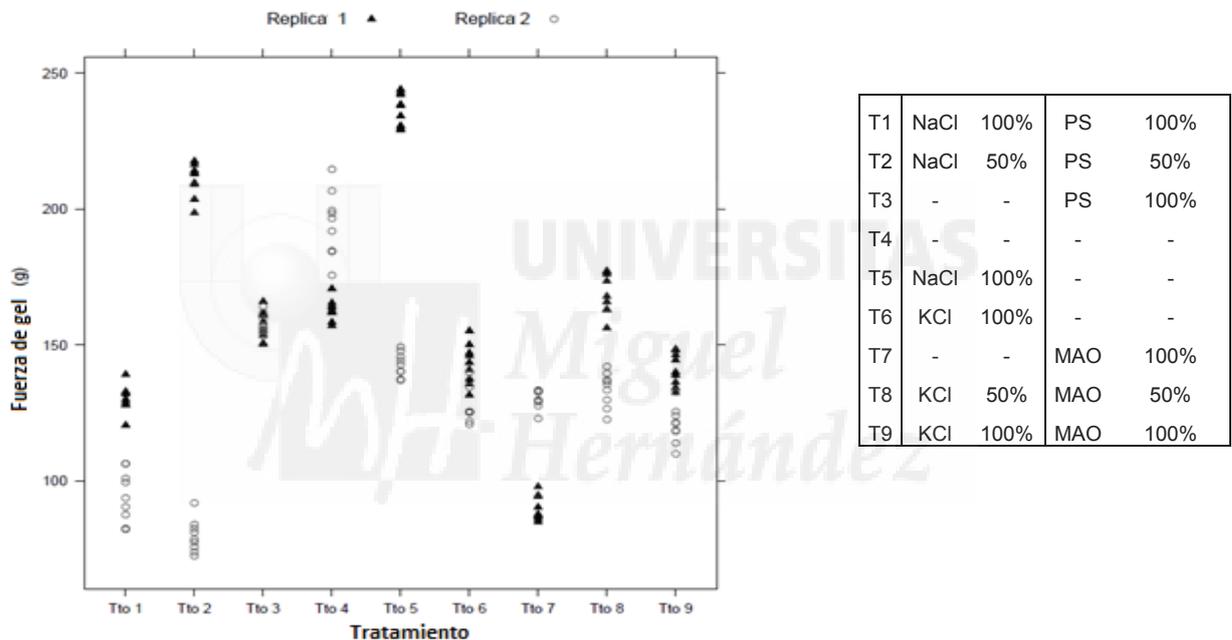


Gráfico 9. Fuerza de gel (g) para cada tratamiento con 2 replicas.

PS (Polifosfato de sodio), MAO (Mezcla de acidos organicos), T4 (Formula Blanco)

Teniendo en cuenta las replicas y las repeticiones se procedió a ajustar un modelo mixto en donde se contrastan los distintos tratamientos (Anexo 3). Anova de modelo mixto para fuerza de gel.

Según análisis de varianza a un 95% de confianza, no hay diferencia significativa entre los 9 tratamientos.

La adición de sales como cloruros y fosfatos y ácidos orgánicos de manera individual o combinado puede afectar la estabilidad de las proteínas e inducir a

efectos negativos o positivos, pero los resultados obtenidos en esta prueba, revelan un gel estable que después de haberse sometido a temperaturas por encima de 76°C y enfriado a temperatura por debajo de los 10°C, no presento diferencia significativas. La adición de retenedores como carrageninas, almidones, proteínas de soya, proteínas lácteas, pueden influir en esta estabilización.

### 5.1.3.3 pH en Salmuera

Se analizaron los resultados mediante un análisis de varianza de efectos fijos (Anexo 4). ANOVA de modelo mixto para pH en salmuera, en donde se tomaron 2 replicas por cada uno de los tratamientos como lo muestra el gráfico 10. Adicionalmente se elaboraron comparaciones pareadas como lo muestra el gráfico 11.

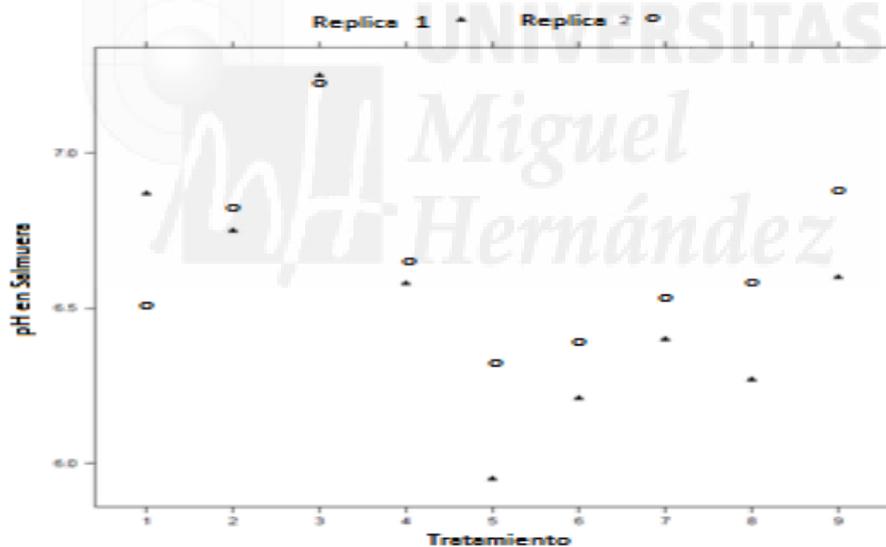


Gráfico 10. pH en Salmuera antes de gelificación

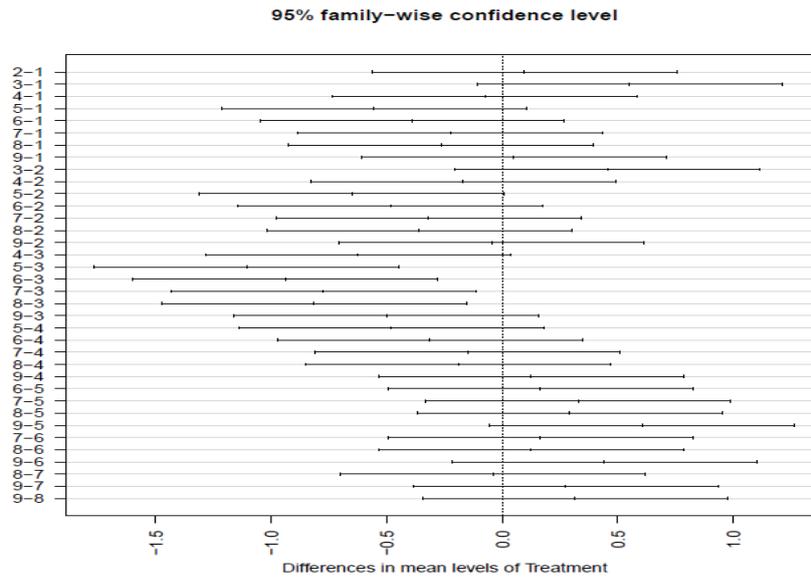


Gráfico 11. Comparaciones pareadas de pH de Salmuera.

Los fosfatos incrementan del pH en las soluciones en las cuales se adiciona, esto hace que cuando se aplican a la carne, ésta desplace su pH a valores alejados de 5.4 en donde se presenta la menor capacidad de retención de agua (Arango y Restrepo 2001), dato que concuerda con los resultados del tratamiento 3, que presentó diferencia significativa con tratamientos 5,6,7,8 a un nivel de confianza del 95%.

#### 5.1.3.4 pH en Gel

Se analizó los resultados mediante un análisis de varianza de efectos fijos (Anexo 5) anova de modelo mixto para pH en Gel, en donde se tomaron 2 réplicas por cada uno de los tratamientos como lo muestra el gráfico 12. Adicionalmente se elaboraron comparaciones pareadas como lo muestra el gráfico 13.

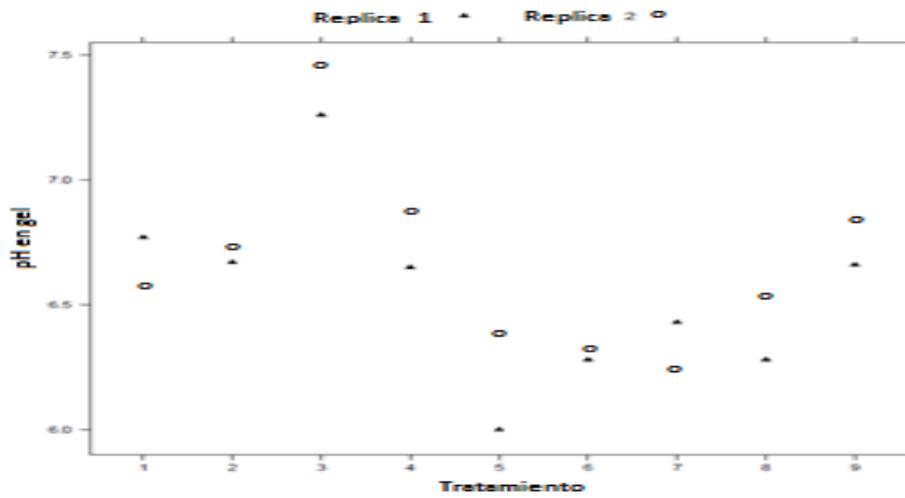


Gráfico 12. pH en Gel.

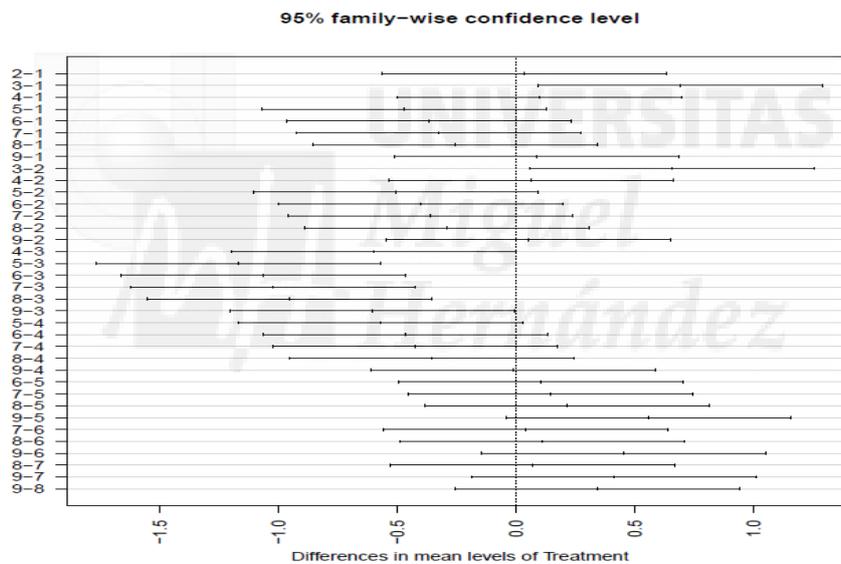


Gráfico 13. Comparaciones pareadas de pH de Gel.

Los resultados muestran que el tratamiento 3, presentó diferencia significativa con los demás tratamientos a un 95% de confianza, esto comparado con los resultados de pH en salmuera donde los tratamientos T1,T2,T4,T9 no presentaron diferencia significativas, podría indicar de algunas desnaturalizaciones ocurridas en el proceso

térmicos sobre la matriz carne-salmuera, hacen disminuir levemente el pH del sistema.

### 5.1.3.5 Tensión superficial en salmuera

Se procedió a estimar la tensión superficial en tiempos equivalentes, este procedimiento se realizó mediante regresión local no paramétrica. Seguidamente se desplego el comportamiento del logaritmo en base diez de la tensión superficial en el tiempo, teniendo en cuenta las replicas y las repeticiones como se muestra en el gráfico 14. Se observa que el logaritmo de la tensión superficial disminuye de manera exponencial en el tiempo y en la mayoría de los casos alcanza un nivel de estabilidad.

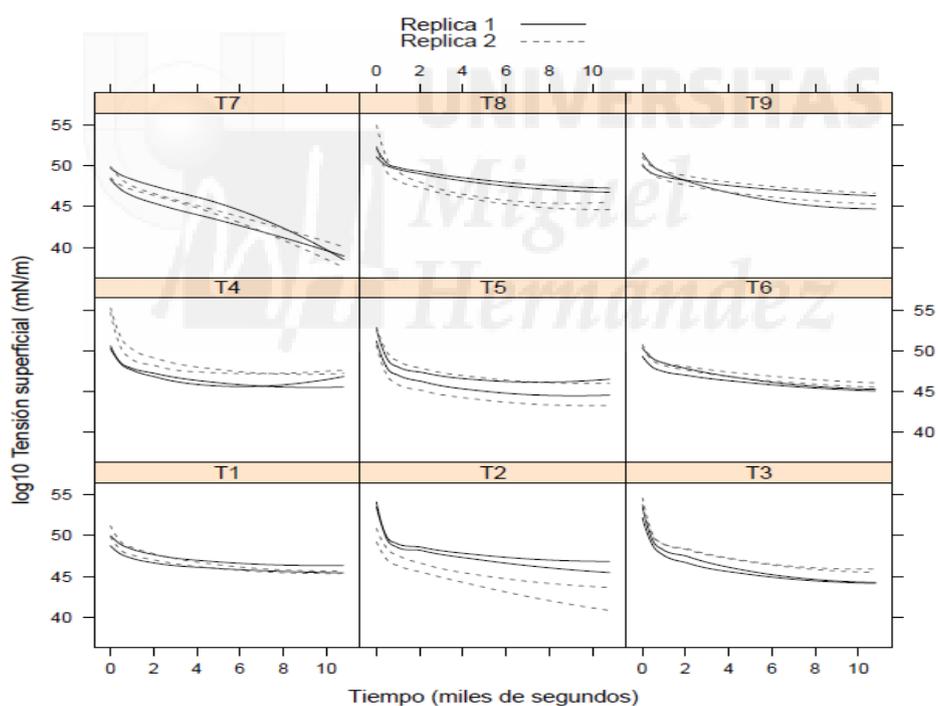


Gráfico 14. Log<sub>10</sub> de la Tensión superficial en el tiempo en segundo

Tiempo total de análisis de cada tratamiento 10800 segundos, los gráficos muestran dos replicas líneas con sus repeticiones para un total de 4 curvas

El nivel en el cual se estabiliza la tensión superficial, se utilizara como elemento de comparación entre los 9 tratamientos, para lo cual se calculo el promedio del logaritmo de la tensión superficial de los últimos 300 segundos del análisis, es decir

desde el segundo 10500 hasta el segundo 10800. El resultado se observa en la gráfica 15.

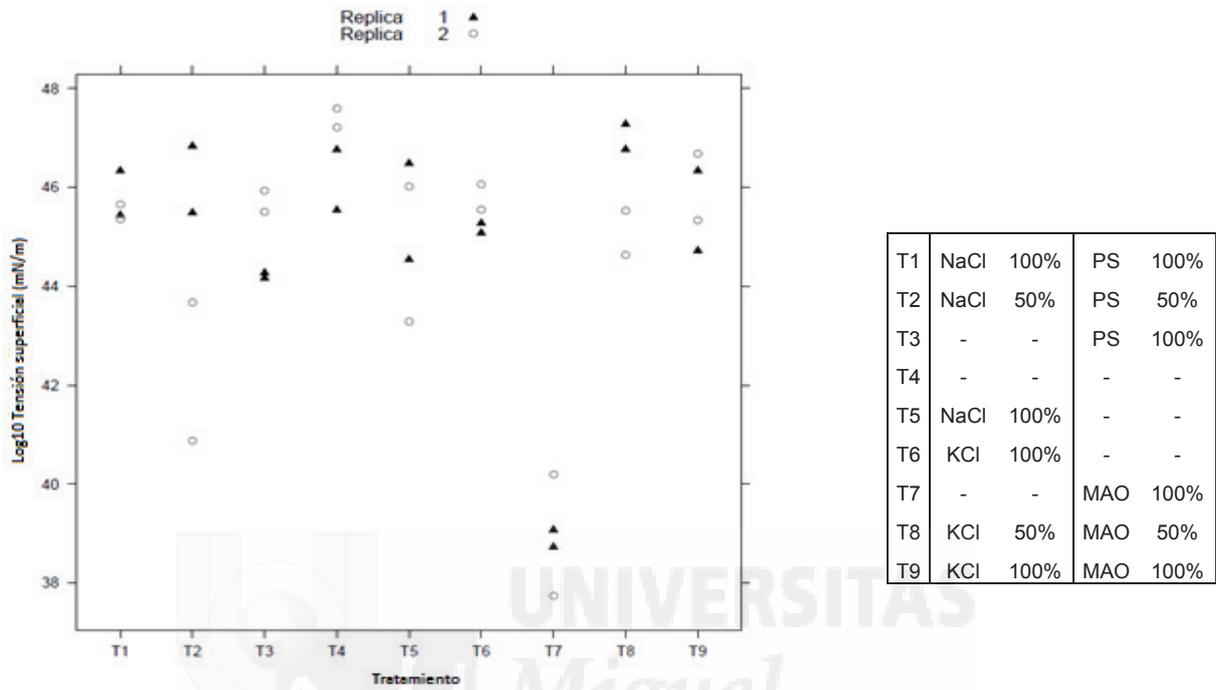
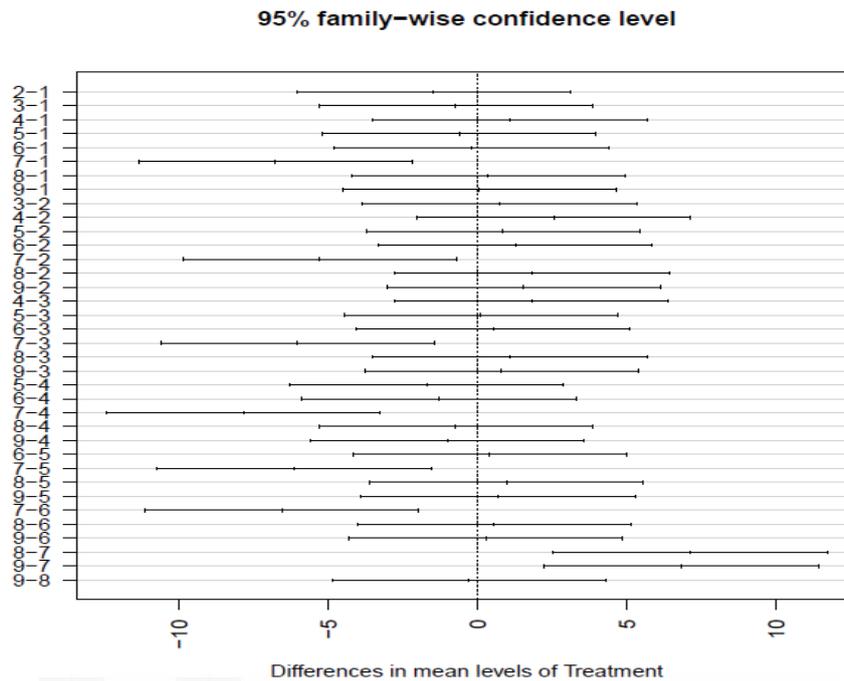


Gráfico 15.  $\log_{10}$  de Tensión superficial (mN/m) en el punto de estabilización. El gráfico muestra dos réplicas con sus repeticiones para un total de 4 datos por tratamiento.

Teniendo en cuenta las réplicas y las repeticiones se procedieron a ajustar en un modelo mixto en donde se contrastan los distintos tratamientos en los niveles de estabilización del  $\log_{10}$  de la tensión superficial, como se observa en el Anexo 6. (ANOVA de modelo mixto para Tensión Superficial).

También se realizaron comparaciones pareadas para determinar si algún par de tratamiento mostraba diferencia significativa (gráfica 16).



**Gráfico 16.** Comparaciones pareadas de Tensión superficial de los diferentes tratamientos.

El análisis de varianza muestra que únicamente el tratamiento 7, es significativamente diferente a un nivel de confianza del 95%. En los demás tratamientos no se encontró diferencia significativa.

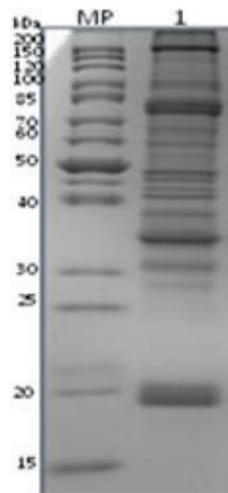
El gráfico 15, ilustra que comparando el tratamiento 5 (100% NaCl) con el tratamiento 6 (100% KCl) no se observan diferencias estadísticamente significativas en los valores de tensión superficial alcanzados por cada salmuera. Es posible que las fuerzas iónicas correspondientes a tales contenidos de sal, en ambos casos, sean tan altas que no permitan establecer el efecto de cambiar el catión monovalente sodio,  $\text{Na}^+$ , por el catión potasio,  $\text{K}^+$ . Disponer en diferentes salmueras, de la misma cantidad en masa de NaCl, o de KCl, induce el mismo efecto en la actividad superficial de las proteínas presentes y por lo tanto la igualdad en las tensiones superficial de ambos sistemas.

Al comparar el tratamiento 3 (100% PS) con el tratamiento 7 (100% MAO), se observa una tensión superficial de 44,86 mN/m y 38,83 mN/m respectivamente, y según análisis estadístico hay diferencia significativa a un 95% de confianza.

La muestra con MAO, logra un valor de 38,83 mN/m en la tensión superficial después de 3 horas de análisis, y con marcada tendencia a continuar decreciendo como lo mostró el gráfico 9, lo que conlleva a plantear un posible contenido de alguna sustancia con actividad superficial que por si misma induce a la disminución en la tensión superficial en la salmuera. Dada la posibilidad de que exista una sustancia con actividad superficial, también podría suponerse que se da una extracción selectiva de proteínas cárnicas que favorecieran la disminución de la tensión superficial. Confirmar las anteriores suposiciones requeriría un nivel de detalle específico en lo referente a la identificación y cuantificación de las proteínas cárnicas extraídas y solubilizadas durante el proceso de masaje con carne. Aunque el perfil electroforético fue similar para estos tratamientos (ver resultados electroforesis), puede ser la diferencia en los valores cuantitativos de las proteínas halladas los que permitan entender este efecto.

#### **5.1.3.6 Caracterización de proteínas en salmuera (Electroforesis)**

Para la estandarización del método, se realizó electroforesis en gel de poliacrilamida. Se comprobó que presentaba una alta concentración de proteínas lo que hacía difícil ver el perfil proteico (dato no mostrado). Se realizaron entonces corridos con menores cantidades de muestra. Al correr 0.2  $\mu$ l de la salmuera se pudo evidenciar un patrón de bandas definidas (15-20 bandas proteicas) y la ausencia de degradación (figura 4).



**Figura 4.** Perfil electroforético de Salmuera carril 1 salmuera 0.2 microlitros, carril MP marcador de peso molecular KDa

Se cuantificó la muestra realizando diluciones para evitar que las altas concentraciones de sal interfirieran con los reactivos usados, 1:100 para BCA y 1:200 para el OPA y se obtuvieron los siguientes resultados:

Cuantificación por BCA: 45,9 mg/mL

Cuantificación por OPA: 43,1 mg/mL

Procesamiento de las muestras: patrón electroforético:

Se analizaron un total de 19 muestras problema nombradas así: T1, T1 S.S, T2, T3, T4, T5, T6, T7, T8, T9, T10, T11, T12, 13, T14, T15, 16, 17, T18. Se corrieron en Gel de poliacrilamida y se obtuvo su patrón electroforético (Figuras 5,6,7). Como en la muestra inicial, no se observó degradación proteica ya que hubo un corrido limpio de bandas definidas, sin ningún manchón o acumulación de bandas de bajo peso molecular.

Para el análisis de muestra fue necesario aparear la imágenes, de manera que coincidan la replicas asi, (T1y T10 ; T2 y T11; T3 y T12; T4 y T13; T5 y T14; T6 y

T15; T7 y T16; T8 y T17; T9 y T18), la muestra codificada con T1SS, corresponde a una salmuera que no tuvo contacto con la carne, es decir donde solo hay presencia de proteína vegetal.

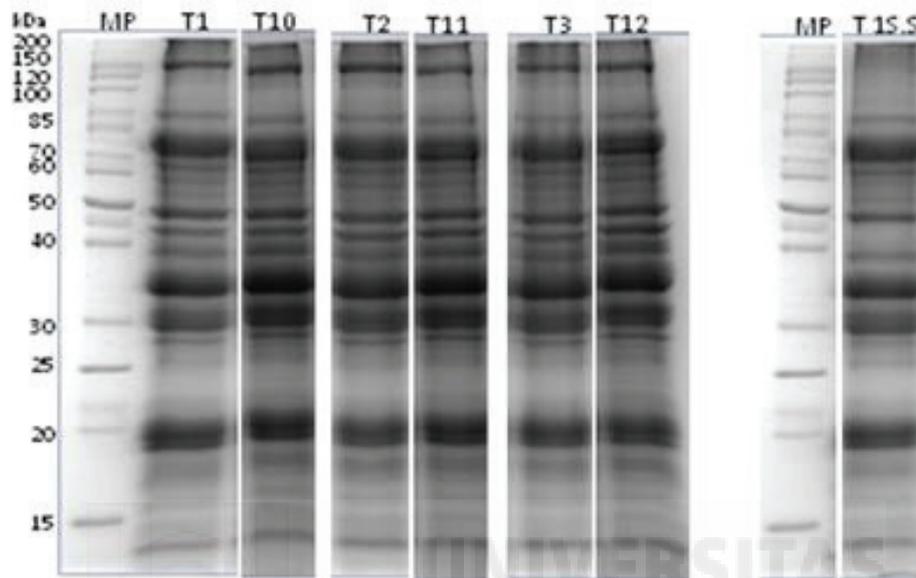


Figura 5. Patrón electroforético de los tratamientos 1,2,3,y T1SS con su correspondiente replica 10,11,12

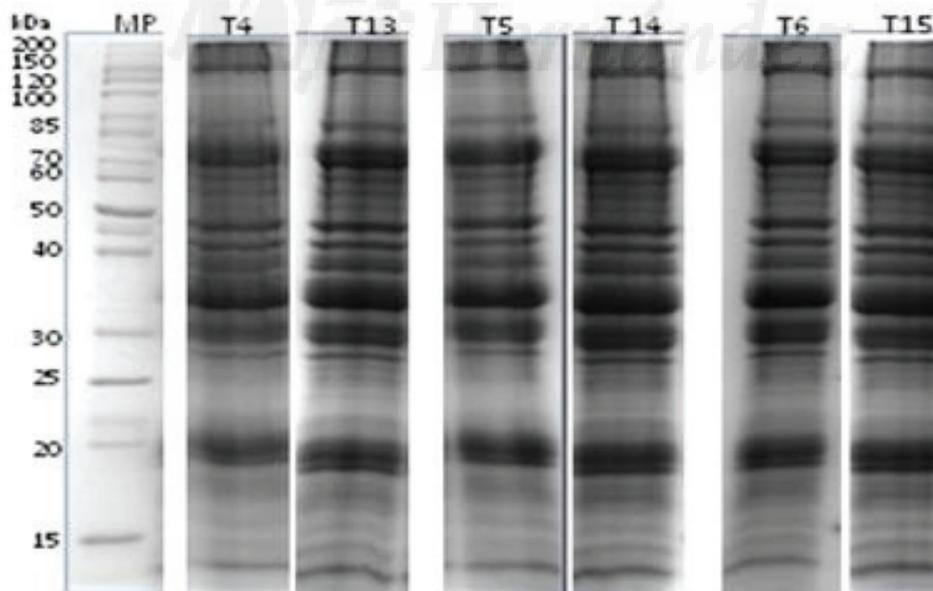


Figura 6. Patrón electroforético de los tratamientos 4,5,6, con su correspondiente replica, 13, 14, 15

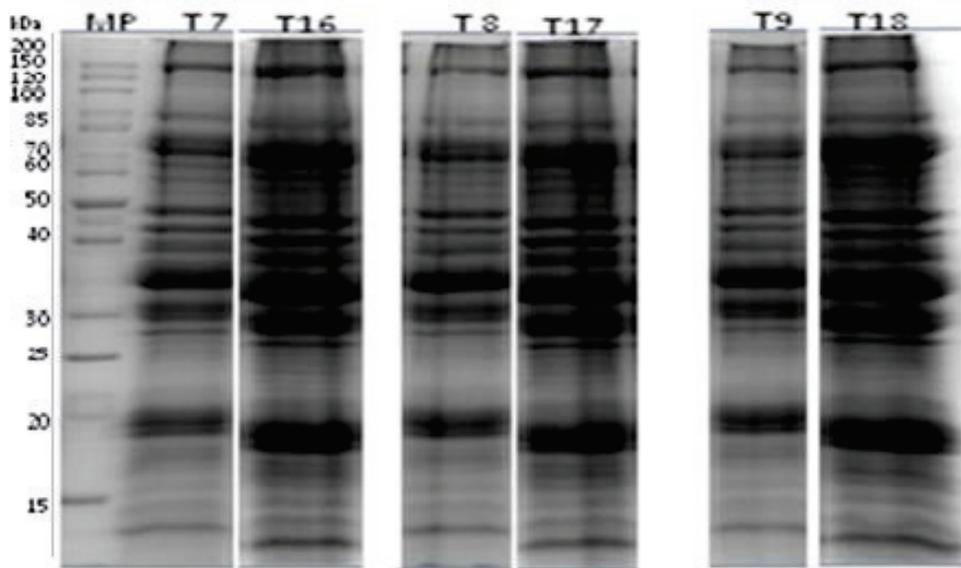


Figura 7. Patrón electroforético de los tratamientos 7,8,9, con su correspondiente replica 16,17,28

Marcador de peso molecular en Kda. Gel de poliacrilamida al 12% teñido con Azul Coomassie

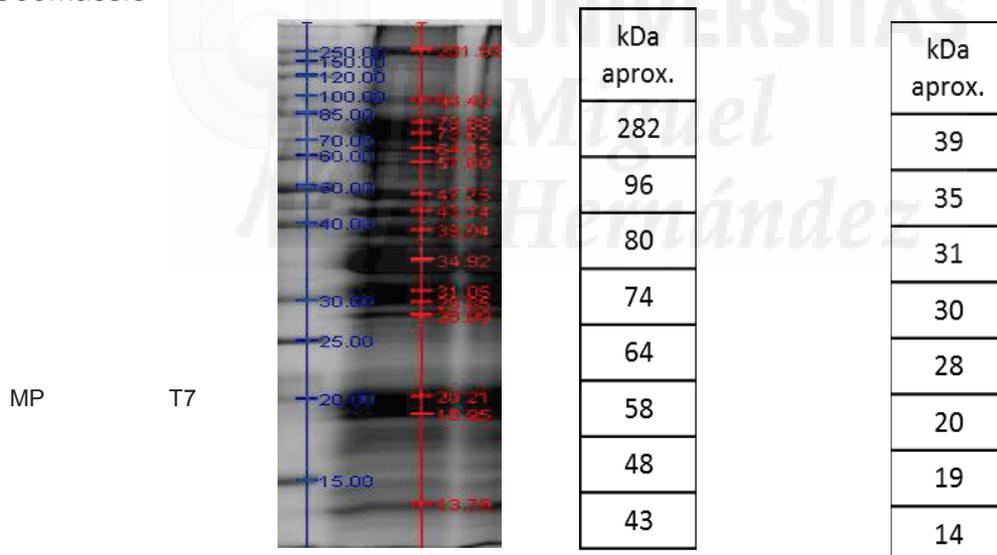


Figura 8. Peso molecular de las bandas más representativas. 18A, gel de poliacrilamida en el que se midió el peso molecular de las bandas de la muestra T7, MP. Marcador de peso molecular. 18B, tabla en la que se muestra el tamaño de las bandas en kDa.

Algunos datos encontrados en literatura sobre identificación de fracciones proteicas en carne son los siguientes; miomesina 165 Kda, Calpaina 80 Kda, actina como

actina G 42 Kda, Troponina T 35 Kda , Cisteina 30 Kda, Troponina I 22 Kda, Troponina C 18 Kda, estos datos fueron reportados por (Bello, 2008), myosin light chain MLC 30Kda reportado por (Muhlrad, 1982), colágeno 100 Kda a 145 Kda ( $\alpha$  fraction) y 209 Kda ( $\beta$  fraction) reportado por (Kimiya y col 1988; Shigemura y col, 2004).

El perfil electroforético de las 19 muestras fue muy similar. Al analizar las imágenes por medio del foto documentador Universal HOOD II (BioRad) el programa QuantityOne 4,6 (BioRad) y determinar el peso molecular de las bandas más representativas (figura 8) se pudo notar que la muestra T1 S.S (Figura 5), carece de algunas bandas correspondiente a 263,8 kDa, 150 Kda, 64,45 Kda, 43,14 Kda. Estas dos bandas se encuentran en todas las demás muestras. Las demás bandas proteicas son aparentemente idénticas en la totalidad de las muestras.

### 5.1.3.7 Cuantificación de proteína en Salmuera por método BCA

Se analizaron los resultados mediante un análisis de varianza con efectos mixto, ver anexo 7. (anova de modelo mixto para cuantitativo de proteína método BCA), en donde se tomaron 2 replicas por cada uno de los tratamientos como lo muestra el gráfico 17.

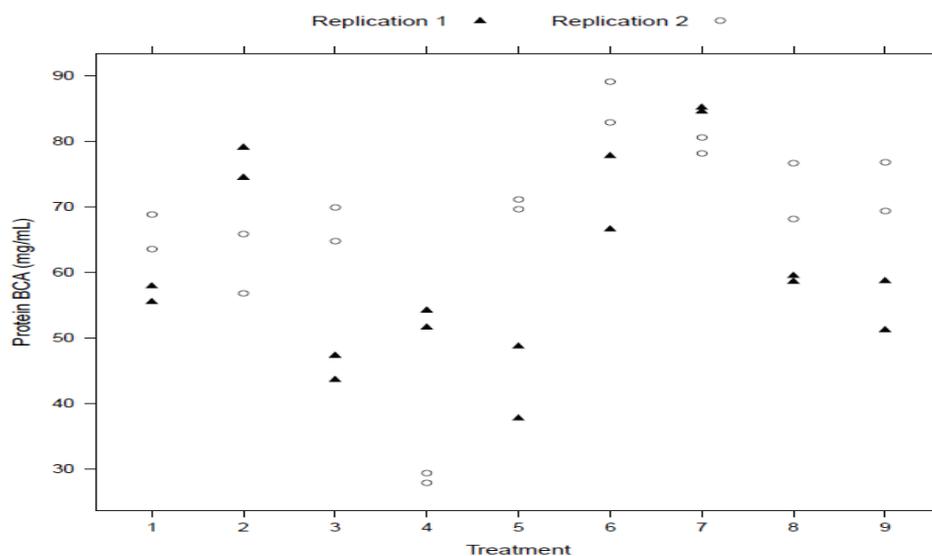


Gráfico 17. Contenido de proteína mg/mL por método BCA en cada tratamiento,

Los resultados indican que no hay diferencia significativa entre los tratamientos a un nivel de confianza del 95%.

### 5.1.3.8 Cuantificación de proteína en Salmuera por método OPA

Se analizó los resultados mediante un análisis de varianza con efectos mixto ver anexo 8. (ANOVA de modelo mixto para cuantitativo de proteína método OPA), en donde se tomaron 2 replicas por cada uno de los tratamientos como lo muestra el gráfico 18.

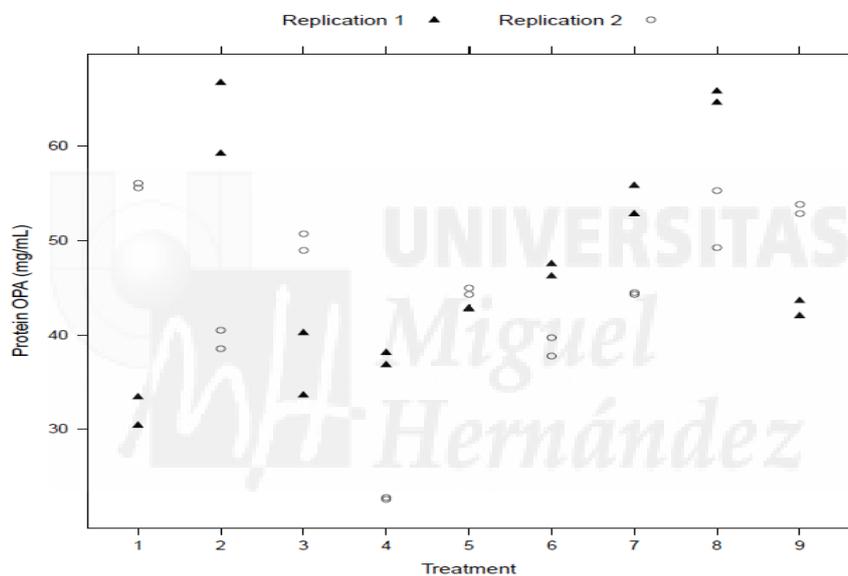
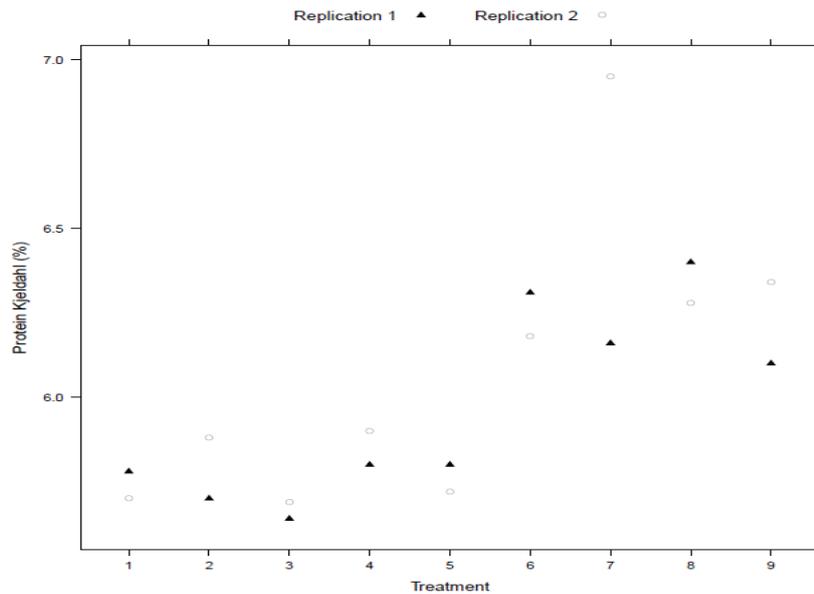


Gráfico 18. Contenido de proteína mg/mL por método OPA en cada tratamiento,

Los resultados indican que no hay diferencia significativa entre los tratamientos a un nivel de confianza del 95%.

### 5.1.3.9 Cuantificación de proteínas método Kjeldahl

Se analizó los resultados mediante un análisis de varianza de efectos fijos ver anexo 9 (anova de modelo mixto para cuantitativo de proteína método Kjeldahl), en donde se tomaron 2 replicas por cada uno de los tratamientos como lo muestra el gráfico.



**Gráfico 19.** Contenido de proteína (%) por método OPA en cada tratamiento, 2 replicas con sus respectivas repeticiones

La lectura del gráfico 19, muestra que el tratamiento 3 (100% Polifosfato de sodio, 0% NaCl) fue el de menor contenido de proteína, mientras que el tratamiento 7 (100% MAO, 0% de NaCl) es el de mayor contenido de proteína.

Teniendo en cuenta que la extracción de proteínas funcionales se ve afectada por la estructura de las proteínas, el medio y las interacciones específicas entre las proteínas y otros ingredientes o aditivos, tales como los polisacáridos y, especialmente, los lípidos, que pueden modificar drásticamente propiedades de las proteínas. Los resultados indican que estos factores no influenciaron los resultados presentados de ninguno de los métodos de cuantificación de proteínas, donde según análisis de varianza, no hay diferencia significativa entre los tratamientos a un nivel de confianza del 95%.

### 5.1.3.10 Análisis conjunto de las variables estudio.

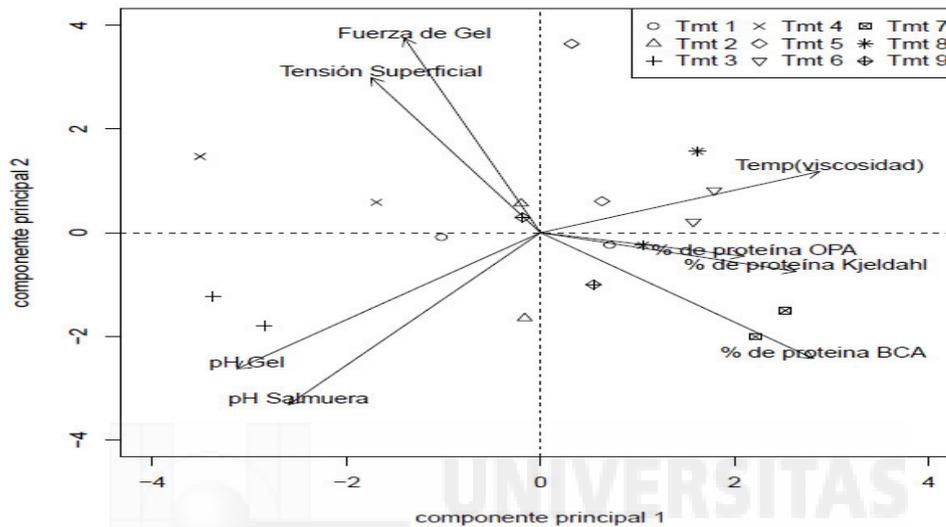


Gráfico 20. Diagrama biplot de componentes principales

Según gráfico 20 se observa que a lo largo de la componente principal 1 que explica el 40% de la variabilidad total de los datos (ver tabla 6) que los tratamiento 3 y 4 se encuentran al extremo izquierdo de la componente principal 1, mientras que el tratamiento 7 se encuentra al extremo derecho de la componente principal 1, lo que significa que estos dos grupos están en extremos opuestos de la máxima variación total de los datos. La componente principal 1 esta asociado a las variables % proteína método OPA y % proteína método Kjeldahl, lo cual indica que el tratamiento 7 se diferencia de los demás por los valores relativamente altos de proteína OPA y Kjeldahl, mientras que el tratamiento 3 y 4 se distinguen de los demas por niveles relativamente bajos de % proteína método OPA y % Proteína método Kjeldahl

En cuanto a la componente principal 2 que explica el 24 % de la variación total, se nota que las variables fuerza de gel y tensión superficial se asocian a esta componente, y dado que está casi perpendicular a las variables asociadas a la

componente principal 1, indica que este conjunto de variables es independiente con el primer grupo de variables (OPA y Kjeldahl) lo que puede indicar que la cantidad de proteína no influencia la fuerza de gel y la tensión superficial.

Se evidencia que se asocian positivamente las variables proteína OPA y Kjeldahl, además se asocian positivamente fuerza de Gel y Tensión Superficial, y pH Gel y pH en salmuera, e inversamente se asocian la variable temperatura de inicio de gelación (viscosidad) con pH gel y pH en salmuera, y también de manera inversa fuerza de gel con proteína BCA.

En términos generales en la medida que aumenta el pH en gel y salmuera, disminuye la temperatura de inicio de gelificación. En la medida en que aumenta la % proteína BCA, disminuye la fuerza de gel y la tensión superficial.

Se observa que las replicas del tratamiento 1 y 9 están alrededor del centroide de los datos, mostrando que su comportamiento es similar entre ellos y además que se comportan alrededor de un nivel promedio de las variables.

Se requerirán futuros estudios, para verificar las hipótesis planteadas a partir del análisis de componentes principales, porque se observa que las replicas tienen una dispersión entre ellas y además algunos de los tratamientos son indistinguibles utilizando la información de las dos componentes principales.

#### **5.1.4 Conclusiones**

La prueba de fuerza de gel da indicios que, sin importar el porcentaje y tipo de proteína solubilizado en el proceso de masajeo, la matriz obtenida en el filtrado de la salmuera forma gel. Posiblemente por el balance en la composición de la fórmula de aditivos retenedores de agua, que junto con las proteínas cárnicas solubilizadas y su sometimiento a temperatura de 78 °C, corrige cualquier desviación en textura. Este proceso de temperatura es similar al de un jamón cocido elaborado en

condiciones normales de producción, y asegura la gelificación de los almidones de trigo presentes que son los de punto de gelificación más alto. Se propone hacer pruebas a nivel industrial para verificar esta hipótesis ya que autores como (Barbut y col.1991) y (Piggot, 2000), proponen que la reducción de las concentraciones de sal disminuyen la extracción y solubilización de las proteínas y la funcionalidad del sistema cárnico.

Obtener información de la temperatura inicial de gelación, puede ayudar a que los procesos térmicos de cocción se optimicen, aunque hoy en día la temperatura de este proceso depende de la seguridad microbiológica y no es posible cocinar jamones por debajo de 72°C. En la medida que las tecnologías emergentes o métodos de conservación permitan bajar o eliminar las cargas microbianas, las cocciones a más bajas temperaturas podrán ser posibles en la industria cárnica y se mejorarán los perfiles sensoriales, de ahí la importancia de entender y conocer las fuerzas iónicas que se dan en los procesos de una matriz cárnica.

El pH en salmuera y gel solo presentó una diferencia estadística en el tratamiento 3 (pH 7,23 en salmuera y 7,3 en gel) debido a los Polifosfatos que incrementan las cargas netas negativas de las miofibrilas, favoreciendo las repulsiones electrostáticas entre estas, (Person, 1999), la modificación del pH en la salmuera y pH gel es elevado por causa de los Polifosfatos, lo verifica el tratamiento 5 (100%NaCl) que no los contiene y dio un pH de 5,95 en salmuera y 6,3 en gel.

La prueba de electroforesis no mostró diferencias en ningún tratamiento en el perfil electroforético, las bandas identificadas muestran la presencia de diferentes proteínas de origen cárnico en la salmuera. Es decir que la presencia o no del anión Cloruro y el catión Sodio o Potasio, además de la presencia o no de polifosfatos y sucedaneos de este como la mezcla de ácidos orgánicos, posiblemente no afecten la solubilidad de los diferentes tipos de proteínas de la carne de cerdo que se da en este caso por la acción mecánica, según lo observado ya que se identifican las mismas bandas en todos los tratamientos. Sin embargo el método usado es

cualitativo y es importante hacer análisis cuantitativos de las proteínas halladas, ya que se puede encontrar diferencias en la cantidad de cada fracción proteica presente en la salmuera.

A pesar que el contenido de proteína fue mayor en el T7 (100%MAO) y menor en T3(100 %PS), dicha diferencia no representó cambios importantes en la fuerza de gel, lo que indica que no es necesario desde la gelificación de la salmuera, ninguno de estos dos aditivos, para obtener textura en la porción “ no cárnica” de un jamón, su funcionalidad estará supeditada a la funcionalidad en porción cárnica de este producto.



## 5.2 Funcionalidad del Sodio en la conservación

### 5.2.1 Resumen

Se realizó un estudio relacionado con los efectos inhibidores de agentes conservantes como Lactatos, mezcla de sales y ácidos orgánicos, Nisina y bioprotectores como *Carnobacterium maltaromaticum*, sobre el crecimiento de *Leuconostoc pseudomesenteroides*, *Lactococcus lactis* como microorganismos alterantes aislados de productos cárnicos y *Listeria monocytogenes* aislada de una planta de producción cárnica ubicada en la ciudad de Medellín – Colombia. La investigación se llevó a cabo inicialmente retando los microorganismos a diferentes concentraciones de conservantes en pruebas *In vitro* (concentración mínima inhibitoria CMI y eficacia antimicrobiana USP), de las cuales se eligió la mejor mezcla de ácidos orgánicos y se usó en el diseño experimental en las pruebas *In vivo* en un jamón cocido tipo fiambre. Los jamones fueron almacenados a 8°C y se realizaron mediciones de UFC de mesófilos y *Listeria* cada semana, durante 6 semanas. El estudio muestra que los resultados de las pruebas *In vitro* no son comparables con las pruebas *In vivo*, además concluye que el mejor conservante para la inhibición y disminución de *Listeria monocytogenes nativa* es el bioprotector *Carnobacterium maltaromaticum*, y para la inhibición de alterantes no hubo diferencia significativa entre los tratamientos con conservantes y el control, lo que propone futuros estudios que verifiquen la vida útil de este jamón sin adición de conservantes diferentes al nitrito, ya que posiblemente las condiciones de buenas prácticas de manufactura en esta planta permiten tener condiciones de vida útil óptimas para el mercado.

### 5.2.2 Generalidades

Desde tiempos lejanos, la conservación de los alimentos especialmente las carnes han hecho parte de las costumbres de los pueblos, con el objeto de mantener recursos disponibles en épocas de escasez y especialmente para satisfacer una necesidad primaria; alimentarse. Luego, aparece en la historia de las diferentes culturas, productos cárnicos elaborados con características propias, utilizados principalmente en festines o agasajos. Se desconoce cuándo se comenzó a almacenar y conservar alimentos para poder ingerirlos sin que se estropearan, aunque los cazadores-recolectores se desplazaban buscando alimento y mejores refugios, la necesidad verdaderamente acuciante comenzó durante el neolítico. En el imperio romano se usaron varios métodos para conservar los alimentos, entre los cuales se destacan el ahumado, el secado y el salado, aplicando la sal granular o conservando en vinagre (inmersión en salmuera). En los albores de los años 1700's, la evolución de los métodos de conservación logra productos cárnicos con una mayor vida útil y más seguros desde el punto de vista microbiológico. El salado estaba restringido a las zonas costeras o sitios donde hubiera depósitos de sal. La sal con nitratos se usaba en la época de Homero (850 a. C.) para conservar la carne. Los romanos, que aprendieron el arte de curar la carne de los griegos, fueron los primeros en notar el efecto de enrojecimiento que ahora se atribuye al nitrito. Es claro, entonces, que aunque el papel de los nitritos no se comprendió verdaderamente sino a comienzos del siglo XX, ha jugado un papel importante en el curado de la carne.

En la actualidad la industria de alimentos ha desarrollado diferentes agentes que contribuyen con la conservación, que parten desde la misma sal y sus combinaciones con otros cloruros, hasta Lactatos, Bacteriocinas, Bioconservantes, Mezcla de sales y ácidos orgánicos, todo esto con el objetivo de aportar estabilidad y seguridad microbiológica de los productos, donde se ejerza un control sobre microbiota patógena y alterantes del producto. A continuación se hará una descripción de las principales materias primas que se han utilizado en la conservación de alimentos cárnicos.

### 5.2.2.1 Sal como agente conservante

El procesamiento de alimentos ha incluido la sal como una de sus principales materias primas, convirtiéndose esta a su vez en una de las principales fuentes de Sodio en la ingesta humana. Una de las funciones tecnológicas de la sal está asociada con la preservación y mejora de la seguridad microbiológica (Puolanne y col, 2001). El mecanismo de inhibición del crecimiento microbiano por la sal está relacionado con plasmólisis o pérdida de agua de la célula. Cuando el  $a_w$  de los alimentos se reduce mediante la adición de sal, las células bacterianas experimentan un shock osmótico y plasmólisis, que conduce a la interrupción del crecimiento y a un estado de latencia o inclusive a la muerte de estas. Para que el crecimiento de células vivas se reanude, la  $a_w$  debe volver a los valores que permiten a las células recuperarse (Doyle y col, 1997), ya que la sal es capaz en soluciones acuosas de ionizarse completamente en iones  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$ , los cuales son capaces de atraer hacia sí las moléculas de agua haciendo que no estén disponibles para el crecimiento de los microorganismos y provocando la deshidratación del producto cárnico. Este efecto de deshidratación también ejerce una acción directa sobre las enzimas que se expresa en un aumento de la vida útil del producto (Man, 2007).

La capacidad de la sal de ejercer un efecto Bacterioestático depende su concentración en el el producto. Se requieren concentraciones muy altas en medios de cultivo (alrededor de 10 % en peso) para inhibir el crecimiento de gran número de especies microbianas. Normalmente la concentración de sal en Jamones cocido no pasa de 2,5 % y en jamones curado del 10 % en peso por lo que no serían suficientes para ejercer un efecto bacteriostático por sí solo que permita la conservación del producto y esto hace necesario el uso paralelo de otros conservantes como los nitratos y los nitritos que controlen el crecimiento microbiano, protegiendo así al producto de posibles contaminaciones y con ello lograr inhibir o retardar el crecimiento de bacterias como *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* o *Staphylococcus aureus* (Matthews y Strong, 2005;

Toldrá, 2002) (Maccris, 1975). Por otro lado, hay muy pocos datos disponibles acerca de las propiedades antimicrobianas de las sales empleadas como sustitutivas del NaCl como son el cloruro potásico (KCl), el cloruro cálcico (CaCl<sub>2</sub>), el cloruro magnésico (MgCl<sub>2</sub>) y el lactato sódico o potásico.

#### **5.2.2.2 Nitritos**

Los nitritos contribuyen a aumentar la vida útil de los productos cárnicos procesados, son importantes en la producción del color, sabor, apariencia y frescura característicos de estos alimentos, los hace resistentes a la contaminación e inhiben la actividad microbiana, principalmente del *Clostridium botulinum* bacteria patógena de alta toxicidad en humanos, pero no actúa como bacteriostático o bactericida en las bacterias Gram negativas entéricas y patogénicas como *Salmonella* y *Escherichia coli* (Sebranek y Bacus, 2007; Tompkin, 2005). La concentración que se añade en el proceso de jamones cocido es muy baja alrededor de 200 ppm y con un alto margen de seguridad, estos niveles se reducen como consecuencia de la adición del ascorbato de sodio (Vit C), el tratamiento térmico, el tiempo, las condiciones favorables de almacenamiento, en general las buenas prácticas de manufactura. El producto final es un alimento seguro, bajo en nitritos con concentraciones alrededor de 50 ppm.

#### **5.2.2.3 Lactatos**

En la década de los 90's los Lactatos tuvieron gran aceptación en la industria cárnica, ya que proporcionaron posibilidades de obtener una vida útil que cumpliera con la necesidades del mercado y controlando el crecimiento de las bacterias en la carne y las actividades antilisterial (Devlieghere y col, 2001). pero a la vez se convirtieron en la segunda fuente aportante de sodio después de la sal, ya que sus condiciones de uso para ser efectivos están por encima del 2% en formula. Esto los

ha llevado en la actualidad a que puedan ser cuestionados en el tema de salud junto con el cloruro de sodio, a pesar de sus beneficios en la vida útil de los productos cárnicos. Por lo tanto el lactato de potasio es una mejor opción para desarrollar productos cárnicos reducidos en sodio. Los efectos de lactato pueden aumentar debido a la sinergia cuando se combinan con otras sales orgánicas como el diacetato (Schlyter y col, 1993; Theron, 2011).

#### **5.2.2.4 Sales y ácidos orgánicos**

Los ácidos orgánicos de cadenas cortas presentan varias ventajas en su uso, como la solubilidad, sabor y baja toxicidad entre ellos esta el acético, benzoico, cítrico, propiónico y sórbico de gran uso en la industria de alimentos como conservadores. La actividad antimicrobiana se mejora a medida que se alargue la longitud de su cadena molecular. Sin embargo los ácido Alifáticos poseen poca aplicación por su baja solubilidad en agua (J.H. Silliker, 1980)

La actividad antimicrobiana de un ácido orgánico o su ester se debe a las moléculas no disociadas de este compuesto (Macris 1975), algunos ácidos orgánicos en su estado no disociado son muy solubles en las membranas celulares (Cramer, 1977). Únicamente los ácidos lipofílicos muestran actividad antimicrobiana.

La elección de un ácido orgánico no solo depende de las características del mismo como (actividad antimicrobiana, solubilidad etc), si no de las condiciones microambientales y almacenamiento del producto.

#### **5.2.2.5 Bacteriocinas**

El conocimiento de la actividad antimicrobiana de las bacterias lácticas se ha sabido por mucho tiempo y reconocido como importante en la conservación de alimentos. Estas producen una variedad de factores antagónicos que generalmente se pueden dividir en sus productos finales del metabolismo o las proteínas bactericida /

bacteriostático (Nettles, 1993). El *Lactococcus lactis* es una bacteria ácido láctica que generalmente se encuentra en la leche y productos lácteos. Se caracteriza por producir nisina que es una de la bacteriocinas más conocidas en alimentos que tiene efecto antimicrobiano.

#### **5.2.2.6 Cultivos protectores- Bioconservadores (*Carnobacterium*)**

Una de las tendencias en conservación de alimentos, es sustituir agentes de origen químicos, por agente de control biológico, esta sustitución puede darse mediante la inclusión en el alimento de bacteriófagos, bacteriocinas (péptidos secretados por una especie que inhibir la otra), sideróforos (moléculas que capturan el hierro), quórum sensing donde la presencia de un autoinductor de un especie pueden influir en el crecimiento de otro (McIntyre, 2007). El uso de bacterias antagonicas ha tenido una gran aceptación y es uno de lo métodos con más futuro para la conservación de alimentos. Estas bacterias antagonicas generan metabolitos que hacen un medio adverso o exclusión competitiva para que no crezcan otro tipo de microorganismos (Anderson R. C., 2006). Como es el caso del género *Carnobacterium* que pertenece a las bacterias del ácido láctico (LAB) y consta de ocho especies, entre ellas *Carnobacterium alterfunditum*, *divergens* *arnobacterium*, *funditum* *Carnobacterium*, *gallinarum* *Carnobacterium*, *inhibens* *Carnobacterium*, *maltaromaticum*, *Carnobacterium móviles* y *Carnobacterium viridans*. Sólo *C. divergens* y *C. maltaromaticum* han sido frecuentemente aislado de una gran variedad de fuentes tales como los seres humanos (Chmelař y col, 2002), el intestino, la piel y las branquias de los peces sanos (González y col, 2000), (Ringø., 2000), peces enfermos (Baya y col, 1991) y diversos productos de los alimentos, incluyendo productos del mar (Franzetti, 2003) y la carne (Rhys, 2004; Samelis y col, 1998).

#### **5.2.2.7 Crecimiento bacteriano**

El crecimiento bacteriano en un ambiente favorable suele tener lugar como se indica en el gráfico 21, tras un periodo de ajuste o adaptación al ambiente. En la fase latencia comienza el crecimiento que se acelera hasta alcanzar una etapa de multiplicación rápida y constante, de crecimiento exponencial, denominada fase logarítmica. La depleción de nutrientes y la acumulación de metabolitos tóxicos termina frenando la velocidad de crecimiento hasta que alcanza un punto en el que muertes y divisiones celulares se igualen permaneciendo así la población constante y se le conoce como fase estacionaria, luego sigue una fase de decrecimiento a causa de muertes celulares.

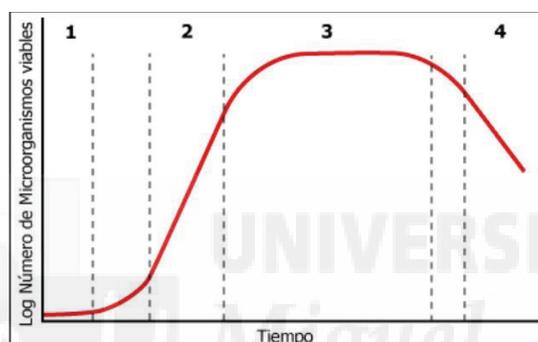


Gráfico 21. Curva típica de crecimiento bacteriano

(1) Fase de Latencia, (2) Fase de Crecimiento Exponencial, (3) Fase Estacionaria (4) Fase de Muerte

#### 5.2.2.8 Microbiota Patógena (*Listeria monocytogenes*)

*Listeria monocytogenes* es el agente causal de la listeriosis, una enfermedad que puede ser grave y a menudo mortal en individuos susceptibles. Se ha demostrado por estudios epidemiológicos que la listeriosis es una enfermedad transmitida por alimentos (Peter, 1994; Ryser, 1999) esta bacteria es ubicua y puede crecer a temperaturas de refrigeración en los productos empacados al vacío y en atmósfera modificada, a (Duffy y col 1994) puede crecer en productos refrigerados desde un número menor a 100 células por gramo, que en muchos estudios se considera que es la dosis de más alta aceptación para las personas saludables (Buchanan y col 2000; Huss y col, 2000), a más de 100.000 células por gramo, en un período de 3-4 semanas que el tiempo de conservación de muchos alimentos (Miettinen y col,

1999). Por lo tanto, los productos listos para comer (RTE) que se almacenan a temperatura de refrigeración por más de 10-15 días y se consumen sin calentar suficiente para matar a las células vivas de bacterias, pertenecen a los productos alimenticios de alto riesgo para listeriosis. Algunos de los agentes conservantes permitidos que se han estudiado como anti-listeria son acetato, lactato (Golden, 1995; Hutkins, 1991).

#### **5.2.2.9 Microbiota Alterante (BAL)**

Las bacterias ácido lácticas (BAL) son un grupo de bacterias asociadas a la descomposición productos cárnicos cocidos empacados al vacío". (Samelis y col., 1998) (von Holy y col, 1991). Los géneros principales causantes de este deterioro son *Lactobacillus* y *Leuconostoc sake* y *Lactobacillus curvatus* being aislados con frecuencia (Dykes y col, 1995). En comparación con las bacterias del deterioro aeróbico, Las bacterias ácido lácticas producen cambios sensoriales, tales como acidificación, formación de gases, y / o la formación de limo (Korkeala y col, 1989), en un producto envasado al vacío que generalmente se espera mantener de buena calidad sensorial al menos 3 a 4 semanas.

Las condiciones microbiológicas en los productos cárnicos depende de las condiciones en que fueron elaborados, esto implica en que las microbiotas nativas de cada planta de producción son de gran importancia al momento de hacer evaluaciones de conservantes en productos. Es por esto que se planteo el siguiente esquema de trabajo que se dividió en tres fases, la primera fase tiene como objetivo aislar e identificar, la microbiota microbiana alterante y patógena (*Listeria*) de una planta de embutidos cárnicos ubicada en la ciudad de Medellín – Colombia. Una vez identificada dicha microbiota, se uso en la segunda fase que tiene como objetivo realizar pruebas Invitro para evaluar la capacidad de inhibición de crecimiento microbiano, de los lactatos y diferentes mezclas de ácidos orgánicos mediante pruebas de laboratorio como Concentración mínima inhibitoria (CMI) y eficacia antimicrobiana USP, estas pruebas determinaron el mejor conservante que se usó en la tercera fase de la investigación que tiene como objetivo evaluar la capacidad

de inhibición de crecimiento microbiano mediante pruebas In vivo de diferentes conservantes como; mezcla de lactatos mas diacetatos, mezcla de sales y ácidos orgánicos, bacteriocinas (nisina), y bioprotectores (*Carnobacterium maltaromaticum*), en una formula de un jamón cocido tipo fiambre, elaborado a nivel industrial y donde se inoculan los microorganismos aislados en la primera fase.

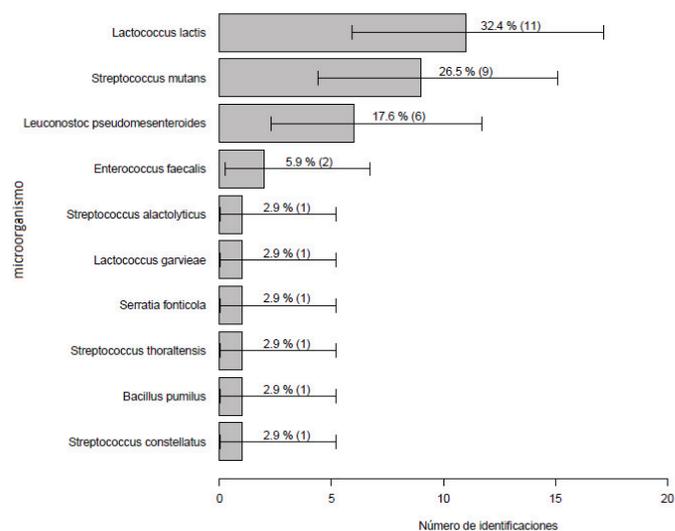
### **5.2.3 Resultados**

#### **5.2.3.1 Aislamiento e Identificación de Listeria Monocytogenes.**

Según test VIDAS® *L. monocytogenes* II,. (OMA, 2004). La cepa aislada e identificada es *L. monocytogenes* y se denominó *L. monocytogenes nativa*. Se almacenó en crioviales a -18°C.

#### **5.2.3.2 Aislamiento e Identificación de Microorganismos alterantes**

Se realizó una estimación de la proporción de los microorganismos alterantes como se muestra en el diagrama de barras (ver gráfico 22). De todos los análisis realizados, se seleccionaron los dos microorganismos más representativos por su relación con el deterioro de productos cárnicos procesados. El *Lactococcus lactis* se encontró en 11 de los 34 análisis y por lo tanto la estimación de su porcentaje en toda la población es del 32.4% con un intervalo de confianza al 95% entre 17.4%-50.5%. Esto quiere decir que el verdadero porcentaje del *Lactococcus lactis* en la población total no será inferior al 17.4% ni superior al 50.5% con una seguridad del 95%. En el caso del *Leuconocstoc pseudomesenteroides* el valor estimado es de 17.6% y su límite inferior y superior es de 6.8% y 34.5% respectivamente con un nivel de confianza del 95%.



**Gráfico 22.** Estimación de la proporción de la identificación de microorganismos alterantes

Cada barra representa el porcentaje de cada microorganismo alterante y las líneas su respectivo intervalo de confianza, en el paréntesis se encuentra el número de lecturas en las cuales se identificó el microorganismo

La evaluación microbiológica en alimentos es compleja y se hace importante identificar el tipo de microorganismo que debemos inhibir, Los generos de microorganismos identificados y aislado en esta investigación, *Lactococcus* y *Leuconostoc* coinciden con los asociados al deterioro de productos cárnicos planteados por (Samelis y col.1998).

### 5.2.3.3 Prueba CMI (Concentración mínima inhibitoria)

Inicialmente se tomaron los siguientes grupos para comparar la inhibición sobre los microorganismos, grupo 1 (6 conservantes inoculados con *L monocytogenes* nativa y listeria ATCC), grupo 2 (los 6 conservantes inoculados con *Lactococcus lactis*, *Leuconocstoc pseudomesenteroides*).

Se hizo un análisis exploratorio de los datos como se observa en la gráfica (Gráfica 23).

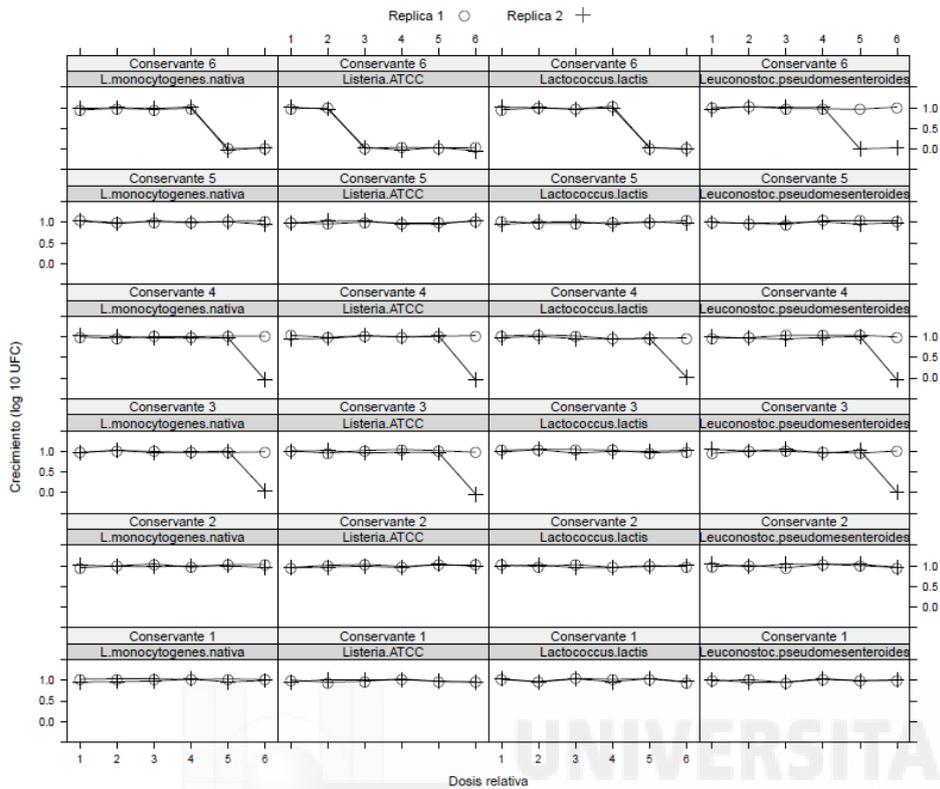


Gráfico 23. Exploratorio Concentración mínima inhibitoria de los grupos 1 y 2.

Puntos alrededor de 1 = crecimiento del microorganismo, 0(cero) = No crecimiento. El eje x representa la dosis relativa y el eje y el crecimiento o no crecimiento.

El gráfico muestra que no es susceptible de modelación los conservantes 1 y 2, ya que en ningún nivel de dosis se mostró inhibición.

El experimento se modeló mediante una regresión logística o también una regresión lineal generalizada con respuesta binomial y función de enlace logístico. (Hosmer, 2000).

$$p_i = E \left( \frac{Y_i}{n_i} | t_i \right)$$

Los logit de las probabilidades binomiales se da por:

$$\text{logit}(p_i) = \log \left( \frac{p_i}{1 - p_i} \right) = \beta_0 + \beta_1 t_i$$

Conservante	Composición
1	Lactato de Sodio
2	Lactato de Potasio mas Diacetato de Sodio
3	Lactato de Potasio mas Diacetato de Sodio
4	Mezcla de; Ácido Láctico, Ácido Ascorbico, Ácido Citrico, Extracto de Romero y Extracto de Oregano
5	Mezcla de; Acetato de Sodio, Sal, Diacetato de Sodio, Dioxido de Silicio
6	Mezcla de; Diacetato sódico, mono y digliceridos de ácidos grasos , ácido láctico

Para comparar el desempeño de todos los conservantes con respecto a la inhibición de *L. monocytogenes* nativa y *Listeria* ATCC, se modeló el grupo 1 con 6 conservantes.

El gráfico 24 muestra que la variable dosis, conservante y microorganismo son significativas con un nivel de confianza del 95% , siendo el de mejor desempeño el conservante 6 para la *L. monocytogenes* nativa entre la dosis 4 y 5 y para listeria ATCC entre la dosis 2 y 3. (ver gráfico 24)

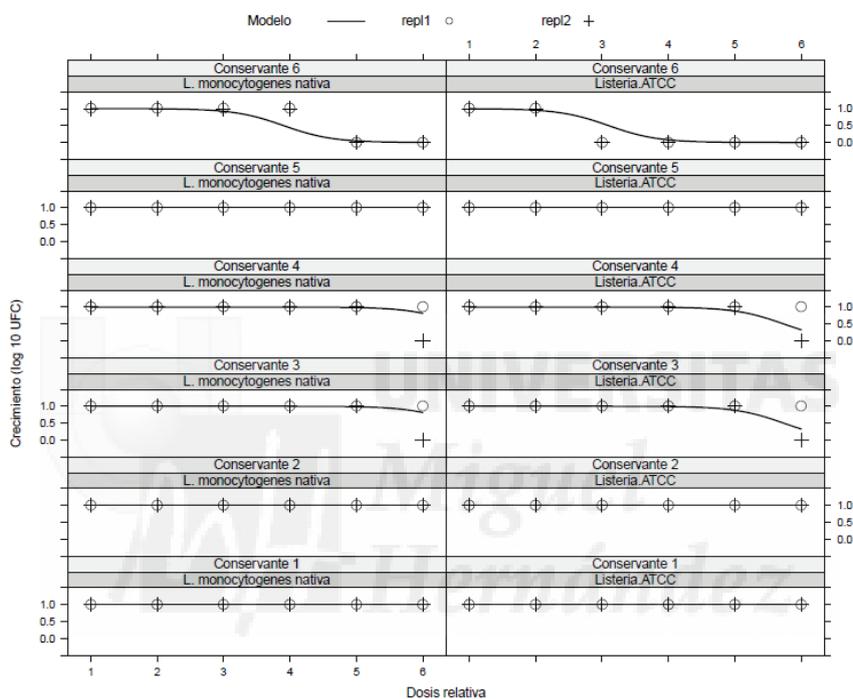
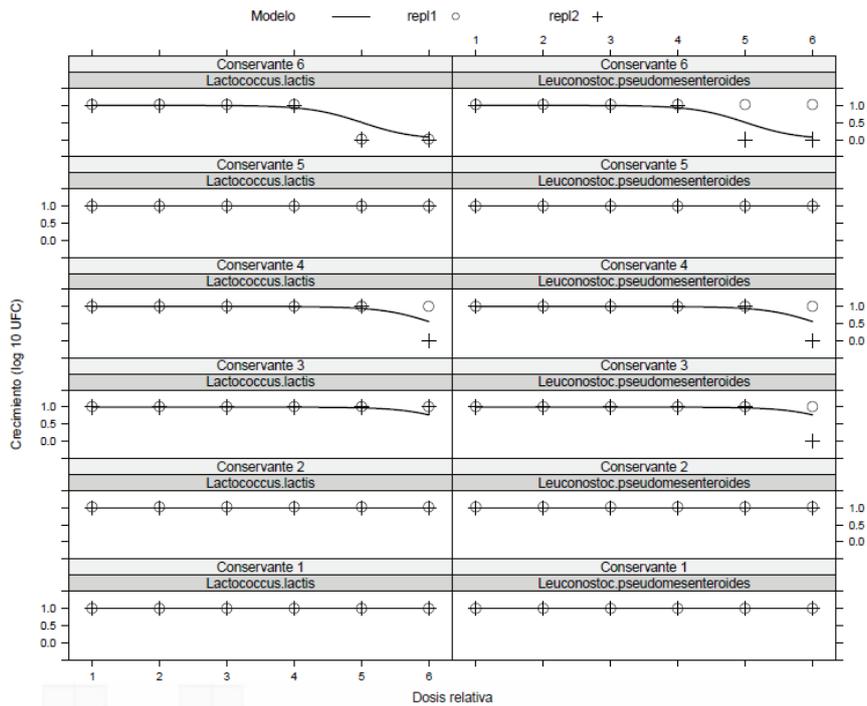


Gráfico 24. Modelos de inhibición de *L. monocytogenes* nativa y *Listeria* ATCC Prueba CMI

Para comparar el desempeño de todos los conservantes con respecto a la inhibición de microorganismos alterantes se modelo el grupo 2 con 6 conservantes.

El gráfico 25 muestra que la variable dosis y microorganismo es significativa con un nivel de confianza del 95%, siendo el de mejor desempeño el conservante 6 entre la dosis 4 y 5.



**Gráfico 25.** Modelos de inhibición de microorganismos alterantes (*Lactococcus lactis* y *Leuconostoc Pseudomesenteroides*) para prueba CMI.

#### 5.2.3.4 Prueba de eficacia antimicrobiana (USP)

Los resultados de esta prueba se presentaron de dos formas, la primera consiste en categorizar los conservantes según norma de eficacia antimicrobiana USP, la segunda consiste en hacer análisis estadístico de las UFC reportadas por el laboratorio.

##### 5.2.3.4.1. Categorización de conservantes según norma USP

Los resultados evidencian que los conservantes 4,5,6 tienen un mejor comportamiento para inhibición de *Listeria*, que los conservantes 1,2,3, (ver gráfico 26) lo que indica que la mezcla de sales y ácidos orgánicos, tiene una mejor

categorización que los conservantes de ión Lactato, siendo el conservante Lactato de sodio el de mas bajo comportamiento

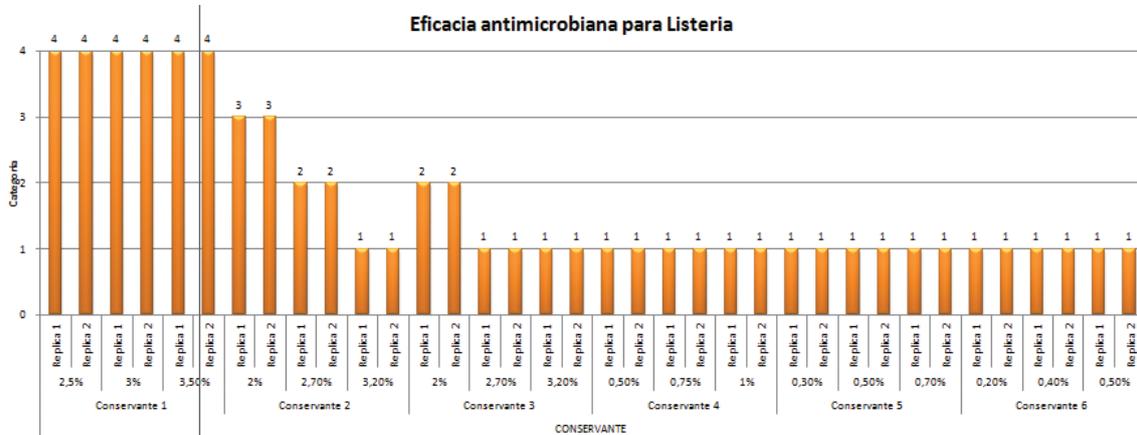


Gráfico 26. Categorización de conservantes para Listeria según norma de eficacia antimicrobiana USP. Eje y categoría del producto, eje x conservante, dosis, y replica

Los resultados muestran que la mayoría de conservantes son categoría 1 (ver gráfico 27) para inhibir el crecimiento de los microorganismos alterantes, excepto el conservante 1 en todas sus dosis, el conservante 3 en la dosis del 2% y el conservante 5 en la dosis 0,3% .

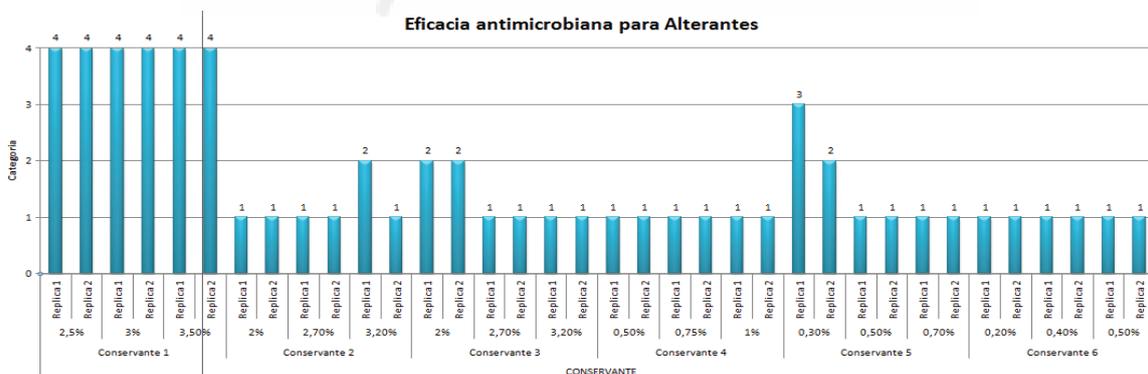
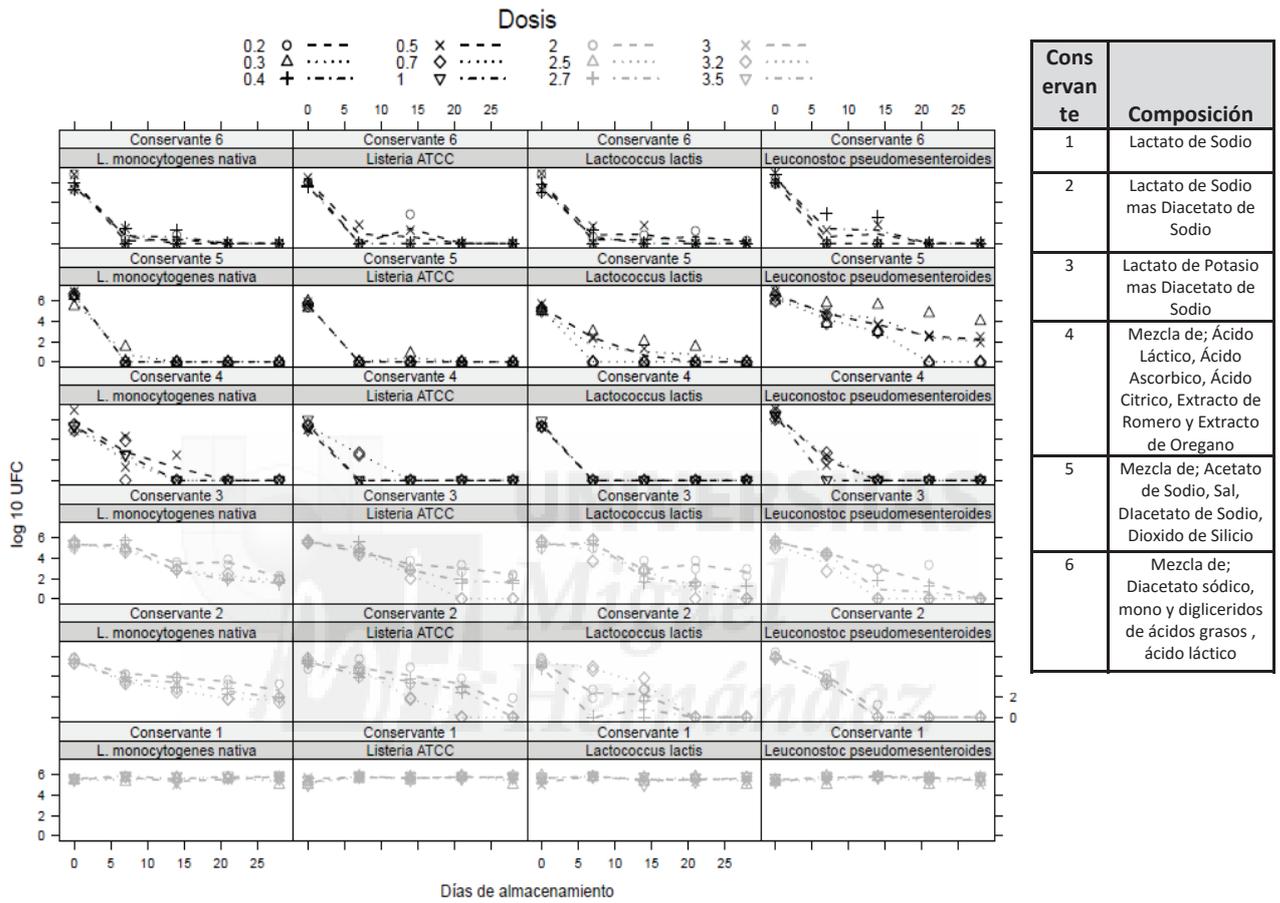


Gráfico 27. Categorización de conservantes para Alterantes según norma de eficacia antimicrobiana USP. Eje y categoría del producto, eje x conservante, dosis, y replica

### 5.2.3.4.2 Exploratorio prueba USP *in vitro*

Se hizo un análisis exploratorio de los datos de las UFC de los microorganismos en el tiempo, como se observa en la gráfica 28, se evidencia que no es susceptible de modelación el conservante 1, ya que en ningún nivel de dosis hubo inhibición.



**Gráfico 28.** Exploratorio de inhibición de crecimiento en el tiempo, de *Listeria* y Alterantes con diferentes conservantes a diferentes dosis. Cada cuadro identifica el conservante y el microorganismo en la parte superior. En el eje Y muestra el  $\log_{10}$  de UFC y el eje X los días de almacenamiento.

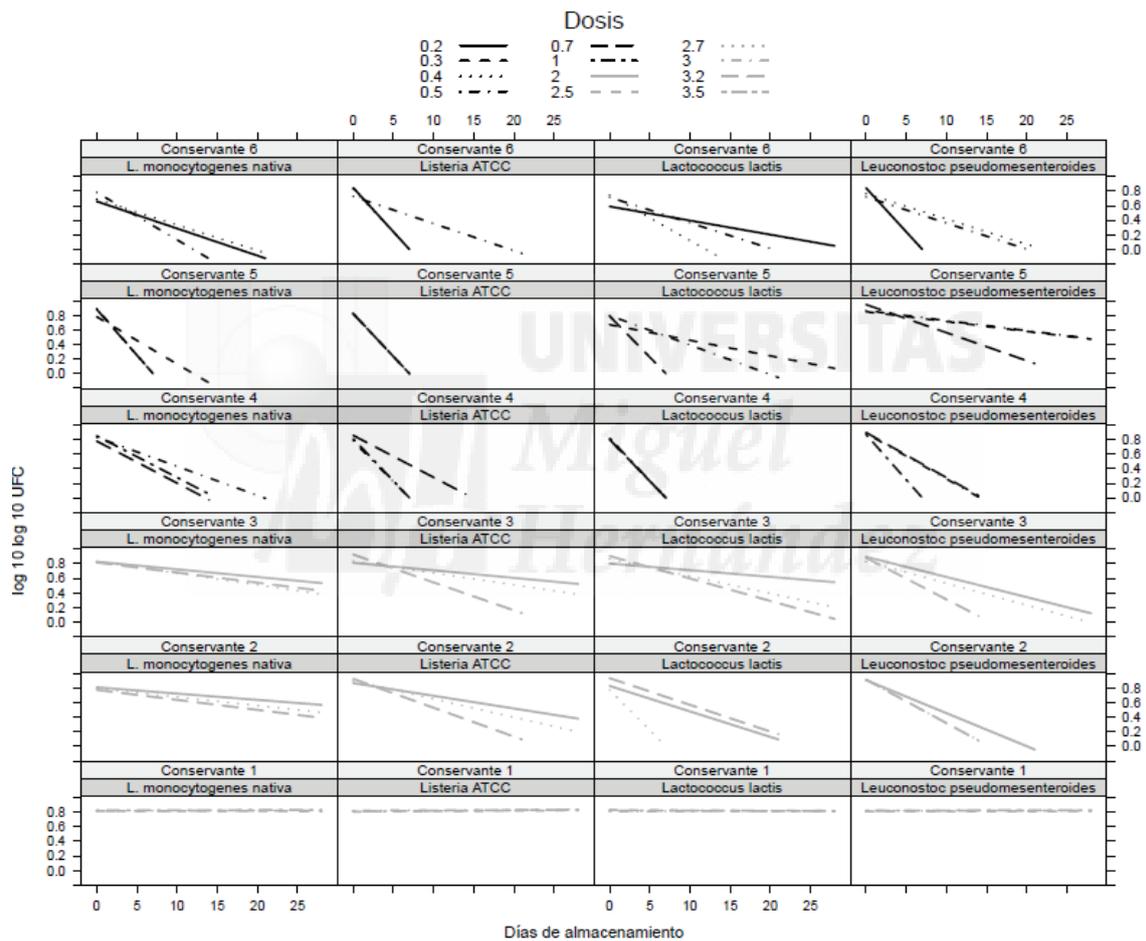
### 5.2.3.4.3 Modelo

El experimento se modeló mediante una regresión con un modelo doble exponencial con respuesta de doble logaritmos de las UFC en el tiempo (Varfolomeyev y Gurevich, 2001).

$$\log(\log(\text{UFC})) = t$$

$$\log(\text{UFC}) = 10^t$$

$$\text{UFC} = 10^{10^t}$$



**Gráfico 29.** Modelos de inhibición de crecimiento por cada dosis de conservante con *L monocytogenes nativa* y *Listeria ATCC*

Cada cuadro muestra el parte superior el conservante y el tipo de microorganismo, el eje Y muestra los  $\log_{10}\log_{10}$  de UFC, el eje X muestra los días de almacenamiento. Las líneas representan las diferentes dosis

Según el gráfico 29, en general con respecto a cualquiera de las dos *Listerias* el mejor comportamiento lo muestra el conservante 5, seguido del conservante 6, ya

que a dosis baja presenta un comportamiento significativamente mejor que las 3 dosis del conservante 4.

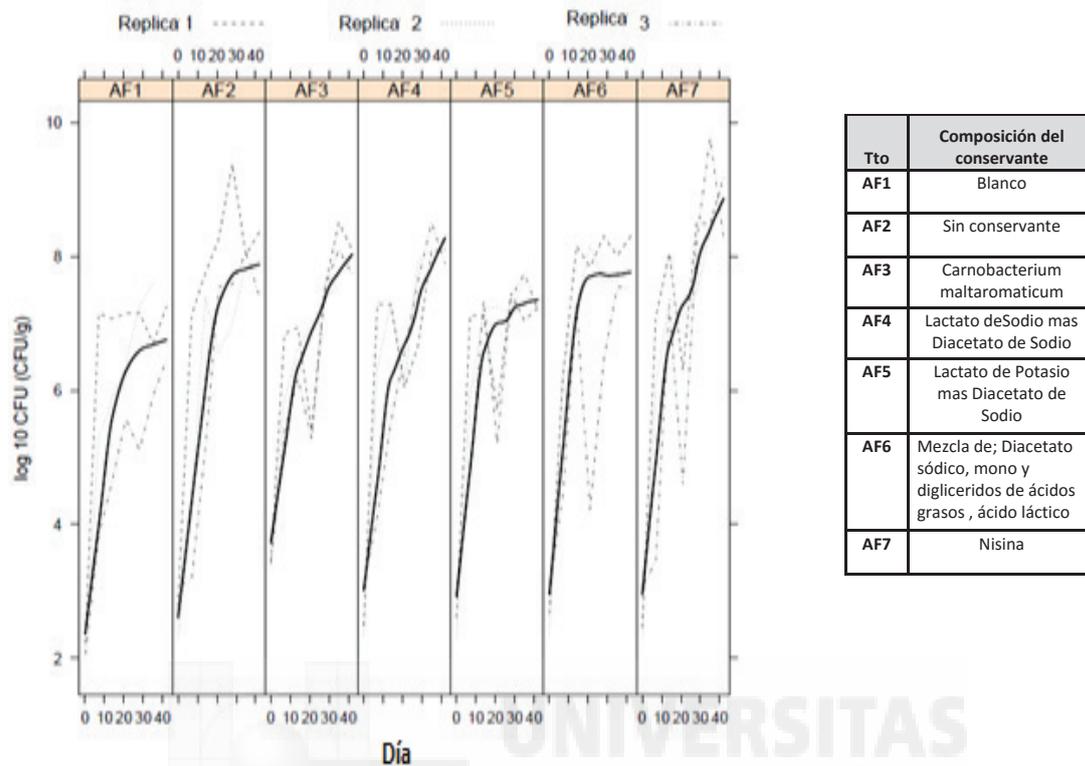
En términos generales el mejor comportamiento para los dos microorganismos alterantes lo presenta el conservante 4, seguido por el conservante 6 y en tercer lugar el 5.

Estadísticamente el comportamiento del conservante 6 en algunas dosis presentó un mejor comportamiento en cuanto a inhibición de microorganismos. Teniendo en cuenta que estos conservantes deben cumplir con eficacia antimicrobiana, se seleccionó el conservante 6 por el comportamiento en inhibición de *Listeria* y Alterantes, además de los resultados de las pruebas CMI que refuerzan esta decisión. Este conservante se eligió para el diseño experimental de la Fase 3 In vivo.

#### **5.2.3.5 Exploratorio Prueba in vivo**

Los resultados de las pruebas In vivo se despliegan en la gráfica 30, en donde se muestra análisis exploratorio del comportamiento de cada una de las réplicas en los distintos tratamientos y además se marca la tendencia de los datos mediante una regresión local no paramétrica (LOESS Locally Weighted Scatterplot Smoothing).

La línea de tendencia de la regresión LOESS muestra que los modelos que se ajustan a este comportamiento no corresponden al modelo usual de crecimiento exponencial, si no posiblemente a un modelo que tenga en cuenta el comportamiento asintótico del log de crecimiento.



**Gráfico 30.** Exploratorio de pruebas Invivo para mezcla de Alterantes,

Las líneas punteadas muestran las réplicas y la línea continua a la línea de tendencia de regresión LOESS, El eje Y muestra el  $\log_{10}$  de UFC y el eje X los días de almacenamiento de las muestras..

El tratamiento AF1 (gráfico 30) muestra un menor crecimiento de los alterantes, debido a que este tratamiento corresponde a la fórmula control sin inoculación. Lo que confirma que el nivel de alterantes presente en el jamón está por debajo del nivel inoculado.

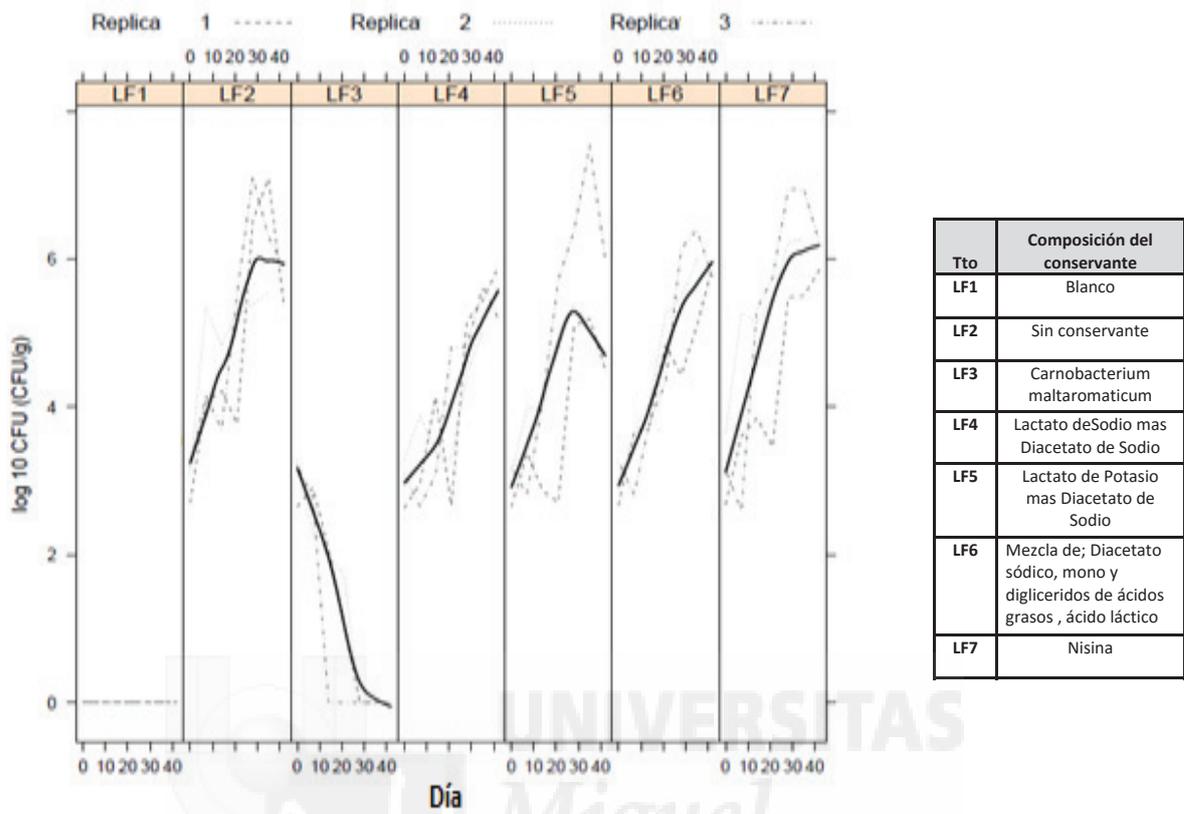


Gráfico 31. Exploratorio de pruebas Invivo para *L. monocytogenes* nativa,

Las líneas punteadas muestran las réplicas y la línea continua a la línea de tendencia de regresión LOESS, El eje Y muestra el  $\log_{10}$  de UFC y el eje X los días de almacenamiento de las muestras

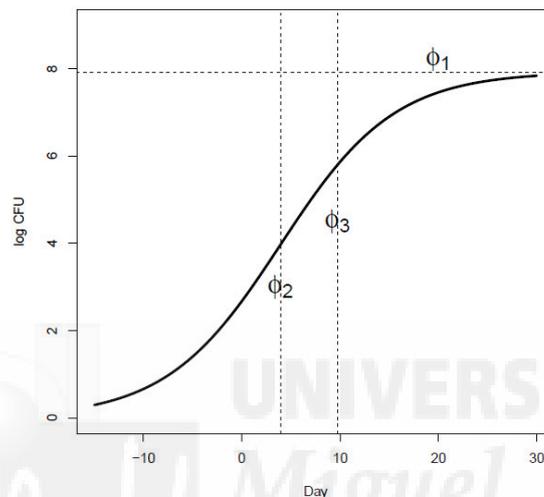
El gráfico 31 indica que en el tratamiento LF1 no hay crecimiento de la *L. monocytogenes* nativa, ya que este tratamiento corresponde a la fórmula control sin inoculación. Lo que confirma que no había *Listeria* presente en el jamón evaluado.

### 5.2.3.5.1 Modelo estadístico

El experimento se modeló mediante una regresión no lineal asintótica logística, por lo tanto se propone ajustarlo a un modelo logístico simple de 3 parámetros (Pinehiro, 2000) cuya curva característica se observa el gráfico 32 y la ecuación es la siguiente:

$$\log(\text{UFC}) = \frac{\phi_1}{1 + e^{\frac{\phi_2 - t}{\phi_3}}}$$

$$\text{UFC} = e^{\frac{\phi_1}{1 + \exp\left(\frac{\phi_2 - t}{\phi_3}\right)}}$$



**Gráfico 32.** Modeló mediante una regresión no lineal asintótica logística

$\emptyset_1$ =Asíntota horizontal , es el nivel de la variable respuesta donde se da la curva de crecimiento.

$\emptyset_2$  =Es el valor de la variable explicativa en el cual la respuesta vale  $\frac{1}{2} \emptyset_1$  y está ubicada en el punto de inflexión de la curva logística

$\emptyset_3$ = Representa la distancia en la variable explicativa, y es el punto en donde la respuesta es aproximadamente 0.73 de  $\emptyset_1$

### 5.2.3.5.2 Consideraciones del comportamiento de los parámetros en el modelo.

Si  $\emptyset_3$  es mayor que 0 (cero) entonces  $\emptyset_1$  es la asíntota horizontal en la medida que la variable explicativa tiende a infinito y 0(cero) es la asíntota horizontal en la medida que variable explicativa tienda a menos infinito. Si  $\emptyset_3$  es menor que 0(cero) estas condiciones se invierten.

En términos práctico los parámetros (si son interpretables) significan que  $\emptyset_1$  es el valor al cual se estabiliza el crecimiento del respectivo microorganismo,  $\emptyset_2$  es el tiempo en el cual se alcanza aproximadamente la mitad de este valor de estabilización y  $\emptyset_3$  indicaría cuanto tiempo mas de  $\emptyset_2$  es necesario para que la población alcance un 73% de  $\emptyset_1$  (ver gráfico 12).

Dadas las características de los datos, no se pudo encontrar un modelo general para los tratamientos en cuestión, porque el método numérico no converge, por lo tanto se procedió a ajustar los modelos individuales para cada combinación de tratamiento.

Por ejemplo para la combinación de alterante sin conservante AF2 los valores de los parámetros son (ver Tabla 7);

Ø1: 7.92

Ø2: 3.92

Ø3: 5.80

Los parámetros indican que la población se estabiliza (Ø1) aproximadamente en  $10^{7.92}$  que corresponde a 83.176.377 UFC

Ø2 indicaría que a los 3.92 días (aprox 4 días) el Log de UFC empieza a desacelerarse.

Ø3 significa que a los 5.80 días + 3.92 días = 9.72 días se alcanza el 73 % de  $10^{7.92}$  Log de UFC

Para los demás tratamientos los resultados de los parámetros se observan en la tabla 7.

**Tabla 7.** Parámetros  $\emptyset 1$ ,  $\emptyset 2$ ,  $\emptyset 3$ , de los diferentes tratamientos con alterantes y *L. monocytogenes nativa*

El tratamiento LF1 no presenta datos, ya que corresponde a la fórmula sin inoculación de listeria y esta no fue hallada de manera natural el producto

Tratamiento	$\emptyset 1$	$\emptyset 2$	$\emptyset 3$
AF1	6.56	2.25	3.25
AF2	7.92	3.92	5.80
AF3	7.92	-0,08	10.34
AF4	7.55	2.35	5.07
AF5	7.08	1.64	3.19
AF6	7.57	2.44	3.91
AF7	8.29	3.72	6.64
LF1			
LF2	6.40	0.43	13.06
LF3	3.35	13.19	-5,41
LF4	30.2	120.16	53.06
LF5	6.15	3.70	14.55
LF6	6.80	6.23	17.94
LF7	6.60	1.89	13.21

### 5.2.3.5.3 Consideraciones del análisis del modelo.

Un valor alto de la de la suma de  $\emptyset 2$  y  $\emptyset 3$ , significa que el ritmo de cambio de la aceleración es menor.

Para encontrar el mejor tratamiento si todos los parámetros son positivos sería aquel cuyo  $\emptyset 1$  fuera menor, y los valores de  $\emptyset 2$  y  $\emptyset 3$  los más altos posibles

En el caso de que  $\emptyset 2$  fuera negativo, aunque dicho parámetro no sea interpretable el criterio sigue siendo el mismo  $\emptyset 2$  y  $\emptyset 3$  lo más alto posible.

En el caso de que  $\emptyset 3$  fuera negativo, significaría que  $\emptyset 1$  es el nivel desde el cual se inicia el decrecimiento y este se estabiliza en 0(cero), por lo tanto se buscaría el menor valor de  $\emptyset 2$  más  $\emptyset 3$ .

Dado que  $\emptyset 1$  es la asíntota alrededor de la cual se estabiliza el log de UFC en el tiempo, es el parámetro más relevante a la hora de definir el mejor tratamiento. Si al definir el mejor tratamiento se encuentran empates entonces se define la diferencia por los valores de  $\emptyset 2$  en segundo lugar y  $\emptyset 3$  en tercer lugar.

#### 5.2.3.5.4 Análisis microbiota alterantes.

El tratamiento AF1 (formula sin inoculación) no es objeto de comparación para el análisis, pero se incluyo en el gráfico 33 para identificar el grado de alterantes que normalmente posee el producto.

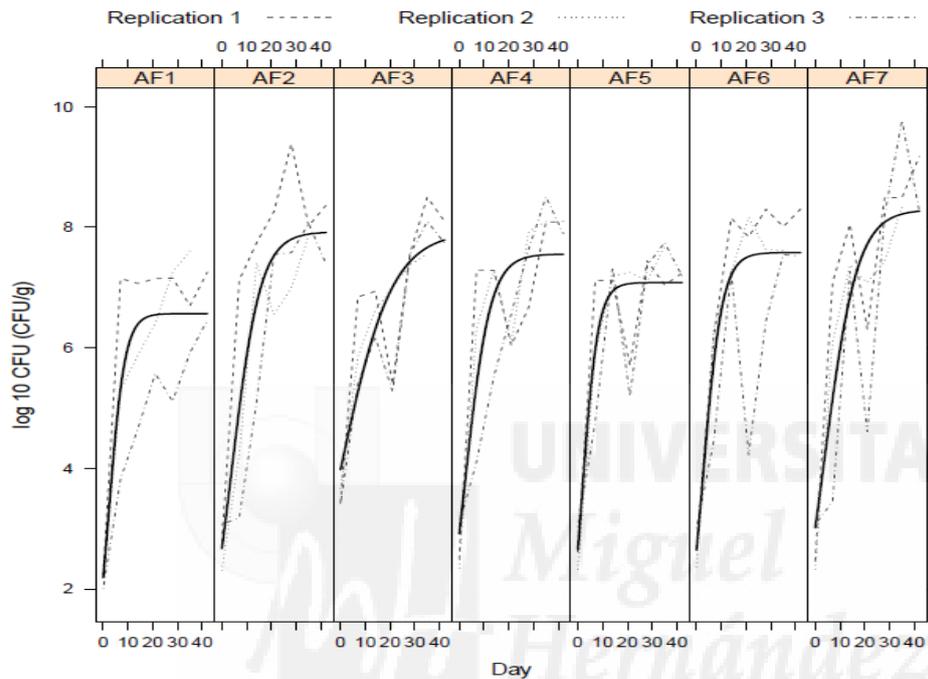


Gráfico 33. Log<sub>10</sub> de UFC de mezcla de la mezcla de alterantes para cada tratamiento inoculado y almacenado a 8°C.

La línea continua corresponde al modelo, las curvas punteadas corresponden a las réplicas.

Los resultados muestran que no hay diferencia significativa entre los conservantes a un 95% de confianza, sin embargo el conservante AF7, se muestra significativamente diferente a un nivel del 90% de confianza para el parámetro Ø1. Para el parámetro Ø 2 se tiene que en forma absoluta los mayores valores son AF2 y AF7 sin embargo al utilizar el intervalo de confianza a un 95% no hay diferencia significativa entre ningún tratamiento.

Para el parámetro Ø 3 se tiene que en forma absoluta el mayor valor es AF4 sin embargo al utilizar el intervalo de confianza a un 95% no hay diferencia significativa entre ningún tratamiento.

Los recuentos totales UFC de mesófilos reportados en las pruebas de alterantes Invivo para el tratamiento AF4 (Formula inoculada con los alterantes *Lactococcus lactis* y *Leuconostoc pseudomesenteroides* y el bioprotector *Carnobacterium maltaromaticum*) fueron similares a los recuentos del tratamiento AF3 (formula sin conservante e inoculada con los alterantes). No fue posible hacer una diferenciación en el recuento total de mesofilos de las UFC de *Carnobacterium maltaromaticum* y los alterantes, a pesar que se hizo un recuento de *Carnobacterium* en agar selectivo CTSI (dato no reportado). Los recuentos totales podrían indicar que el *Carnobacterium* genero un efecto antagónico que no permitió que el recuento de UFC fuera mayor a los otros tratamientos.

#### **5.2.3.5.5 Análisis de *L. monocytogenes nativa*.**

Para el grupo de tratamientos con *Listeria*, el mejor tratamiento es el AF3 (ver gráfico 34) que mostró un comportamiento totalmente distinto a los observados con los demás conservantes, porque al contrario de la mayoría su comportamiento fue decreciente, por lo tanto el signo de  $\emptyset 3$  es negativo y se muestra que a los 13 días aproximadamente se ha disminuido a la mitad del Log de UFC y además a los 17,5 días se disminuye un 73% de la población inicial, siendo estadísticamente significativa su diferencia con respecto a los modelos de los demás conservantes a un 95 % de confianza. Para los demás conservantes los parámetros  $\emptyset 1$ ,  $\emptyset 2$   $\emptyset 3$  no son significativamente diferentes pero se observa que considerando los valores de  $\emptyset 1$  el conservante con menor valor es AF5, y considerando el parámetro  $\emptyset 2$  el valor más alto corresponde al conservante AF6 seguido del AF5, y finalmente considerando el parámetro  $\emptyset 3$  el valor más alto es para el conservante AF6 seguido del AF5 .

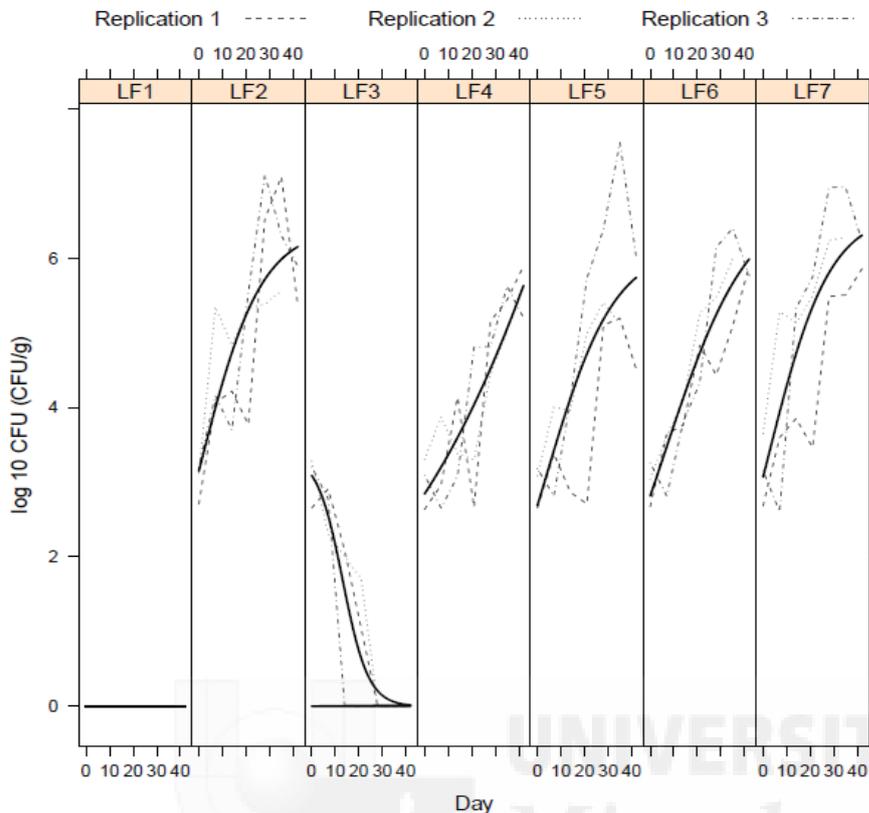


Gráfico 34. Log<sub>10</sub> de UFC de *L. monocytogenes* nativa para cada tratamiento inoculado y almacenado a 8°C.

La línea continua corresponde al modelo, las curvas punteadas corresponden a las replicas.

Los resultados obtenidos por Ita y Hutkins 1991 y Golden 1995 sobre los efectos anti listeria de los acetatos y lactatos, además de los obtenidos por (Devlieghere y col, 2001), no concuerdan con los obtenidos en esta investigación, ya que en ninguna de las 2 pruebas Invitro e Invivo, se notó un efecto bacteriostático o reductor de los Lactatos y la mezcla de sales orgánicas sobre la *L. monocytogenes* nativa y *Listeria* ATCC.

Algunos estudios realizados, mostraron que el Lactato de sodio al 2 % en productos cárnicos y 3% en un pate de hígado de cerdo (Weaver y Shelef, 1993) impedía el crecimiento de *Listeria monocytogenes*, diferente a lo encontrado en este estudio ya que solo en las pruebas de CMI el Lactato de Potasio mezclado con diacetato logró obtener una inhibición sobre las listerias en la dosis mas alta que fue 3,2 %.

(Schlyter y col, 1993) logró inhibición al mezclar Lactato de sodio al 2,5% con el 0,1% (w / v) diacetato.

La bacteriocina Nisina (tratamiento LF7 ver gráfico) no tuvo ningún efecto inhibitor sobre el crecimiento de *L monocytogenes nativa*, lo cual no esta acorde al resultado mostrado. (Here y col, 2011), donde se demostraba su efectividad sobre este microorganismo.

Los metabolitos del *Carnobacterium maltaromaticum* (tratamiento LF3 ver gráfico 34) fueron efectivos para inhibir y disminuir la *L. monocytogenes nativa* en las pruebas Invivo, ya que sus metabolitos hicieron un medio adverso como lo plantea (Groth Laursen y col, 2005).

#### **5.2.4 Conclusiones**

La elaboración de productos cárnicos conlleva a una diversidad de variables a controlar para que se cumpla con las expectativas de vida útil, ya que en un jamon, variables como la humedad (70% aprox), pH ( 5.8 a 6.4) y aW (por encima del 0,96) adicionalmente los macro y micronutriente de la carne, hacen las condiciones ideales para que algunos microorganismo lo deterioren. Muchas de estas variables están asociada a lo que se conoce comúnmente como tecnología de obstáculos, que aplicada correctamente ayudará a la seguridad del producto y su disponibilidad para ser consumido, durante todo el tiempo de vida útil esperado. En las evaluaciones microbiológicas Invitro, los microorganismos no están expuestos a todas estas variables ni a la matriz cárnica, que al momento de definir un conservante pueden ser cruciales, es por estos que esta investigación fue avanzando en el tiempo desde pruebas Invitro como CMI, pasando por una prueba más compleja como eficiencia microbiana USP y terminando con las pruebas invivo que son quizás las mas fehacientes para este tipo de estudio, ya que representa todas aquellas condiciones a la que está sometido el microorganismo interactuando con el producto, su empaque y almacenamiento final. Condiciones que pueden favorecer o desfavorecer el resultado, dependiendo del tipo de microorganismo que se esté analizando.

Los resultados CMI y eficacia antimicrobiana muestran que en ambas pruebas el mejor conservante es el 6 (Mezcla de Diacetato sódico, mono y digliceridos de ácidos grasos , ácido láctico), para *Listeria* y Alterantes, sin embargo en las pruebas In vivo (conservante AF5 y LF5) no tiene el mismo comportamiento con respecto a la *L. monocytogenes* nativa y la mezcla de alterantes, posiblemente a las condiciones de la matriz cárnica, la microbiota competente y otras variables adversas que intervienen en el desempeño de este conservante y permiten favorecer el crecimiento de los microorganismos.

La evaluación de la eficacia antimicrobiana según norma USP comparada con el análisis estadístico mediante regresión con un modelo doble exponencial con respuesta de doble logaritmo de la UFC, arroja resultados diferentes, siendo este último procedimiento más preciso en el análisis y permite obtener comparaciones entre tratamientos que aparentemente por eficacia antimicrobiana USP eran similares en sus resultados.

El crecimiento de la microbiota alterante en las pruebas In vivo, no se ve afectada por ninguno de los conservantes, inclusive no hay diferencia significativa entre los tratamientos, lo que indica que es importante continuar con evaluaciones sin adición de conservantes, y enfocar los esfuerzos en buenas prácticas de manufactura.

Los resultados de los recuentos en el tratamiento 3 (inoculación con *Carnobacterium* y Alterantes) supondría un número UFC por encima de los demás tratamientos, ya que el *Carnobacterium* es evaluado como mesófilo, sin embargo el  $\log_{10}$  de las UFC no tuvieron diferencia significativa con los demás tratamientos. Es necesario diseñar técnicas de recuento de UFC de mesófilos, donde se identifique que cantidad de estas UFC pertenecen a *Carnobacterium maltaromaticum*, esto ayudaría en futuros estudios, evaluar posibles antagonismos de esta bacteria con la microbiota alterantes del producto.



### **5.3. Funcionalidad del sodio en las características organolépticas**

#### **5.3.1 Resumen**

Se realizó un estudio para determinar la influencia de la disminución y sustitución del ión sodio sobre las características sensoriales de un jamón cocido. Inicialmente se entrenó en el atributo de sabor en materias primas al equipo perteneciente al panel sensorial de expertos del Laboratorio Sensorial de la Universidad de Antioquia- Colombia, para este entrenamiento se usaron diferentes ingredientes y aditivos diluidos en agua según protocolo de entrenamiento. Seguidamente se realizó un análisis descriptivo del Jamón cocido control, del cual se seleccionaron los atributos Olor, Sabor y textura y se identificaron 30 descriptores. Las fórmulas de estudio fueron 30%, 40%, 50% y 60% de reducción de sodio por medio de sustitución de lactato y polifosfato de sodio. Se adicionó a cada reducción de manera independiente potencializadores de sabor de origen fermentativo (SF), y de reacción (SR) donde los resultados se analizaron comparando estadísticamente todos los tratamientos con una fórmula control (Sin reducción). Se concluyó que al usar potencializadores no hay diferencia significativa con la fórmula control a una reducción de sodio del 60%.

#### **5.3.2 Generalidades**

Actualmente existe una tendencia mundial por el consumo de alimentos saludables, por lo que se ha recurrido a disminuir y /o sustituir la sal (Hermansen 2000). Principalmente en embutidos cárnicos que se han caracterizado por su atributo de sabor, ya que es quizás la característica más importante al momento de diferenciarse de otros alimentos. Para analizar dicha característica fue necesario desarrollar métodos instrumentales / químicos capaces de reemplazar las metodologías sensoriales descriptivas pues las mediciones sensoriales eran consideradas subjetivas y dependen del evaluador, en lugar de un hecho independiente observable, mientras que las mediciones instrumentales o químicas

eran consideradas objetivas y representativas de los hechos o verdades independientes. Sin embargo, el sabor y otras características sensoriales no siempre pueden ser medidos por instrumentos y en algunos casos, las medidas instrumentales sólo dan una indicación parcial del sabor percibido (Piggot 1995, Spanier y Vercellotti, 1992, Virgili y Parolari 1991).

El uso de aditivos en la industria cárnica, ha llevado a incluir diferentes sales de sodio como: ascorbatos, monoglutamatos, nitritos y nitratos, polifosfatos, lactatos y cloruros. Esta variedad de sales ha elevado de manera vertiginosa la cantidad de sodio en la industria cárnica a niveles por encima del 1300 mg/ 100 g de producto. Lo que llevó a aplicar 3 estrategias para la reducción; La primera consiste en reemplazar Cloruro de sodio por Cloruro de potasio (KCl) usando adicionalmente agentes enmascarantes de sabor amargo, en segundo lugar, el uso de potencializadores de sabor que no tienen un sabor salado, sino que aumentan la salinidad de los productos cuando se utiliza en combinación con la sal. Esto permite menos sal que se añade a los productos, en tercer lugar, la optimización de la forma física de la sal para que sea más biodisponible por lo tanto, se usa menos sal (Angus 2005).

Muchos estudios inducen a que el sales como cloruro de potasio y lactato de potasio (K-lactato) podrían ser utilizados como sustitutos parciales de NaCl en la los productos. El KCl tiene propiedades funcionales similares a NaCl, pero su uso está limitado en productos cárnicos principalmente por su sabor amargo (Askar 1994) que es detectado por las papilasde gustativas. Para que este mecanismos se de, es ncesario estimular las células sensitivas de los botones gustativos, y debe ser un líquido o bien una sustancia soluble en saliva con el fin de que pueda penetrar por el poro gustativo. Al ser estimuladas, las diferentes células gustativas generan un impulso nervioso que llega, por separado, al bulbo raquídeo, y de aquí al área gustativa de la corteza cerebral. (Hernandez 0/0/2012). Una de las formas de “modificar la percepción de sabor “es por medio de potencializadores y agentes enmascarantes, que hacen la función de “engañar” los receptores de la lengua, permitiendo disminuir el contenido de sal en una formulación sin que se vea afectado la percepción sensorial del sabor salado. Estos potencializadores incluyen

extractos de levadura, lactato, glutamato monosódico y nucleótidos, entre otros. Potenciadores del sabor que actúan mediante la activación de receptores en la boca y la garganta, lo cual ayuda a compensar la reducción de la sal. (Brandsma 2006) encontraron que era posible reducir el NaCl en un 75% en hamburguesas de salchicha de cerdo usando una versión modificada de la sal KCl, co-cristalizado con Ribotide (una mezcla disponibles en el mercado de los 5'-ribonucleótidos IMP y GMP).

(Ruusunen 2005) planteó que el uso de mezclas de sales minerales es una buena manera de reducir el contenido de sodio en productos cárnicos. La misma salinidad se puede lograr con mezclas de sales con menos contenidos de sodio. Algunas de estas mezclas se han patentado donde se logra disminuir casi la mitad del sodio y se reemplaza con cloruro de potasio, sulfato de magnesio y el aminoácido esencial L-lisina clorhidrato donde los aminoácidos aumenta la salinidad del sustituto de la sal y enmascara el sabor de potasio y magnesio, además de aumentar la excreción de sodio en el cuerpo humano.

El objetivo de este trabajo es evaluar el efecto sensorial de la disminución y sustitución del ion sodio en el sabor de un jamón cocido tipo fiambre mediante análisis descriptivo, por medio de la sustitución del NaCl, Na-Lactato y los polifosfatos de sodio con KCl, K-lactato, Polifosfatos de potasio respectivamente y el uso de dos potencializadores de sabor de manera independiente, uno de origen de reacción y otro de origen de fermentativo,

### **5.3.3 Resultados**

#### **5.3.3.1 Atributos de producto terminado**

Algunos términos son conceptos complejos como aroma general, la textura general, el sabor en general, que combinan todos los atributos de sabor o la textura en una sola categoría. Estos términos complejos pueden ocultar la naturaleza de las diferencias entre las muestras (Carlucci y Napolitano, 1999). A continuación La tabla 8 de atributos, es el consolidado de los resultados del entrenamiento en materias

primas e identificación de atributos en la formula control, obteniendo los siguientes descriptores:

**Tabla 8.** Atributos Olor, Sabor y textura con sus respectivos descriptores.

Olor	Sabor	Textura
Ahumado	Cárnico	Húmedo
Cárnico	Salado	Blando
Salado	Dulce	Masticable
Dulce	Condimento jamón	Cohesivo
Condimento Jamón	Ahumado	Adhesivo
Graso	Graso	Fibroso
Acido	Acido	Friable
Especiado	Amargo	Jugosidad
	Jabón	Elástico
	Metálico	Grasa
	Especiado	
	Picante	
	Astringente	

Algunos de los descriptores como sabor metalico, salado, dulce, acido, textura fibrosa, jugosidad coinciden con los datos bibliográficos examinados que se destacan como más importantes en el jamón cocido (Félix y col., 2001).

### 5.3.3.2 Diagramas multidimensional de análisis cuantitativo

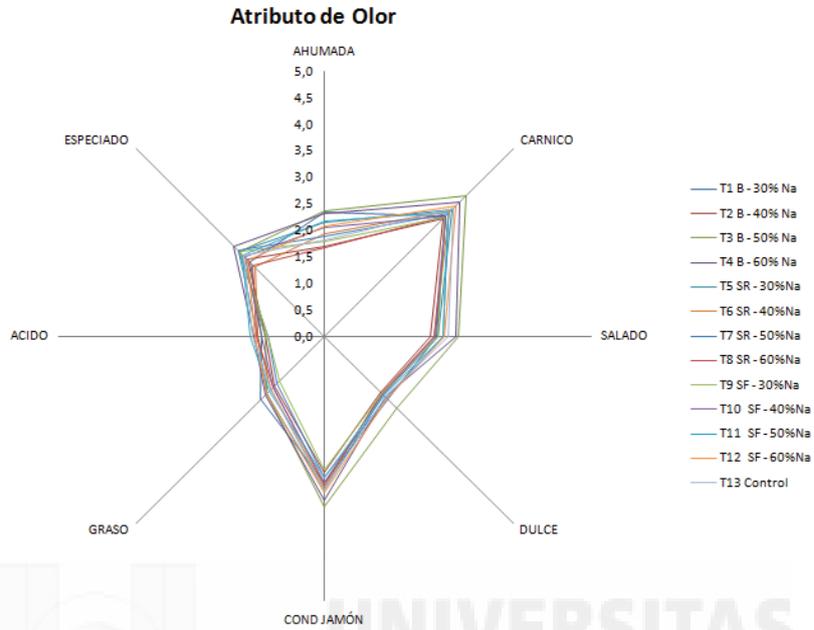


Gráfico 35. Diagrama del análisis descriptivo cuantitativo del atributo Olor y sus descriptores por aproximación multidimensional

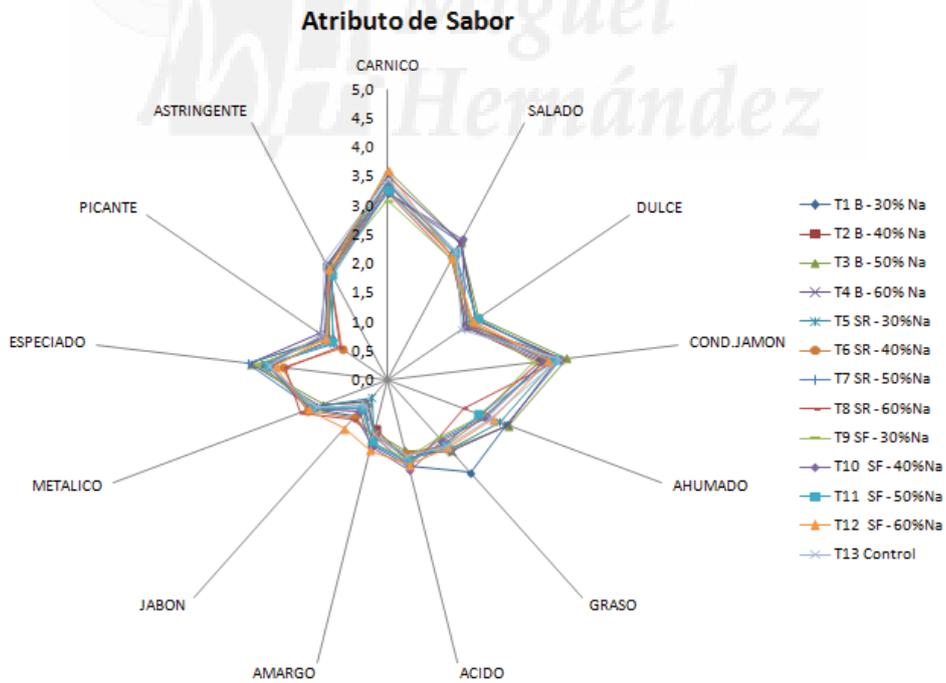
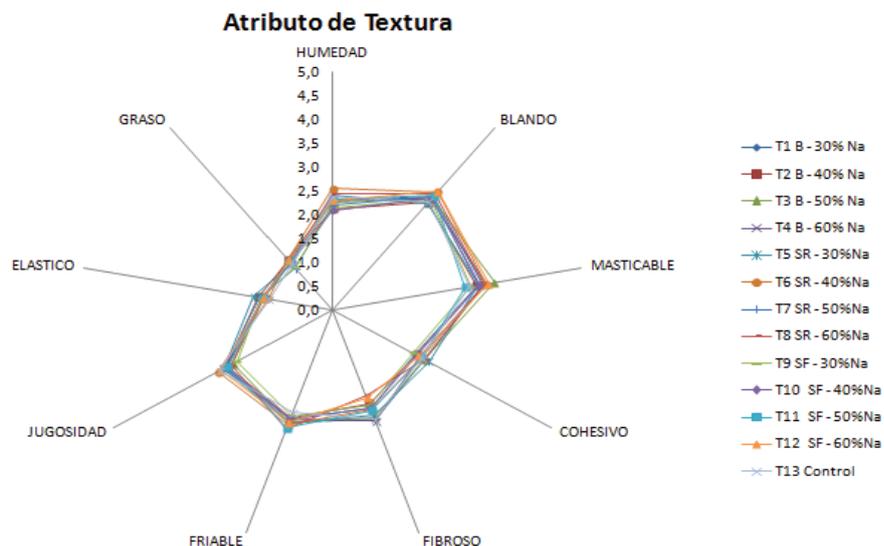


Gráfico B.

Gráfico 36. Diagrama del análisis descriptivo cuantitativo de atributo Sabor y sus descriptores



**Gráfico 37. Diagrama del análisis descriptivo cuantitativo del atributo Textura**

Los diagrama de análisis cuantitativo, permiten observar de manera general el perfil de sensorial de un producto como lo muestra los gráfico 35,36,37 , no se ve una diferencia importante entre el tratamiento control y las reducciones, los perfiles sensoriales para Olor, Sabor y Textura son muy similares lo que puede indicar que las materias primas de susutitución de sodio no interfieren en los cambios sensoriales, pero es necesario el análisis estadístico para identificar entre los tratamientos diferencias más detalladas y con mayor rigor científico.

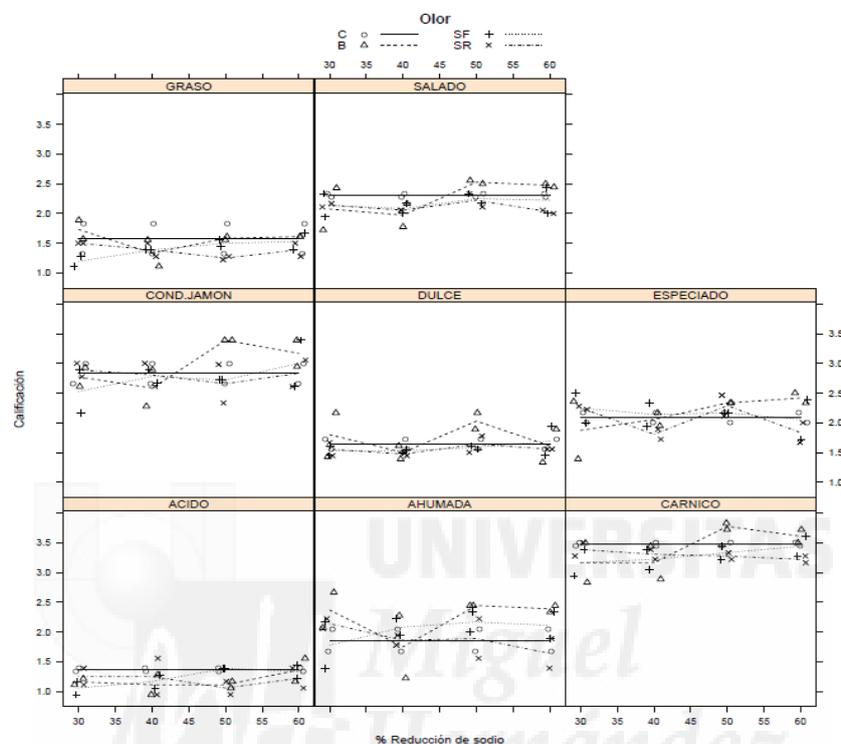
### 5.3.3.3 Análisis exploratorio

Los gráficos 38,39,40 muestran el comportamiento de los atributos sensoriales con respecto al porcentaje de reducción de sodio. Las líneas unen los promedios de las calificaciones de las replicas de cada una de las combinaciones.

En el caso de nivel de control, la reducción de sodio es 0, pero se muestra en el gráfico para fines comparativos con los otros niveles de reducción.

El análisis exploratorio desde lo observado en los datos graficados muestran en el gráfico 38, que los olores Cond Jamon y Ahumado en el tratamiento blanco son los mas alejados del control aproximadamente en 1 punto, en donde a mayor reducción mayor intensidad de estos olores. De manera general se nota una tendencia a no

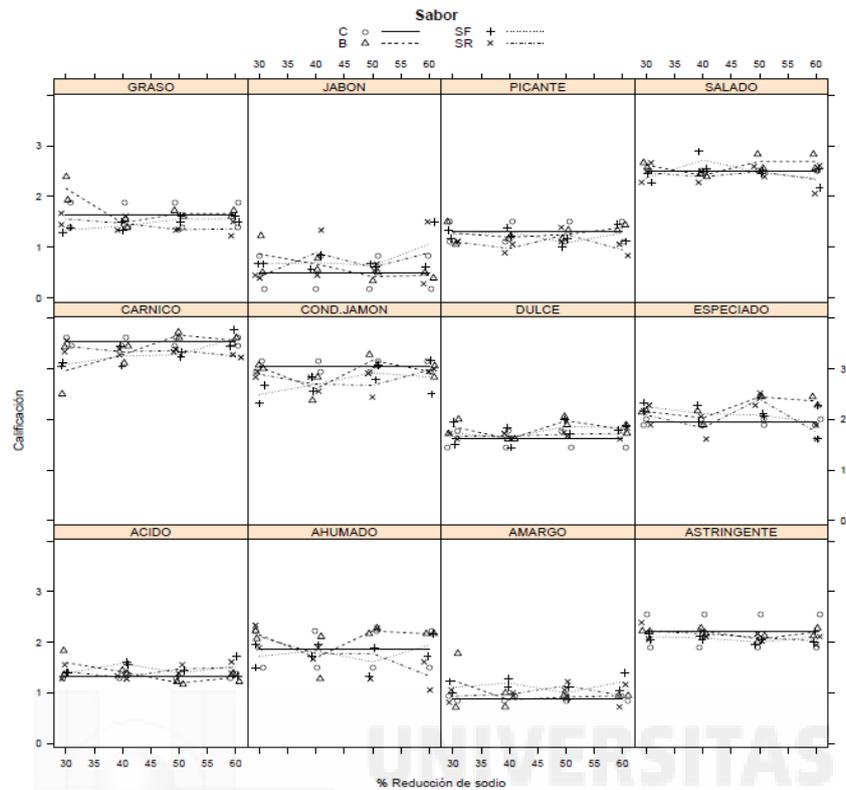
aumentar el olor cuando aumenta la reducción del sodio excepto en los tratamientos B (blanco). El descriptor de mayor valoración fue el cárnico con un una calificación entre 3 y 3.5 y el de menor valoración fue acido con una calificación entre 1.0 y 1.5.



**Gráfico 38.** Exploratorio de atributo Olor con sus descriptores donde C (fórmula control), B (blanco), SF (Potencializador de fermentación), SR (Potencializador de reacción)

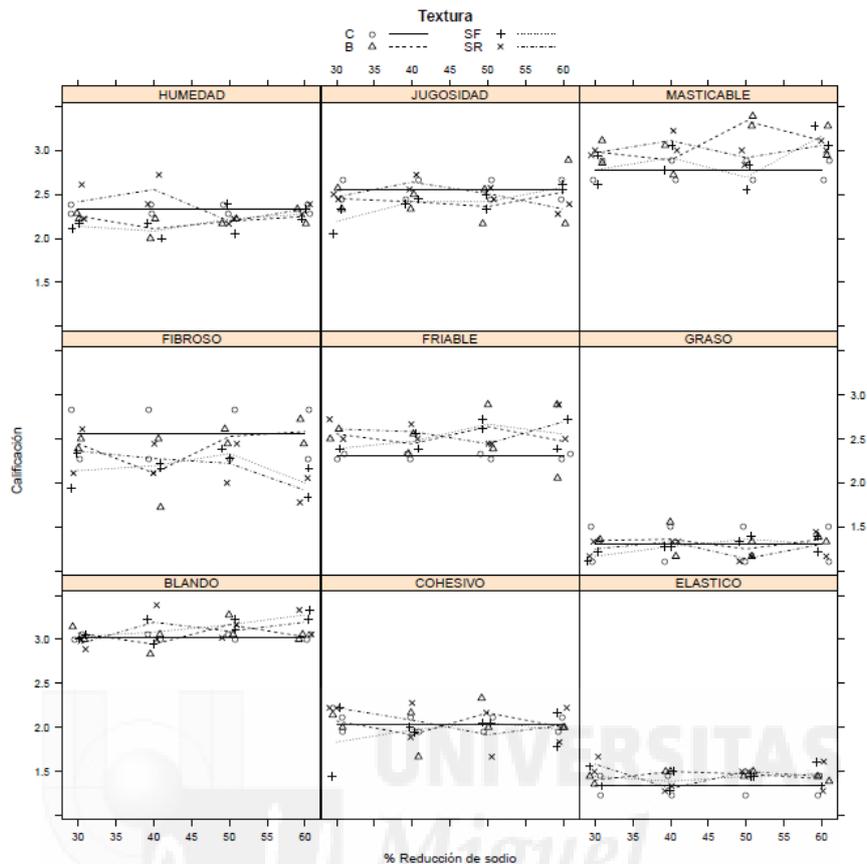
En términos generales El gráfico 39 muestra que el atributo de Sabor, es el que presenta valores más cercanos al control, comparados con los gráfico de los atributos Olor y textura. El descriptor con mas alta calificación fue cárnico posiblemente influenciado por el Cond. Jamón y ahumado que al nivel en el que están presentes en la formula y junto con la interacción en la matriz cárnica hacen que no sea relevante cuando disminuye el sodio. Se esperaba que los tratamientos con potencializadores obtuvieran una mayor calificación que el control y el blanco, pero tuvieron un comportamiento similar en perfil de sabor.

El sabor ácido no muestra líneas alejadas del control, lo que evidencia que el uso de potencializadores de origen fermentativo no afecta este descriptor.



**Gráfico 39.** Exploratorio del atributo Sabor con sus descriptores donde C (fórmula control), B (blanco), SF (Potencializador de fermentación), SR (Potencializador de reacción)

El análisis exploratorio desde lo observado en los datos graficados muestran en el gráfico 40 que las texturas Fibroso y Masticable son las mas alejadas del control aproximadamente en 1 punto, en donde a mayor reducción mayor calificación en la Textura masticable y menos textura fibrosa.



**Gráfico 40.** Exploratorio de atributo Textura para panel con sus descriptores donde C (fórmula control), B (blanco), SF (Potencializador de fermentación), SR (Potencializador de reacción)

#### 5.3.3.4 Modelo estadístico

Los resultados de la evaluación sensorial se procesaron mediante modelos de regresión lineal simple con respecto a la variable reducción de sodio y tomando como factores los potencializadores de sabor SR (Sabor de reacción), SF (Sabor de fermentación), B (Blanco), todos comparados con C (Control). Se estimó un modelo para cada descriptor.

La evaluación de cada juez se tomo como una repetición en la respectiva muestra. Se tuvo en cuenta que se hicieron 2 muestras y se tomaron como replicas, por lo tanto el ajuste final se hizo mediante un modelo lineal simple de efectos mixtos como se muestra en los gráficos 41,42,43.

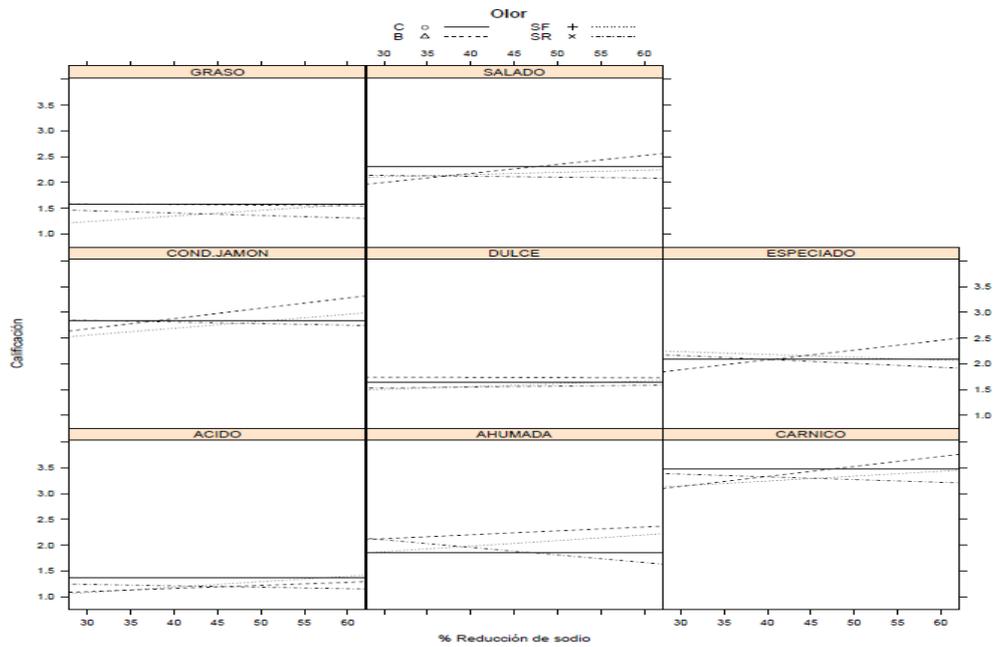


Gráfico 41. Modelo lineal de efectos mixtos atributo Olor para panel. con sus descriptores. C (fórmula control), B( blanco), SF (Potencializador de fermentación), SR (Potencializador de reacción)

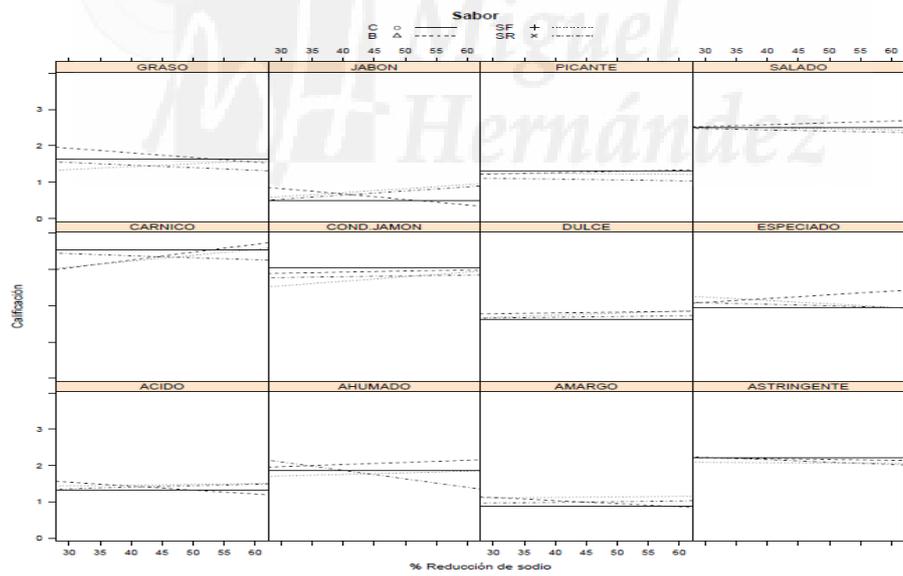
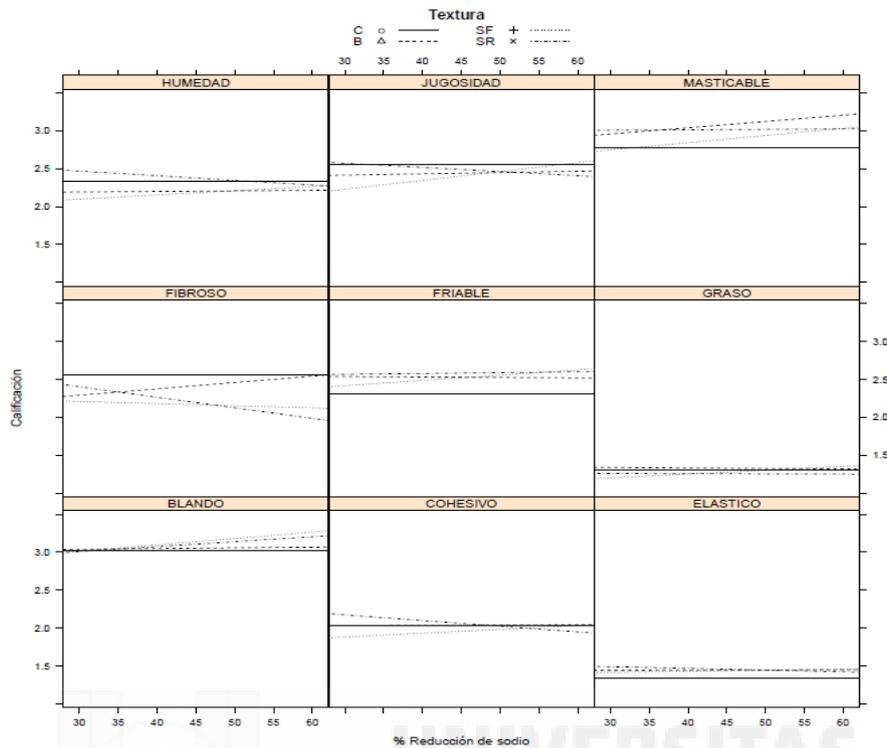


Gráfico 42. Modelo lineal de efectos mixtos atributo Sabor para panel con sus descriptores. C (fórmula control), B( blanco), SF (Potencializador de fermentación), SR (Potencializador de reacción)



**Gráfico 43.** Modelo lineal de efectos mixtos atributo Textura para panel con sus descriptores. C (fórmula control), B (blanco), SF (Potencializador de fermentación), SR (Potencializador de reacción)

A continuación se muestra el valor P de la tabla 9, únicamente para la variable reducción de sodio con su respectivos atributos y descriptores sensoriales.

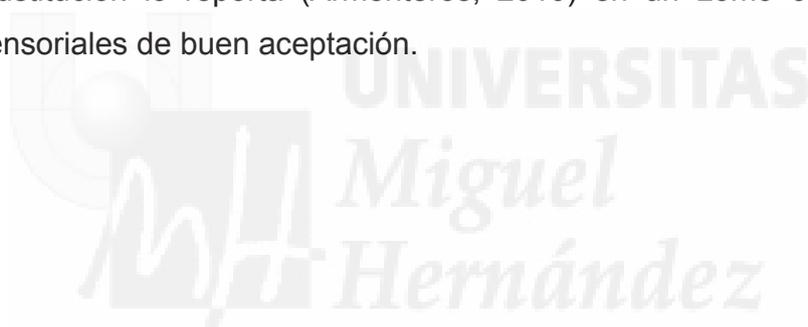
La tabla 9, muestra que según los Valores P, el atributo sabor y descriptor Cárnico (0.01436226), da un nivel de significancia del 95% comparado con el control, los demás atributos con sus descriptores no presentaron diferencia significativa.

**Tabla 9.** Valor P de de los atributos y sus respectivos descriptor

	Atributo - Descriptor	Valor p
1	Olor-ACIDO	0.20011753
2	Olor-AHUMADA	0.86220464
3	Olor-CARNICO	0.06702034
4	Olor-COND.JAMON	0.11312938
5	Olor-DULCE	0.61535419
6	Olor-ESPECIADO	0.71352584
7	Olor-GRASO	0.68111852
8	Olor-SALADO	0.09434668
9	Sabor-ACIDO	0.60777229
10	Sabor-AHUMADO	0.56948323
11	Sabor-AMARGO	0.70954799
12	Sabor-ASTRINGENTE	0.48647332
13	Sabor-CARNICO	0.01436226
14	Sabor-COND.JAMON	0.23514685
15	Sabor-DULCE	0.38503482
16	Sabor-ESPECIADO	0.81129908
17	Sabor-GRASO	0.39563865
18	Sabor-JABON	0.74807124
19	Sabor-METALICO	0.90612026
20	Sabor-PICANTE	0.98807244
21	Sabor-SALADO	0.95770264
22	Textura-BLANDO	0.04897349
23	Textura-COHESIVO	0.87183883
24	Textura-ELASTICO	0.93533644
25	Textura-FIBROSO	0.63224550
26	Textura-FRIABLE	0.53334734
27	Textura-GRASO	0.67200984
28	Textura-HUMEDAD	0.98507187
29	Textura-JUGOSIDAD	0.46170942
30	Textura-MASTICABLE	0.13083984

La matriz cárnica sufre transformaciones químicas y enzimáticas donde se forman compuestos sápidos y aromáticos (Buscailhon y Berdaguo, 1994), que la caracterizan, esto se ve reflejado en los atributo y propiedades sensoriales definidas que para este estudio incluyeron el Olor, además del sabor y la textura que son loa atributos principales en los productos cárnicos (Mann y col. 1989), los datos mostrados en los gráficos exploratorios para estos atributos, revelan una dispersibilidad de los datos de aproximadamente 10 decimas que en términos sensoriales es baja.

En la tabla 10, indica que la reducción de sodio es significativa sobre el atributo de Sabor y el descriptor Cárnico a un nivel de significancia de 95%, en donde a mayor reducción de sodio, mayor percepción de sabor cárnico en los tratamientos B (Blanco) y SF (Potencializador de fermentación), efecto contrario aunque no hay diferencia significativa se observa en el SR (Potencializador de reacción). Posiblemente hay un efecto del Cloruro de potasio co-cristalizado que junto con otros componentes de la formula, especialmente la carne, influye para resaltar estos sabores, en la medida que disminuye la concentración del ión sodio. Estos resultados pueden estar de acuerdo con otros resultados que demuestran que productos como las salchichas fermentadas en las cuales se hizo la sustitución del 50% de sal por KCl tuvieron una alta aceptación. (Guárdia y col., 2006). El mismo grado de sustitución lo reporta (Armenteros, 2010) en un Lomo curado y con resultado sensoriales de buen aceptación.



**Tabla 10.** Anova de la regresión del atributo Sabor descriptor Cárnico, con respecto a la reducción de Sodio

Sabor-CARNICO						
Analysis of Variance Table						
Response: values						
	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
reduccion.Na	1	0.25893	0.258929	6.9665	0.01436	*
grupo	3	0.22777	0.075924	2.0427	0.13466	
reduccion.Na:grupo	3	0.49923	0.166410	4.4773	0.01241	*
Residuals	24	0.89203	0.037168			
---						
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1						
Call:						
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo, data = templ)						
Residuals:						
Min	1Q	Median	3Q	Max		
-0.54167	-0.08681	0.00278	0.08333	0.38690		
Coefficients:						
	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )		
(Intercept)	3.528e+00	2.827e-01	12.480	5.53e-12	***	
reduccion.Na	-4.481e-17	6.097e-03	0.000	1.00000		
grupoB	-1.135e+00	3.998e-01	-2.839	0.00907	**	
grupoSF	-9.472e-01	3.998e-01	-2.369	0.02620	*	
grupoSR	6.944e-02	3.998e-01	0.174	0.86355		
reduccion.Na:grupoB	2.163e-02	8.622e-03	2.508	0.01929	*	
reduccion.Na:grupoSF	1.611e-02	8.622e-03	1.869	0.07393	.	
reduccion.Na:grupoSR	-5.556e-03	8.622e-03	-0.644	0.52545		
---						
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1						
Residual standard error: 0.1928 on 24 degrees of freedom						
Multiple R-squared: 0.525, Adjusted R-squared: 0.3865						
F-statistic: 3.789 on 7 and 24 DF, p-value: 0.006602						

En la tabla 5, indica que la reducción de sodio es significativa sobre el el atributo Textura y el descriptor blando a un nivel de significancia de 95% , en donde a mayor

reducción de sodio, mayor percepción en la textura blanda para los tratamiento SR (Potencializador de reacción) y SF (Potencializador de fermentación).

**Tabla 11.** Anova de la regresión del atributo Textura descriptor blando, con respecto a la reducción de Sodio

Textura-BLANDO						
Analysis of Variance Table						
Response: values						
	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
reduccion.Na	1	0.06184	0.061839	4.3015	0.04897	*
grupo	3	0.06112	0.020373	1.4172	0.26219	
reduccion.Na:grupo	3	0.05045	0.016816	1.1697	0.34191	
Residuals	24	0.34502	0.014376			
---						
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1						
Call:						
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo, data = templ)						
Residuals:						
	Min	1Q	Median	3Q	Max	
	-0.214683	-0.047817	-0.009987	0.031250	0.314815	
Coefficients:						
		Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )	
(Intercept)		3.028e+00	1.758e-01	17.222	5.17e-15	***
reduccion.Na		-1.160e-17	3.792e-03	0.000	1.000	
grupoB		-1.627e-02	2.486e-01	-0.065	0.948	
grupoSF		-2.639e-01	2.486e-01	-1.061	0.299	
grupoSR		-2.130e-01	2.486e-01	-0.857	0.400	
reduccion.Na:grupoB		9.127e-04	5.362e-03	0.170	0.866	
reduccion.Na:grupoSF		8.333e-03	5.362e-03	1.554	0.133	
reduccion.Na:grupoSR		6.481e-03	5.362e-03	1.209	0.239	
---						
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1						
Residual standard error: 0.1199 on 24 degrees of freedom						
Multiple R-squared: 0.3345, Adjusted R-squared: 0.1404						
F-statistic: 1.723 on 7 and 24 DF, p-value: 0.151						

Uno de los descriptores en formulas que contengan Polifosfatos es el sabor jabonoso, este se presenta cuando hay niveles muy altos de esta materia prima en

el producto (Mileur y Chisthine 1999), este descriptor fue identificado por los jueces en la formula control, sin embargo los resultados muestran que no hay diferencia significativa de los tratamientos con el control.

El atributo más importante dentro del perfil sensorial para este estudio es el Sabor, además los descriptores de mayor relevancia son salado y amargo. Según muestran las tablas 6 y 7, la reducción de sodio no es significativa sobre este atributo y estos descriptores, a un nivel de significancia de 95%. Estudios como los mencionados por (Price 1997) o (Ruusunen 2005), plantean que es posible disminuir el Sodio con mezclas minerales sin que se vean afectada las características sensoriales de los productos. Cloruro potásico ha sido el mas utilizado para reemplazar el Cloruro de sodio, pero autores como (Brandsma 2006), informaron que puede dejar un ligero sabor amargo, situación no identificada en este estudio, ya que a disminuciones del 60% no se presento diferencia significativa con la formula control, en el atributo de sabor y el descriptor amargo.

UNIVERSITAS  
Miguel  
Hernández

Tabla 12 . Anova de la regresión del atributo Sabor descriptor salado, con respecto a la reducción de Sodio

Sabor-SALADO						
Analysis of Variance Table						
Response: values						
	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
reduccion.Na	1	0.00009	0.000093	0.0029	0.9577	
grupo	3	0.14308	0.047694	1.4801	0.2451	
reduccion.Na:grupo	3	0.04147	0.013822	0.4289	0.7341	
Residuals	24	0.77339	0.032225			
Call:						
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,						
data = templ)						
Residuals:						
Min	1Q	Median	3Q	Max		
-0.31852	-0.08839	0.00000	0.07639	0.39722		
Coefficients:						
	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )		
(Intercept)	2.500e+00	2.632e-01	9.498	1.33e-09	***	
reduccion.Na	-3.518e-17	5.677e-03	0.000	1.000		
grupoB	-1.206e-01	3.722e-01	-0.324	0.749		
grupoSF	9.167e-02	3.722e-01	0.246	0.808		
grupoSR	6.296e-02	3.722e-01	0.169	0.867		
reduccion.Na:grupoB	5.040e-03	8.028e-03	0.628	0.536		
reduccion.Na:grupoSF	-2.500e-03	8.028e-03	-0.311	0.758		
reduccion.Na:grupoSR	-3.148e-03	8.028e-03	-0.392	0.698		
---						
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1						
Residual standard error: 0.1795 on 24 degrees of freedom						
Multiple R-squared: 0.1927, Adjusted R-squared: -0.04272						
F-statistic: 0.8185 on 7 and 24 DF, p-value: 0.5813						

**Tabla 13.** Anova de la regresión del atributo Sabor descriptor amargo, con respecto a la reducción de Sodio

Sabor-AMARGO						
Analysis of Variance Table						
Response: values						
	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)	
reduccion.Na	1	0.00656	0.006564	0.1421	0.7095	
grupo	3	0.23839	0.079462	1.7198	0.1896	
reduccion.Na:grupo	3	0.07140	0.023799	0.5151	0.6758	
Residuals	24	1.10887	0.046203			
Call:						
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo, data = templ)						
Residuals:						
Min	1Q	Median	3Q	Max		
-0.40516	-0.05685	-0.00952	0.07976	0.65833		
Coefficients:						
	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )		
(Intercept)	8.889e-01	3.152e-01	2.820	0.00947	**	
reduccion.Na	2.791e-17	6.797e-03	0.000	1.00000		
grupoB	4.853e-01	4.457e-01	1.089	0.28705		
grupoSF	1.806e-01	4.457e-01	0.405	0.68901		
grupoSR	1.944e-02	4.457e-01	0.044	0.96556		
reduccion.Na:grupoB	-8.492e-03	9.613e-03	-0.883	0.38578		
reduccion.Na:grupoSF	1.389e-03	9.613e-03	0.144	0.88633		
reduccion.Na:grupoSR	1.979e-03	9.613e-03	0.206	0.83861		
---						
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1						
Residual standard error: 0.2149 on 24 degrees of freedom						
Multiple R-squared: 0.222, Adjusted R-squared: -0.004963						
F-statistic: 0.9781 on 7 and 24 DF, p-value: 0.4695						

### 5.3.4 Conclusiones

La estrategia de reducir sodio inicialmente a partir de los lactatos y Polifosfatos que en su orden de importancia son el segundo y tercer aportante de este ión después del Cloruro, muestra un camino que puede ser de relevancia en la industria cárnica, al momento de hacer sustituciones por encima del 30% y hasta el 60% sin que se vean afectadas las características sensoriales del producto. Esto debido a que las reducciones que más pueden incurrir en modificaciones sensoriales, son las que se obtienen por el cloruro de sodio al ser reemplazado por otras sales, aunque algunos autores han concluido que por encima del 40% de reducción puede afectarse el producto.

Los potencializadores usados, no tuvieron un desempeño diferente a las formulas Blanco, parece que los esfuerzos en algunos casos, deben enfocarse mas a enmascarar sabores amargos que a potencializar el sabor salado, pues los multiples ingredientes y sabores que se agregan a la formula, podrían coadyudar a que la percepción de salinidad se mantenga en la medida que se disminuya el ión sodio.

El uso de técnicas como la cocrystalización del KCl con un agente de origen proteico que bloquea sabores amargos, permiten diseñar formulas que ayudan a la reducción de del sodio, sin que se afecten las características sensoriales hasta llegar a un 60% de disminución,

En la técnica de análisis descriptivo, se debe seguir apoyando el entrenamiento de jueces en materias primas especificas de la fórmula, ya que cada alimento por sus particularidad de receta, presenta interacciones diferentes que hacen un mundo de infinitas posibilidades de combinaciones sensoriales, y este es el caso de una matriz cárnica donde interfieren alrededor de 12 ingredientes, que deben ser reconocidos por los panelistas en su estado individual y en la matriz cárnica.

Se recomienda evaluar nuevas formulas de jamón con reducciones de sodio por encima del 60%, usando nuevamente KCl cocrystalizado, para encontrar hasta donde es posible disminuir sodio con esta materia prima.

## 6. CONCLUSIONES GENERALES

En la revisión bibliográfica se concluye que existe una alta relación entre el consumo excesivo de sal y la presencia de Hipertensión en humanos, las publicaciones de reducción de sodio indican que Europa sigue siendo la región de mayores estudio e innovación de productos reducidos en sal. La revisión de la tecnología de aditivos en la industria cárnica nos muestra una gran variedad de opciones para la reducción de sodio, muchas de ellas basadas en sales de potasio, pero también coadyuvantes como nucleótidos, ácidos orgánicos, agentes vivos entre otros.

En la funcionalidad de textura, el uso de técnicas como tensión superficial y perfil electroforético permitirán cada vez más, encontrar explicaciones de los mecanismos de solubilización de las proteínas cuando se cambia el medio iónico que las rodea en la producción de embutidos cárnicos, la eliminación de fosfatos se convierte en una opción viable siempre y cuando existan retenedores de humedad que permitan atrapar el agua que las proteínas cárnicas no absorban.

Si bien el cloruro de sodio tiene implicaciones en la conservación de los jamones cocidos, la eliminación de los lactatos son el gran hallazgo en esta investigación, ya que estos son el segundo aportante de sodio en la fórmula, es de gran importancia prescindir de ellos al momento de una estrategia de reducción de sodio. No se debe desconocer que necesariamente para el control de patógenos como la *listeria* es necesario el uso de bioconservantes como el *Carnobacterium carnosus*.

Sensorialmente la sustitución del ión sodio por el ión Potasio es una excelente opción para reducciones alrededor de 60%, siempre y cuando esta sal haya sido cocristalizada con un aminoácido que le permita bloquear el aporte de metálico y amargo del ión potasio. La industria de embutidos cárnicos ha estado usando potencializadores de sabores que para este caso no presentaron diferencia entre usarlos o no.

Se concluye de manera general que es viable reducir considerablemente el contenido de sodio en un jamón cocido de alta extensión, ya que por medio del reemplazo de fosfatos, eliminación de Lactatos y sustitución de cloruro de sodio por cloruro de potasio es posible llegar a reducciones por encima del 60%.



## 7. BIBLIOGRAFIA

Aaslyng, M. D., Vestergaard, C., & Koch, A. G. (2014). The effect of salt reduction on sensory quality and microbial growth in hotdog sausages, bacon, ham and salami. *Meat Science*, 96(1), 47–55. <http://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.06.004>

Acton, J. C., Ziegler, G.R., Burge D.L (1978). Functionality of muscle constituents in the processing of comminuted meat products. *CRC Critical Review of Food Science and Nutrition*, 18, 99-121.

Ahmed, J., & Ramaswamy, H. S. (2007). Dynamic rheology and thermal transitions in meat-based strained baby foods. *Journal of Food Engineering*, 78(4), 1274-1284.

Aho, K., Harmsen, P., Hatano, S., Marquardsen, J., Smirnov, V. E., & Strasser, T (1980). Cerebrovascular disease in the community: results of a WHO collaborative study. *Bulletin of the World Health Organization*, 58, 113-130.

Ahuja, J. K. C., Wasswa-Kintu, S., Haytowitz, D. B., Daniel, M., Thomas, R., Showell, B., Pehrsson, P. R. (2015). Sodium content of popular commercially processed and restaurant foods in the United States. *Preventive Medicine Reports*, 2, 962–967. <http://doi.org/10.1016/j.pmedr.2015.11.003>

Alimentaria, C. P. (01/15/2012). Nuevos potencializadores de sabor de los alimentos. In: <http://www.chilepotenciaalimentaria.cl/content/view/872010/Nuevos-potencializadores-del-sabor-de-los-alimentos>.

Aliño, M., Grau, R., Toldrá, F., Blesa, E., Pagán, M. J., & Barat, J. M. (2009). Influence of sodium replacement on physicochemical properties of dry-cured loin. *Meat Science*, 83(3), 423-430.

Aliño, M., Grau, R., Toldrá, F., Blesa, E., Pagán, M. J., & Barat, J. M. (2010). Physicochemical properties and microbiology of dry-cured loins obtained by partial sodium replacement with potassium, calcium and magnesium. *Meat Science*, 85(3), 580-588.

American Dietetic Association Position of the American Dietetic Association: Fat replaces. *Journal of the American Dietetic Association*.2005;105(2):266-275. <http://www.eatright.org/ada/files/FatReplacersnp.pdf>

- Anderson R. C., G. K. J., Harvey R. B., Callaway T. R., & Nisbet D. J (2006). *Preharvest Food Safety Applications of Competitive Exclusion Cultures and Probiotics*. In: *Probiotics in Food Safety and Human Health*. LLC Boca Raton, FL, USA.
- Angus, F., Phelps, T., Clegg, S., Narain, C. den Ridder, C., & Kilcast, D (2005). "Salt in processed foods: Collaborative Research Project." Leatherhead Food International.
- Armenteros, M. (2010). Reducción de sodio en lomo y jamón curados. Efecto sobre la proteólisis y las Características sensoriales. Tesis doctoral.: Universidad Politécnica de Valencia.
- Armenteros, M., Aristoy, M.-C., Barat, J. M., & Toldrá, F. (2011). Biochemical and sensory changes in dry-cured ham salted with partial replacements of NaCl by other chloride salts. *Meat Science*, 90(2), 361-367.
- Asghar, A., Samejima, K., Yasui T. (1983). Functionality of muscle proteins in gelation mechanisms of structured meat products *CRC Critical Review of Food Science and Nutrition*, 22, 27-106.
- Askar, A., El-Samahy, S. K., & Tawfik, M (1994). "Effect of substituting KCl and K-lactate for sodium chloride." Fleischwirtschaft **73**(3): 289-292.
- Astruc, T., Labas, R., Vendeuvre, J. L., Martin, J. L., & Taylor, R. G. (2008). Beef sausage structure affected by sodium chloride and potassium lactate. *Meat Science*, 80(4), 1092-1099.
- Badii, F., Howell, N.K (2002). Changes in the texture and structure of cod and haddock fillets during frozen storage *Food Hydrocolloids*, 16, 313-319.
- Barat, J. M., Rodríguez-Barona, S., Andrés, A., & Fito, P. (2002). Influence of Increasing Brine Concentration in the Cod-Salting Process. *Journal of Food Science*, 67(5), 1922-1925.
- Barbut, S., & Findlay, C. J. (1991). Influence of Sodium, Potassium and Magnesium Chloride on Thermal Properties of Beef Muscle. *Journal of Food Science*, 56(1), 180-182.

Barton, P., Andronis, L., Briggs, A., McPherson, K., Capewell, S., (2011) Effectiveness and cost effectiveness of cardiovascular disease prevention in whole populations: modelling study. *British Medical Journal*, 343.

Baya, A. M., Toranzo, A. E., Lupiani, B., Li, T., Roberson, B. S., & Hetrick, F. M. (1991). Biochemical and serological characterization of *Carnobacterium* spp. isolated from farmed and natural populations of striped bass and catfish. *Appl Environ Microbiol*, 57(11), 3114-3120.

Bello, J. (2008). *Jamón curado: Aspectos científicos y tecnológicos: Perspectivas desde la Unión Europea*.

Beyer, F. R., Dickinson, H.O., Nicolson, D.J., Ford G.A y Mason, J (2006). Administración de suplementos de calcio, magnesio y potasio combinados para el tratamiento de la hipertensión primaria en adultos. *The Cochrane Collaboration*, 2, 1-19.

Bobowski, N., Rendahl, A., & Vickers, Z. (2015a). A longitudinal comparison of two salt reduction strategies: Acceptability of a low sodium food depends on the consumer. *Food Quality and Preference*, 40, 270–278. <http://doi.org/10.1016/j.foodqual.2014.07.019>

Bobowski, N., Rendahl, A., & Vickers, Z. (2015b). Preference for salt in a food may be alterable without a low sodium diet. *Food Quality and Preference*, 39, 40–45. <http://doi.org/10.1016/j.foodqual.2014.06.005>

Bolhuis, D. P., Gijsbers, L., de Jager, I., Geleijnse, J. M., & de Graaf, K. (2015). Encapsulated sodium supplementation of 4weeks does not alter salt taste preferences in a controlled low sodium and low potassium diet. *Food Quality and Preference*, 46, 58–65. <http://doi.org/10.1016/j.foodqual.2015.07.005>

Borgogno, M., Favotto, S., Corazzin, M., Cardello, A. V., & Piasentier, E. (2015). The role of product familiarity and consumer involvement on liking and perceptions of fresh meat. *Food Quality and Preference*, 44, 139–147. <http://doi.org/10.1016/j.foodqual.2015.04.010>

Brandsma, I. (2006). "Reducing sodium: a european perspective." *Food Technology* 60: 24-29.

Brian Penner, S., Campbell, N. R. C., Chockalingam, A., Zarnke, K., & Van Vliet, B. (2007). Dietary sodium and cardiovascular outcomes: A rational approach. *Canadian Journal of Cardiology*, 23(7), 567-572.

Briguglio, S., Chirtel, S., Spungen, J., Rabbani, P. I., Hoffman-Pennesi, D., & Wirtz, M. (2015). Sodium Trends in Selected U.S. Total Diet Study Foods, 2003-2011. *Procedia Food Science*, 4, 27–38. <http://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.06.006>

Buchanan, R. L., Smith, J. L., & Long, W. (2000). Microbial risk assessment: dose-response relations and risk characterization. *International Journal of Food Microbiology*, 58(3), 159-172.

Buemi, M., Senatore, M., Corica, F., Aloisi, C., Romeo, A., Tramontana, D., & Frisina, N. (2002). Diet and arterial hypertension: is the sodium ion alone important? *Med Res Rev*, 22(4), 419-428.

Buscailhon, S., J. L. Berdagao, et al. (1994). "Relations between compositional traits and sensory qualities of French dry-cured ham." *Meat Science* 37(2): 229-243.

Cando, D., Herranz, B., Borderías, A. J., & Moreno, H. M. (2016). Different additives to enhance the gelation of surimi gel with reduced sodium content. *Food Chemistry*, 196, 791–9. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.10.022>

Carlucci, A., F. Napolitano, (1999). "Methodological approach to evaluate the effects of age at slaughter and storage temperature and time on sensory profile of lamb meat." *Meat Science* 52(4): 391-395.

Chmelař, D., Matušek, A., Korger, J., Durnová, E., Steffen, M., & Chmelařová, E. (2002). Isolation of *Carnobacterium piscicola* from human Pus—Case report. *Folia Microbiologica*, 47(4), 455-457.

Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL, Jr., et al. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA*. 2003 May 21;289(19):2560-72

Choi, Y. M., Jung, K. C., Jo, H. M., Nam, K. W., Choe, J. H., Rhee, M. S., & Kim, B. C. (2014). Combined effects of potassium lactate and calcium ascorbate as sodium chloride substitutes on the physicochemical and sensory characteristics of low-

sodium frankfurter sausage. *Meat Science*, 96(1), 21–5.  
<http://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.06.022>

Chollet, E., Sebti, I., Martial-Gros, A., & Degraeve, P. (2008). Nisin preliminary study as a potential preservative for sliced ripened cheese: NaCl, fat and enzymes influence on nisin concentration and its antimicrobial activity. *Food Control*, 19(10), 982-989.

Comfort, S., & Howell, N. K. (2003). Gelation properties of salt soluble meat protein and soluble wheat protein mixtures. *Food Hydrocolloids*, 17(2), 149-159.

Costa-Corredor, A., Serra, X., Arnau, J., & Gou, P. (2009). Reduction of NaCl content in restructured dry-cured hams: Post-resting temperature and drying level effects on physicochemical and sensory parameters. *Meat Science*, 83(3), 390-397.

Cook, N. R., Cutler J. A., Obarzanek, E., Buring, J. E., Rexrode, K. M., Kumanyika, S. K., Appel, L. J. (2007) Long term effects of dietary sodium reduction on cardiovascular disease outcomes: observational follow-up of the trials of hypertension prevention (TOHP), Whelton, P. K, *BMJ*, 334 (7599), p.885-885.

Cramer, J. A., & Prestegard, J.H (1977). NMR studies of pH-induced transport of carboxylic acids across phospholipid vesicle membranes. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 75, 295-301.

Darine, S., Christophe, V., & Gholamreza, D. (2010). Production and functional properties of beef lung protein concentrates. *Meat Science*, 84(3), 315-322.

Davey, C. L., & Gilbert, K. V. (1974). Temperature-dependent cooking toughness in beef. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 25(8), 931-938.

D'Elia, L., Barba, G., Cappuccio, F. P., & Strazzullo, P. (2011). Potassium Intake, Stroke, and Cardiovascular Disease: A Meta-Analysis of Prospective Studies. *Journal of the American College of Cardiology*, 57(10), 1210-1219.

Desmond, E. (2006). Salt: A challenge for the meat industry. *Meat Science*, 74, 188-196.

Devlieghere F., V. L., Bontenbal E., Debevere P., Lamers P., Johan (2009). Reducing salt intake from meat products by combined use of lactate and diacetate salts without affecting microbial stability. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 337-341.

- Devlieghere, F., Geeraard, A.H., Versyck, K.J., Vandewaetere, B., Van Impe, J., Debevere, J. (2001). Growth of *Listeria monocytogenes* in modified atmosphere packed cooked meat products: a predictive model. *Food Microbiology*, 18, 53-66.
- Dolata W, P. E. (2002). Comparative quality evaluation of finely comminuted sausages produced with the addition of protein preparation at different degree of rehydration *Electronic journal of Polish agricultural universities. Food science and technology*, 5(2), 1.
- Doyle M.P., B. L. R., Montville T.J (1997). *Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers*. Washington DC.
- Duffy, L. L., Vanderlinde, P. B., & Grau, F. H. (1994). Growth of *Listeria monocytogenes* on vacuum-packed cooked meats: effects of pH, aw, nitrite and ascorbate. *International Journal of Food Microbiology*, 23(3&4), 377-390.
- Durack, E., Gomez, A. M., Wilkinson, M. G (2008). Salt: A review of its role in food science and public health. *Current Nutrition and Food Science*, 4, 290-297.
- Dykes, G. A., Cloete, T. E., & von Holy, A. (1995). Taxonomy of lactic acid bacteria associated with vacuum-packaged processed meat spoilage by multivariate analysis of cellular fatty acids. *International Journal of Food Microbiology*, 28(1), 89-100.
- E. Ringo., W. H. (2000). Identification and characterization of Carnobacteria associated with the gills of atlantic salmon. *Systematic and Applied Microbiology*, 23, 523-527.
- Eoin, D. (2006). Reducing salt: A challenge for the meat industry. *Meat Science*, 74(1), 188-196.
- Estevez M., Morcuende D., Ventanas S. (2008). Determination of Oxidation. *Handbook of Muscle Foods Analysis* (pp. 221-240): CRC Press.
- Farouk, M. M., Wieliczko, K., Lim, R., Turnwald, S., & MacDonald, G. A. (2002). Cooked sausage batter cohesiveness as affected by sarcoplasmic proteins. *Meat Science*, 61(1), 85-90.
- Felisberto, M. H. F., Galvão, M. T. E. L., Picone, C. S. F., Cunha, R. L., & Pollonio, M. A. R. (2015). Effect of prebiotic ingredients on the rheological properties and microstructure of reduced-sodium and low-fat meat emulsions. *LWT - Food Science and Technology*, 60(1), 148-155. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.004> Félix, L.,

Félix, D., Rubio, M. S., Méndez, R.D., Trujillo, A.M (2001). "Análisis comparativo de la carne y productos cárnicos de cabrito Alpino Francés y Alpino Francés " Técnica Pecuaria en Mexico **39**(3): 237-244.

Fiocco, A. J., Shatenstein, B., Ferland, G., Payette, H., Belleville, S., Kergoat, M.-J., Morais, J. A., & Greenwood, C. E. (2011). Sodium intake and physical activity impact cognitive maintenance in older adults: the NuAge Study. *Neurobiology of Aging* (0).

Flores, M., Gianelli, M. P., Perez-Juan, M., & Toldrá, F. (2007). Headspace concentration of selected dry-cured aroma compounds in model systems as affected by curing agents. *Food Chemistry*, 102(2), 488-493.

Franzetti, L., Scarpellini, M., Mora, D., Galli, A (2003). *Carnobacterium* spp. in seafood packaged in modified atmosphere. *Ann. Microbiol*, 53, 189-198.

Gálvez, A., Abriouel, H., López, R. L., & Omar, N. B. (2007). Bacteriocin-based strategies for food biopreservation. *International Journal of Food Microbiology*, 120(1-2), 51-70.

Gelabert, J., Gou, P., Guerrero, L., & Arnau, J. (2003). Effect of sodium chloride replacement on some characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 65(2), 833-839.

Geleijnse, J. M., Witteman, J. C., Stijnen, T., Kloos, M. W., Hofman, A., & Grobbee, D. E. (2007). Sodium and potassium intake and risk of cardiovascular events and all-cause mortality: the Rotterdam Study. *Eur J Epidemiol*, 22(11), 763-770.

Golden, M. H., Buchanan, R.L., Whiting R.C (1995). *Journal of Food Safety, Effect of sodium acetate or sodium propionate with EDTA and ascorbic acid on the inactivation of Listeria monocytogenes.*

Goli, T., Ricci, J., Bohuon, P., Marchesseau, S., & Collignan, A. (2014). Influence of sodium chloride and pH during acidic marination on water retention and mechanical properties of turkey breast meat. *Meat Science*, 96(3), 1133-40.  
<http://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.10.031>

González C. J., D. L. M. M. J., & Míguez B. M (2002). Estudio de la percepción de sabores dulce y salado en diferentes grupos de la población. *Nutrición Hospitalaria*, 5, 256-258.

González C.J., J. P. E., Garcia-López M.L., Otero A. (2000). Characterization and identification of lactic acid bacteria from freshwater fishes *Food Microbiol*, 17, 383-391.

Graiver, N., Pinotti, A., Califano, A., & Zaritzky, N. (2006). Diffusion of sodium chloride in pork tissue. *Journal of Food Engineering*, 77(4), 910-918.

Grimes, C.A., Ridell, L.J., & Nowson, C. A. (2009) Consumer Knowledge and attitudes to salt intakes and labeled salt information. *Appetite*, 53, 189-194.

Groth Laursen, B., Bay, L., Cleenwerck, I., Vancanneyt, M., Swings, J., Dalgaard, P., Leisner, J., Oslash, & rgen, J. (2005). *Carnobacterium divergens* and *Carnobacterium maltaromaticum* as spoilers or protective cultures in meat and seafood: phenotypic and genotypic characterization. *Systematic and Applied Microbiology*, 28(2), 151-164.

Guàrdia, M. D., Guerrero, L., Gelabert, J., Gou, P., & Arnau, J. (2006). Consumer attitude towards sodium reduction in meat products and acceptability of fermented sausages with reduced sodium content. *Meat Science*, 73(3), 484-490.

Hall, J. E. (2003). The kidney, hypertension, and obesity. *Hypertension*, 41(3 Pt 2), 625-633.

Hayrapetyan, H., Hazeleger, W. C., & Beumer, R. R. (2012). Inhibition of *Listeria monocytogenes* by pomegranate (*Punica granatum*) peel extract in meat pat<sup>Å</sup>© at different temperatures. *Food Control*, 23(1), 66-72.

He, F. J., & MacGregor, G. A. (2010). Reducing Population Salt Intake Worldwide: From Evidence to Implementation. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 52(5), 363-382.

He, F. J., & MacGregor, G. A. (2011). Salt reduction lowers cardiovascular risk . Metanalysis outcome trials. *Lancet*, 378, 380-382.

He, F. J., Li, J., & MacGregor, G. A. (2013). Effect of longer term modest salt reduction on blood pressure: Cochrane systematic review and meta-analysis of randomised trials. *Archives of internal medicine*, 150, 153-162.

Hereu, A., Bover-Cid, S., Garriga, M., & Aymerich, T. (2011). High hydrostatic pressure and biopreservation of dry-cured ham to meet the Food Safety Objectives for *Listeria monocytogenes*. *International Journal of Food Microbiology*, 1-6.

Hermansen, K. (2000). "Diet blood pressure and hypertension." British Journal of Nutrition 83(1): 113-119.

Hernandez, A. E. (0/0/2012). "Evaluación Sensorial".

Goli, T., Ricci, J., Bohuon, P., Marchesseau, S., & Collignan, A. (2014). Influence of sodium chloride and pH during acidic marination on water retention and mechanical properties of turkey breast meat. *Meat Science*, 96(3), 1133–40. <http://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.10.031>

Hosmer, D. W., Stanley L. (2000). *Applied Logistic Regression, 2nd ed.*

Huss, H. H., Jørgensen, L. V., & Vogel, B. F. (2000). Control options for *Listeria monocytogenes* in seafoods. *International Journal of Food Microbiology*, 62(3), 267-274.

Hutkins, R. W. (1991). Intracellular pH and survival of *Listeria monocytogenes* Scott A in tryptic soy broth containing acetic, lactic, citric and hydrochloric acids. *Journal of Food Protection*, 54 (1), 15-19.

Institute of Medicine of the National Academic. Strategies to Reduce Sodium Intake in the United States. Washington, DC 2010.

J.H. Silliker, R. P. E. (1980). *Ecología microbiana de los Alimentos. Volumen I, Factores que afectan la supervivencia de los microorganismos en los alimentos.*

Jiménez-Colmenero, F., Carballo, J., & Cofrades, S. (2001). Healthier meat and meat products: their role as functional foods. *Meat Science*, 59(1), 5-13.

Jofré, A., Garriga, M., & Aymerich, T. (2008). Inhibition of *Salmonella* sp. *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* in cooked ham by combining antimicrobials, high hydrostatic pressure and refrigeration. *Meat Science*, 78(1-2), 53-59.

Keast R. S., J. D. P., & Breslispas (2004). Flavor interactions at the sensory level, Flavor Perception. 228-255.

Kilcast D, A. F. (2007). Reducing Salt in Foods: Practical Strategies. York, Washinton-DC.

- Kimiya, T., Kubota, S., Kono, M., Hirata, M., Toyohara, H., Moriora K (1988). Solubilization of type I and V collagens in Japanese flounder muscle during chilled storage. *Fisheries Science*, 71(3), 672–678.
- Kim, M. K., Lopetcharat, P., & Dreake, M. A. (2012). Consumer awareness of salt and sodium reduction and sodium labeling, *Journal of Food Science*, 77, s307-s303.
- Kimura, M., Lu, X., Skurnick, J., Awad, G., Bogden, J., Kemp, F., & Aviv, A. (2004). Potassium chloride supplementation diminishes platelet reactivity in humans. *Hypertension*, 44(6), 969-973.
- Kloss, L., Meyer, J. D., Graeve, L., & Vetter, W. (2015). Sodium intake and its reduction by food reformulation in the European Union — A review. *NFS Journal*, 1, 9–19. <http://doi.org/10.1016/j.nfs.2015.03.001>
- Knife, L. (2004). Use of Phosphates in Meat Products. In: <http://www.ag.ohio-State.edu/~meatsci/archive/UseofPhosphatesinMeatProducts>.
- Ko, W. C., Hwang M.S (1995). Contribution of milk fish sarcoplasmic protein to the thermal gelation of myofibrillar protein. *Fisheries Science*, 61(1), 75-78.
- Korkeala, H., Alanko, T., Makela, P., & Lindroth, S. (1989). Shelf-life of vacuum-packed cooked ring sausages at different chill temperatures. *International Journal of Food Microbiology*, 9(3), 237-247.
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680-685.
- Larsen, R., & Elvevoll, E. O (2008). Water uptake, drip losses and retention of free amino acids and minerals in cod (*Gadus morhua*) fillet immersed in NaCl or KCl. *Food Chemistry*, 107, 369-376.
- Lawless, H. T., & Heymann, H (1999). *Sensory evaluation of food: Principles and practices*. Gaithersburg: Aspen.
- Li-Chan, E., Nakai, S., & Wood, D. F. (1984). Hydrophobicity and Solubility of Meat Proteins and Their Relationship to Emulsifying Properties. *Journal of Food Science*, 49(2), 345-350.
- Lilic, S., Brankovic, I., Koricanac, V., Vranic, D., Spalevic, L., Pavlovic, M., & Lakicevic, B. (2015). Reducing Sodium Chloride Content in Meat Burgers by Adding Potassium Chloride and Onion. *Procedia Food Science*, 5, 164–167.

<http://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.09.047>Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., & Randall, R. J (1951). Protein measurement with the folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. *Journal of Biological Chemistry*, 193, 265-275.

Maalouf, J., Cogswell, M. E., Yuan, K., Martin, C., Gillespie, C., Ahuja, J. K., Merritt, R. (2015). Sodium Content of Foods Contributing to Sodium Intake: Comparison between Selected Foods from the CDC Packaged Food Database and the USDA National Nutrient Database for Standard Reference. *Procedia Food Science*, 4, 114–124. <http://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.06.016>

Maccris, B. J. (1975). Mechanisms of benzoic acid uptake by *Sacharomyces cerevisiae*. *Appl microbial*, 30, 503-506.

Macfarlane, J. J., Schmidt, G. R., & Turner, R. H. (1977). BINDING OF MEAT PIECES: A COMPARISON OF MYOSIN, ACTOMYOSIN AND SARCOPLASMIC PROTEINS AS BINDING AGENTS. *Journal of Food Science*, 42(6), 1603-1605.

Magrinyà, N., Terjung, N., Loeffler, M., Gibis, M., Bou, R., & Weiss, J. (2015). Influence of fat addition on the antimicrobial activity of sodium lactate, lauric arginate and methylparaben in minced meat. *International Journal of Food Microbiology*, 215, 86–94. <http://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.08.017>

Man, C. M. D. (2007). *Technological functions of salt in food products. En: Reducing salt in foods: Practical strategies*. Boca Raton, FL, E.E.U.U.

Mann, T. F., J. O. Reagan, et al. (1989). "Effects of Phosphate in Combination with Nitrite or Maillard Reaction Products upon Warmed-Over Flavor in Precooked, Restructured Beef Chuck Roasts." *Journal of Food Science* 54(6): 1431-1433.

Matthews, K., y Strong, M (2005). Salt-its role in meat products and the industry's action plan to reduce it. *Nutrition Bulletin*, 30(1), 55-61.

McIntyre, L. H., J. A. Billington, C. Withers, H (2007). Biocontrol of Foodborne Bacteria: Past, Present and Future Strategies. *Food New Zealand*, 7, 25-36.

Miettinen, M. K., Bjarkroth, K. J., & Korkeala, H. J. (1999). Characterization of *Listeria monocytogenes* from an ice cream plant by serotyping and pulsed-field gel electrophoresis. *International Journal of Food Microbiology*, 46(3), 187-192.

Micha R, Michas G, Lajous M, Mozaffarian D. Processing of meats and cardiovascular risk: time to focus on preservatives. *BMC Med.* 2013;11:136.

Micha R, Michas G, Mozaffarian D. Unprocessed Red and Processed Meats and Risk of Coronary Artery Disease and Type 2 Diabetes – An Updated Review of the Evidence. *Current Atherosclerosis Reports.* 2012 14(6):515-24

Mileur, M. C., Chisthine (1999). *Memories of the basic meat processing course* Chicago. G. Laboratories.

Mitchell, M., Brunton, N. P., & Wilkinson, M. G. (2011). Impact of salt reduction on the instrumental and sensory flavor profile of vegetable soup. *Food Research International*, 44(4), 1036-1043.

Morioka, K., Nishimura, T., Obatake A (1998). Changes in the strengths of heat induced gels from myofibrils in combination with sarcoplasmic proteins from lizard fish and pacific mackerel. *Fisheries Science*, 64(3), 503-504.

Morris, C., Labarre, C., Koliandris, A. L., Hewson, L., Wolf, B., Taylor, A. J (2010). Effect of pulsed delivery and bouillon base on saltiness and bitterness perceptions of salt delivery profiles partially substituted with KCl. *Food Quality and Preference*, 21, 489–494.

Muhlrad, A., Hozumit, T (1982). Tryptic digestion as a probe of myosin S-1 conformation. *Biochemistry*, 79, 958r–962.

Nasri, N., Beno, N., Septier, C., Salles, C., & Thomas-Danguin, T. (2011). Cross-modal interactions between taste and smell: Odour-induced saltiness enhancement depends on salt level. *Food Quality and Preference*, 22(7), 678-682.

Nayak, R., Kenney, P. B., Slider, S., Head, M. K., & Killefer, J (1998). Cook yield, texture and gel ultrastructure of model beef batters as affected by low levels of calcium, magnesium and zinc chloride. *Journal of Food Science*, 63, 945-950.

Nettles, C. G., & Barefoot, S.F (1993). Biochemical and genetic characteristics of bacteriocins of food-associated lactic acid bacteria. *Food Protect*, 56, 338-356.

Nguyen, M. V., Thorarinsdottir, K. A., Gudmundsdottir, A., Thorkelsson, G., & Arason, S. (2011). The effects of salt concentration on conformational changes in

cod (Gadus morhua) proteins during brine salting. Food Chemistry, 125(3), 1013-1019.

Noort, M. W. J., Bult, J. H. F., Stieger, M., & Hamer, R. J. (2011). Saltiness enhancement in bread by inhomogeneous spatial distribution of sodium chloride. Journal of Cereal Science, 52(3), 378-386.

Nowson, C. A., Wattanapenpaiboon, N., & Pachett, A. (2009). Low-sodium Dietary Approaches to Stop Hypertension type diet including lean red meat lowers blood pressure in postmenopausal women. Nutrition Research, 29(1), 8-18.

**NTC** (1996). Análisis sensorial. Guía General para el diseño de cuartos de prueba. **3884**.

**NTC** (1997). Análisis sensorial. Guía General para la selección, entrenamiento y seguimiento de evaluadores. Parte 2 expertos. **4130**.

**NTC** (1998). Análisis sensorial. Guía General para la selección, entrenamiento y seguimiento de evaluadores. Parte 1 evaluadores seleccionados. **4129**.

OMA, A. (2004). VIDAS® Listeria monocytogenes II (LMO2) #30704 test detection solution. In: V. L. m. I. L. t. d. solution.

Organización Mundial de la Salud. Envejecimiento activo: Un marco político. 2002;p:32 <http://www.imsersomayores.csic.es/documentos/documentos/oms-envejecimiento-01.pdf>

Organización Panamericana de la Salud. La saludn en las Americas. Colombia (OPS) 2002 Volumen II,pp 169-184

Organización Panamericana de la Salud y Organización Mundial de la Salud. Estrategia Mundial sobre Alimentación Saludable, Actividad Física y Salud (DPAS)

Patel, S. M., Gunn, J. P., Tong, X., & Cogswell, M. E. (2014). Consumer sentiment on actions reducing sodium in processed and restaurant foods, ConsumerStyles 2010. American Journal of Preventive Medicine, 46(5), 516–24. <http://doi.org/10.1016/j.amepre.2013.12.012>

Plan de implementación en América Latina y el Caribe 2006-2007 Versión preliminar. Washington DC. 2006.<http://www.dpaslac.org/uploads/>

Ploegaerts, G., Desmet, C., & Van krieken, M. (2016). Assay of sodium in food: Comparison of different preparation methods and assay techniques. *Journal of Food Composition and Analysis*, 45, 66–72. <http://doi.org/10.1016/j.jfca.2015.09.017>OMS (01/16/2012). Stop The Global Epidemic of Chronic Disease. In: <https://apps.who.int/infobase/Index.aspx>.

Person, A. M., Gillet, T.A (1999). *Processed Meats*. 3 ed. Gaithersburg: Aspen.

Peter Karim Ben, E. (1994). Presence, detection and growth of *Listeria monocytogenes* in seafoods: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 23(1), 17-34.

Piggot, J. R. (1995). "Design questions in sensory and consumer science " Food Quality and Preference 6: 217-220.

Piggot, R. S., Kenney, P. B., Slider, S., & Head, M. K (2000). Formulation protocol and cationic salts affect protein functionality on model systems beef batters, *Journal of Food Science*, 65, 1151-1154.

Pinehiro J.C., B. D. M. (2000). *Mixed-effects Models in S and S-Plus*.

Price, J. F. (1997). Price Low-fat/salt cured meat products , Advances in meat research, Production and processing of healthy meat, poultry and fish products. London.

Puolanne, E. J., Ruusunen, M. H., & Vainionpa, J. I. (2001). Combined effects of NaCl and raw meat pH on water-holding in cooked sausage with and without added phosphate. *Meat Science*, 58(1), 1-7.

R Development Core Team (2008). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria ISBN:3900051-07-0, URL: <<http://www.R-project.org>>.

R.W, M. (2011). Salting-in characteristics of globular proteins. *Biophysical Chemistry*, 156, 72-78.

Reinivuo, H., Valsta, L.M., Laatikainen, T., Tuomilehto, J., Pietinen, P (2006). Sodium in the Finnish diet: II trends in dietary sodium intake and comparison between intake and 24-h excretion of sodium. Department of Epidemiology and Health Promotion, National Public Health Institute, 60(10), 1160-1167.

Arango, C y Restrepo, D., (2001). *Industria de Carnes*. Medellín.

- Rhys J, J. (2004). Observations on the succession dynamics of lactic acid bacteria populations in chill-stored vacuum-packaged beef. *International Journal of Food Microbiology*, 90(3), 273-282.
- Risvik, E., J.A. McEwan, J.S. Colwill, R. Rogers, and D.H. Lyon. 1994. Projective mapping: a tool for sensory analysis and consumer research. *Food Qual. Prefer.* 5:263-269.
- Romero, A., Beaumal, V., David-Briand, E., Cordobés, F., Anton, M., & Guerrero, A. (2011). Interfacial and emulsifying behaviour of crayfish protein isolate. *LWT - Food Science and Technology*, 44(7), 1603-1610.
- Rouimi, S., Schorsch, C., Valentini, C., & Vaslin, S. (2005). Foam stability and interfacial properties of milk protein "surfactant systems. *Food Hydrocolloids*, 19(3), 467-478.
- Ruusunen, M., & Puolanne, E (2005). "Reducing sodium intake from meat products - a review." *Meat Science* 70: 531-541.
- Ryser, E. T., Marth H.E (1999). *Listeria, Listeriosis and Food Safety* New York.
- Salud, O. P. d. I. (2009). Prevención de enfermedades cardiovasculares mediante la reducción de la sal alimentaria Washington, D.C., Estados Unidos.
- Samelis, J., Kakouri, A., Georgiadou, K. G., & Metaxopoulos, J. (1998). Evaluation of the extent and type of bacterial contamination at different stages of processing of cooked ham. *Journal of Applied Microbiology*, 84(4), 649-660.
- Sarjit, A., & Dykes, G. A. (2015). Trisodium phosphate and sodium hypochlorite are more effective as antimicrobials against *Campylobacter* and *Salmonella* on duck as compared to chicken meat. *International Journal of Food Microbiology*, 203, 63–9. <http://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.02.026>
- Schlyter, J. H., Glass, K. A., Loeffelholz, J., Degnan, A. J., & Luchansky, J. B. (1993). The effects of diacetate with nitrite, lactate, or pediocin on the viability of *Listeria monocytogenes* in turkey slurries. *International Journal of Food Microbiology*, 19(4), 271-281.
- Scopes, R. K. (1968). Methods for starch-gel electrophoresis of sarcoplasmic proteins *The Biochemical Journal*, 107(2), 139-150.

Sebranek, J., & Bacus, J (2007). Natural and organic cured meat products: Regulatory, Manufacturing, Marketing, Quality and Safety Issues. American Meat Science Association. *American Meat Science Association*, 1-16.

Seman, D. L., Olson, D. G., & Mandigo, R. W. (1980). Effect of reduction and partial replacement of sodium on bologna characteristics and acceptability. *Journal of Food Science*, 45(5), 1116-1121.

Shigemura, Y., Ando, M., Harada, K., Tsukamasa, Y (2004). Possible degradation of type I collagen in relation to yellowtail muscle softening during chilled storage. *Fisheries Science*, 70(4), 703–709.

Singh, J., Kaur, L., McCarthy, O.J (2007). Factors influencing the physico-chemical, morphological thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications: a review. *Food Hydrocolloids*, 21, 1-22.

Song, H.-J., Lee, J.-H., & Song, K. B. (2011). Effects of irradiation and fumaric acid treatment on the inactivation of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella typhimurium* inoculated on sliced ham. *Radiation Physics and Chemistry*, 80(11), 1291-1293.

Spanier, A. M., J. R. Vercellotti, et al. (1992). "Correlation of Sensory, Instrumental and Chemical Attributes of Beef as Influenced by Meat Structure and Oxygen Exclusion." *Journal of Food Science* 57(1): 10-15.

Stoknes, I. S., Walde, P. M., & Synnes, M. (2005). Proteolytic activity in cod (*Gadus morhua*) muscle during salt curing. *Food Research International*, 38(6), 693-699.

Strazullo, P., D'Elia, L. K. N. B., y Capuccio, F.p. (2009), Salt intake, stroke and cardiovascular disease. A meta-analysis of prospective studies. *Journal of Hipertension*, 27, S180-181.

Talon, R., Lebert, I., Lebert, A., Leroy, S., Garriga, M., Aymerich, T., Drosinos, E. H., Zanardi, E., Ianieri, A., Fraqueza, M. J., Patarata, L., & Laukovı, A. (2007). Traditional dry fermented sausages produced in small-scale processing units in Mediterranean countries and Slovakia. 1: Microbial ecosystems of processing environments. *Meat Science*, 77(4), 570-579.

Theron, M. M., Rykers F.J (2011). *Organic Acids and Food Preservation*.

Thorarinsdottir, K. A., Arason, S., Geirsdottir, M., Bogason, S. G., & Kristbergsson, K. (2002). Changes in myofibrillar proteins during processing of salted cod (*Gadus*

morhua) as determined by electrophoresis and differential scanning calorimetry. *Food Chemistry*, 77(3), 377-385.

Thorarinsdottir, K. A., Arason, S., Sigurgisladottir, S., Valsdottir, T., & Tornberg, E. (2011). Effects of different pre-salting methods on protein aggregation during heavy salting of cod fillets. *Food Chemistry*, 124(1), 7-14.

Toldrá, F. (2002). *Food & Nutrition Press INC, Dry-cured meat products*. Trumbull, CT 06611 USA.

Toldrá, F., Aristoy, M. C., & Flores, M. (2000). Contribution of muscle aminopeptidases to flavor development in dry-cured ham. *Food Research International*, 33(34), 181-185.

Toldrá, F., Rico, E. y Flores, J (1993). Cathepsin B, D, H and L activities in the processing of dry-cured ham. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 62, 157-161.

Tompkin, R. B. (2005). *Antimicrobials in Food, Third Edition*. Boca Raton: April 28, 2005 by CRC Press - 720 Pages.

Tornberg, E. (2005). Effects of heat on meat proteins - Implications on structure and quality of meat products. *Meat Science*, 70, 493-508.

Torten, J., & Whitaker, J. R (1964). Evaluation of the biuret and dye-binding methods for protein determination in meats. *Journal of Food Science*, 29, 168-174.

Trius, A., Sebranek, J. G., Rust, R. E., & Carr, J. M. (1994). Carrageenans in Beaker Sausage as Affected by pH and Sodium Tripolyphosphate. *Journal of Food Science*, 59(5), 946-951.

Tuorila, H., & Monteleone, E. (2009). Sensory food science in the changing society: Opportunities, needs, and challenges. *Trends in Food Science & Technology*, 20(2), 54-62.

Unal, S. B., Erdogan, F., Ekiz, H. i., & Ozdemir, Y. (2004). Experimental theory, fundamentals and mathematical evaluation of phosphate diffusion in meats. *Journal of Food Engineering*, 65(2), 263-272.

Univirtual (02/15/2012). Capitulo 3: Aditivos de uso en procesamiento de carne. In: [www.virtual.unal.edu.co/cursos/agronomia/2001819/lecciones/cap03/cap03\\_01.html](http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/agronomia/2001819/lecciones/cap03/cap03_01.html).

Varfolomeyev, S. D., & Gurevich, K. G. (2001). The Hyperexponential Growth of the Human Population on a Macrohistorical Scale. *Journal of Theoretical Biology*, 212(3), 367-372.

Vercammen, A., Vanoirbeek, K. G. A., Lurquin, I., Steen, L., Goemaere, O., Szczepaniak, S., Paelinck, H., Hendrickx, M. E. G., & Michiels, C. W. (2011). Shelf-life extension of cooked ham model product by high hydrostatic pressure and natural preservatives. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 12(4), 407-415.

Vidarium, Consumo de carne procesadas y su relacion con la salud, metanálisis reporte interno Grupo Nutresa 2013

Virgili, R. and G. Parolari (1991). "Quality control in the meat industry by multivariate statistics. The case of raw ham." *Meat Science* 29(1): 83-96.

Voet, D., Voet, J (2006). *Bioquímica 3 ed.*

Von Holy, A., Cloete, T. E., & Holzapfel, W. H. (1991). Quantification and characterization of microbial populations associated with spoiled, vacuum-packed Vienna sausages. *Food Microbiology*, 8(2), 95-104.

Weaver, R. A., & Shelef, L. A. (1993). ANTILISTERIAL ACTIVITY OF SODIUM, POTASSIUM OR CALCIUM LACTATE IN PORK LIVER SAUSAGE. *Journal of Food Safety*, 13(2), 133-146.

WHO, FAO. Diet, nutrition and the prevention of chronic disease. WHO Technical report series 916.; 2003.

WHO (World Health Organization) (2013), Guideline, Sodium intake for adults and children, Geneva.

Xargayo', M., Freixanet, L., Lagares, J., Fernandez, E., & De Jaeger-Ponnet, P (1998). Effects of pre-massaging in the manufacture of whole muscle cooked meat products. *Fleishwirtschaft International*, 5, 20-24.

Xiong, Y. L., Noel, D. C., & Moody, W. G. (1999). Textural and Sensory Properties of Low-Fat Beef Sausages with Added Water and Polysaccharides as Affected by pH and Salt. *Journal of Food Science*, 64(3), 550-554.

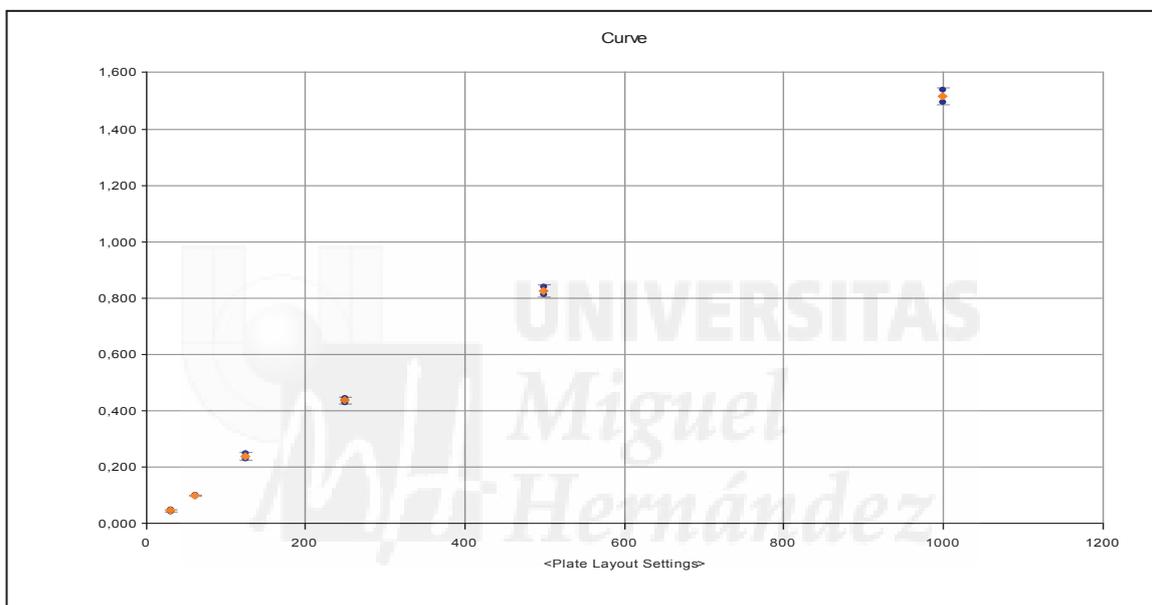
Zhou, G. H., Xu, X. L., & Liu, Y. (2010). Preservation technologies for fresh meat - A review. *Meat Science*, 86(1), 119-128.





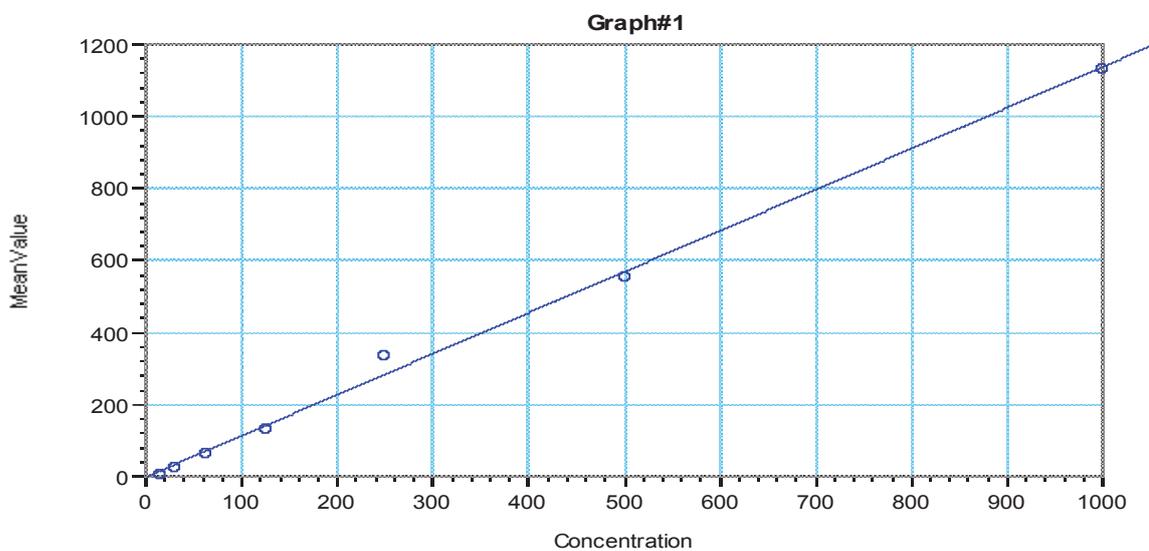
ANEXOS

Anexo 1 Curvas de los estándares de las cuantificaciones de proteína BCA y OPA



R2: 0.999

Curva 1. Curva de cuantificación con BCA usando BSA como patrón.



R2: 0.997

Curva 2. Curva de cuantificación con OPA usando BSA como patrón.



## Anexo 2 Anova de modelo mixto para temperatura inicial de gelacion

numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	18 20704.367	<.0001
factor(Tratamiento)	8	9 67.303	<.0001

Linear mixed-effects model fit by REML

Data: minimosg

AIC	BIC	logLik
126.6215	140.8757	-52.31075

Random effects:

Formula: ~1 | unidad

(Intercept)	Residual
StdDev: 1.517279	1.000266

Fixed effects: Temp ~ factor(Tratamiento)

	Value	Std.Error	DF	t-value	p-value
(Intercept)	65.28550	1.183723	18	55.15268	0.0000
factor(Tratamiento)2	-7.65996	1.674037	9	-4.57574	0.0013
factor(Tratamiento)3	-23.71769	1.674037	9	-14.16796	0.0000
factor(Tratamiento)4	-24.96948	1.674037	9	-14.91573	0.0000
factor(Tratamiento)5	-3.72221	1.674037	9	-2.22349	0.0533
factor(Tratamiento)6	0.23212	1.674037	9	0.13866	0.8928
factor(Tratamiento)7	-11.58942	1.674037	9	-6.92304	0.0001
factor(Tratamiento)8	-2.52016	1.674037	9	-1.50544	0.1665
factor(Tratamiento)9	-2.64451	1.674037	9	-1.57972	0.1486

Correlation:

	(Intr)	fc(T)2	fc(T)3	fc(T)4	fc(T)5	fc(T)6	fc(T)7
fc(T)8							
factor(Tratamiento)2	-0.707						
factor(Tratamiento)3	-0.707	0.500					
factor(Tratamiento)4	-0.707	0.500	0.500				
factor(Tratamiento)5	-0.707	0.500	0.500	0.500			
factor(Tratamiento)6	-0.707	0.500	0.500	0.500	0.500		
factor(Tratamiento)7	-0.707	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	
factor(Tratamiento)8	-0.707	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500
factor(Tratamiento)9	-0.707	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500

Standardized Within-Group Residuals:

Min	Q1	Med	Q3	Max
-1.91000256	-0.27964231	0.04726029	0.26393010	1.67032651

Number of Observations: 36

Number of Groups: 18

**Anexo 3 Anova de modelo mixto para fuerza de gel**

```

              numDF denDF  F-value p-value
(Intercept)      1   144 216.5825 <.0001
Tratamientos     8     9   0.8373  0.5935
Linear mixed-effects model fit by REML
Data: tgs3g
      AIC      BIC    logLik
1107.692 1141.026 -542.8458

```

```

Random effects:
Formula: ~1 | unidad
      (Intercept) Residual
StdDev:   41.94143  6.485394

```

```

Fixed effects: Gel.Strength ~ Tratamientos
              Value Std.Error  DF   t-value p-value
(Intercept)  112.29006  29.69644 144   3.781263  0.0002
TratamientosTto 2    32.82211  41.99711   9   0.781533  0.4546
TratamientosTto 3    45.21941  41.99711   9   1.076727  0.3096
TratamientosTto 4    66.47844  41.99711   9   1.582929  0.1479
TratamientosTto 5    77.36141  41.99711   9   1.842065  0.0986
TratamientosTto 6    23.41615  41.99711   9   0.557566  0.5907
TratamientosTto 7   -2.29020  41.99711   9  -0.054532  0.9577
TratamientosTto 8    38.94119  41.99711   9   0.927235  0.3780
TratamientosTto 9    18.54576  41.99711   9   0.441596  0.6692

```

```

Correlation:
      (Intr) TrtmT2 TrtmT3 TrtmT4 TrtmT5 TrtmT6 TrtmT7 TrtmT8
TratamientosTto 2 -0.707
TratamientosTto 3 -0.707  0.500
TratamientosTto 4 -0.707  0.500  0.500
TratamientosTto 5 -0.707  0.500  0.500  0.500
TratamientosTto 6 -0.707  0.500  0.500  0.500  0.500
TratamientosTto 7 -0.707  0.500  0.500  0.500  0.500  0.500
TratamientosTto 8 -0.707  0.500  0.500  0.500  0.500  0.500  0.500
TratamientosTto 9 -0.707  0.500  0.500  0.500  0.500  0.500  0.500  0.500

```

```

Standardized Within-Group Residuals:
      Min      Q1      Med      Q3      Max
-2.94272268 -0.62895084 -0.05235151  0.63564087  3.07135512

```

```

Number of Observations: 162
Number of Groups: 18

```

#### Anexo 4 Anova de modelo mixto para pH en salmuera

Analysis of Variance Table

Response: pH.Salmuera

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Treatment	8	1.65364	0.206706	7.434	0.003443 **
Residuals	9	0.25025	0.027806		

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1  
Tukey multiple comparisons of means  
95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = pH.Salmuera ~ Treatment, data = tphsalgel)

```
$Treatment
  diff      lwr      upr    p adj
2-1  0.095 -0.56467275  0.754672749 0.9993749
3-1  0.550 -0.10967275  1.209672749 0.1219616
4-1 -0.075 -0.73467275  0.584672749 0.9998878
5-1 -0.555 -1.21467275  0.104672749 0.1171404
6-1 -0.390 -1.04967275  0.269672749 0.4075084
7-1 -0.225 -0.88467275  0.434672749 0.8917418
8-1 -0.265 -0.92467275  0.394672749 0.7906363
9-1  0.050 -0.60967275  0.709672749 0.9999948
3-2  0.455 -0.20467275  1.114672749 0.2566209
4-2 -0.170 -0.82967275  0.489672749 0.9735148
5-2 -0.650 -1.30967275  0.009672749 0.0540922
6-2 -0.485 -1.14467275  0.174672749 0.2041400
7-2 -0.320 -0.97967275  0.339672749 0.6193390
8-2 -0.360 -1.01967275  0.299672749 0.4936686
9-2 -0.045 -0.70467275  0.614672749 0.9999977
4-3 -0.625 -1.28467275  0.034672749 0.0663101
5-3 -1.105 -1.76467275 -0.445327251 0.0017985
6-3 -0.940 -1.59967275 -0.280327251 0.0056751
7-3 -0.775 -1.43467275 -0.115327251 0.0198374
8-3 -0.815 -1.47467275 -0.155327251 0.0145179
9-3 -0.500 -1.15967275  0.159672749 0.1816143
5-4 -0.480 -1.13967275  0.179672749 0.2121809
6-4 -0.315 -0.97467275  0.344672749 0.6354366
7-4 -0.150 -0.80967275  0.509672749 0.9871899
8-4 -0.190 -0.84967275  0.469672749 0.9518583
9-4  0.125 -0.53467275  0.784672749 0.9959245
6-5  0.165 -0.49467275  0.824672749 0.9776177
7-5  0.330 -0.32967275  0.989672749 0.5872466
8-5  0.290 -0.36967275  0.949672749 0.7151995
9-5  0.605 -0.05467275  1.264672749 0.0780515
7-6  0.165 -0.49467275  0.824672749 0.9776177
8-6  0.125 -0.53467275  0.784672749 0.9959245
9-6  0.440 -0.21967275  1.099672749 0.2868347
8-7 -0.040 -0.69967275  0.619672749 0.9999991
9-7  0.275 -0.38467275  0.934672749 0.7612619
9-8  0.315 -0.34467275  0.974672749 0.6354366
```

## Anexo 5 Anova de modelo mixto para pH en Gel

Analysis of Variance Table

Response: pH.Gel

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Treatment	8	1.99980	0.249975	10.929	0.0008167 ***
Residuals	9	0.20585	0.022872		

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Tukey multiple comparisons of means

95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = pH.Gel ~ Treatment, data = tphsalgel)

\$Treatment		diff	lwr	upr	p adj
2-1	0.035	-0.56329715	0.633297153	0.9999993	
3-1	0.695	0.09670285	1.293297153	0.0212461	
4-1	0.100	-0.49829715	0.698297153	0.9982370	
5-1	-0.470	-1.06829715	0.128297153	0.1572957	
6-1	-0.365	-0.96329715	0.233297153	0.3746396	
7-1	-0.325	-0.92329715	0.273297153	0.4986871	
8-1	-0.255	-0.85329715	0.343297153	0.7425981	
9-1	0.090	-0.50829715	0.688297153	0.9991497	
3-2	0.660	0.06170285	1.258297153	0.0288733	
4-2	0.065	-0.53329715	0.663297153	0.9999200	
5-2	-0.505	-1.10329715	0.093297153	0.1154454	
6-2	-0.400	-0.99829715	0.198297153	0.2846649	
7-2	-0.360	-0.95829715	0.238297153	0.3889785	
8-2	-0.290	-0.88829715	0.308297153	0.6201457	
9-2	0.055	-0.54329715	0.653297153	0.9999773	
4-3	-0.595	-1.19329715	0.003297153	0.0514998	
5-3	-1.165	-1.76329715	-0.566702847	0.0005776	
6-3	-1.060	-1.65829715	-0.461702847	0.0011859	
7-3	-1.020	-1.61829715	-0.421702847	0.0015795	
8-3	-0.950	-1.54829715	-0.351702847	0.0026536	
9-3	-0.605	-1.20329715	-0.006702847	0.0470867	
5-4	-0.570	-1.16829715	0.028297153	0.0644594	
6-4	-0.465	-1.06329715	0.133297153	0.1643211	
7-4	-0.425	-1.02329715	0.173297153	0.2315562	
8-4	-0.355	-0.95329715	0.243297153	0.4036740	
9-4	-0.010	-0.60829715	0.588297153	1.0000000	
6-5	0.105	-0.49329715	0.703297153	0.9975476	
7-5	0.145	-0.45329715	0.743297153	0.9813300	
8-5	0.215	-0.38329715	0.813297153	0.8645292	
9-5	0.560	-0.03829715	1.158297153	0.0705214	
7-6	0.040	-0.55829715	0.638297153	0.9999980	
8-6	0.110	-0.48829715	0.708297153	0.9966572	
9-6	0.455	-0.14329715	1.053297153	0.1792420	
8-7	0.070	-0.52829715	0.668297153	0.9998613	
9-7	0.415	-0.18329715	1.013297153	0.2517125	
9-8	0.345	-0.25329715	0.943297153	0.4340966	

**Anexo 6 Anova de modelo mixto para Tension Superficial**

	numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	18	26835.38	<.0001
Tratamiento	8	9	7.91	0.0027

Linear mixed-effects model fit by REML

Data: rsubT1g

AIC	BIC	logLik
119.744	133.9983	-48.87202

Random effects:

Formula: ~1 | unidad

(Intercept) Residual

StdDev: 0.9230126 0.9928109

Fixed effects: Surface.Tension..mN.m. ~ Tratamiento

	Value	Std.Error	DF	t-value	p-value
(Intercept)	45.69724	0.8199967	18	55.72857	0.0000
TratamientoT2	-1.47807	1.1596504	9	-1.27459	0.2344
TratamientoT3	-0.73156	1.1596504	9	-0.63085	0.5438
TratamientoT4	1.08091	1.1596504	9	0.93210	0.3756
TratamientoT5	-0.61780	1.1596504	9	-0.53275	0.6071
TratamientoT6	-0.20618	1.1596504	9	-0.17780	0.8628
TratamientoT7	-6.76336	1.1596504	9	-5.83224	0.0002
TratamientoT8	0.35717	1.1596504	9	0.30800	0.7651
TratamientoT9	0.06720	1.1596504	9	0.05795	0.9551

Correlation:

(Intr) TrtmT2 TrtmT3 TrtmT4 TrtmT5 TrtmT6 TrtmT7 TrtmT8

TratamientoT2 -0.707

TratamientoT3 -0.707 0.500

TratamientoT4 -0.707 0.500 0.500

TratamientoT5 -0.707 0.500 0.500 0.500

TratamientoT6 -0.707 0.500 0.500 0.500 0.500

TratamientoT7 -0.707 0.500 0.500 0.500 0.500 0.500

TratamientoT8 -0.707 0.500 0.500 0.500 0.500 0.500 0.500

TratamientoT9 -0.707 0.500 0.500 0.500 0.500 0.500 0.500 0.500

Standardized Within-Group Residuals:

Min	Q1	Med	Q3	Max
-2.11794225	-0.34314792	0.05224774	0.49507053	1.39621358

Number of Observations: 36

Number of Groups: 18



**Anexo 7 Anova de modelo mixto para cunitativo de proteína método BCA**

	numDF	denDF	F-value	p-value
(Intercept)	1	18	461.5604	<.0001
Treatment	8	9	1.9480	0.1701

Linear mixed-effects model fit by REML

Data: tphsalgel2g

	AIC	BIC	logLik
	215.5083	229.7625	-96.75417

Random effects:

Formula: ~1 | unidad

	(Intercept)	Residual
StdDev:	12.2588	4.30126

Fixed effects: X.proteína.BCA ~ Treatment

	Value	Std.Error	DF	t-value	p-value
(Intercept)	61.450	8.931083	18	6.880465	0.0000
Treatment2	7.625	12.630458	9	0.603699	0.5609
Treatment3	-5.050	12.630458	9	-0.399827	0.6986
Treatment4	-20.675	12.630458	9	-1.636916	0.1361
Treatment5	-4.625	12.630458	9	-0.366178	0.7227
Treatment6	17.675	12.630458	9	1.399395	0.1952
Treatment7	20.725	12.630458	9	1.640875	0.1352
Treatment8	4.300	12.630458	9	0.340447	0.7413
Treatment9	2.600	12.630458	9	0.205852	0.8415

Correlation:

	(Intr)	Trtmn2	Trtmn3	Trtmn4	Trtmn5	Trtmn6	Trtmn7	Trtmn8
Treatment2	-0.707							
Treatment3	-0.707	0.500						
Treatment4	-0.707	0.500	0.500					
Treatment5	-0.707	0.500	0.500	0.500				
Treatment6	-0.707	0.500	0.500	0.500	0.500			
Treatment7	-0.707	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500		
Treatment8	-0.707	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	
Treatment9	-0.707	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500	0.500

Standardized Within-Group Residuals:

	Min	Q1	Med	Q3	Max
	-1.46237611	-0.46903277	0.01011087	0.64627924	1.20858716

Number of Observations: 36

Number of Groups: 18

**Anexo 8 Anova de modelo mixto para cuantitativo de proteína método OPA**

```
numDF denDF F-value p-value
(Intercept) 1 18 346.0982 <.0001
Treatment 8 9 1.1154 0.4333
```

Linear mixed-effects model fit by REML

Data: tphsalgel2g

```
AIC BIC logLik
187.9578 202.212 -82.9789
```

Random effects:

Formula: ~1 | unidad

(Intercept) Residual

StdDev: 10.30175 2.203091

Fixed effects: X.proteína.OPA ~ Treatment

```
Value Std.Error DF t-value p-value
(Intercept) 43.875 7.367256 18 5.955406 0.0000
Treatment2 7.350 10.418873 9 0.705451 0.4984
Treatment3 -0.500 10.418873 9 -0.047990 0.9628
Treatment4 -13.800 10.418873 9 -1.324519 0.2180
Treatment5 -0.175 10.418873 9 -0.016796 0.9870
Treatment6 -1.075 10.418873 9 -0.103178 0.9201
Treatment7 5.475 10.418873 9 0.525489 0.6119
Treatment8 14.850 10.418873 9 1.425298 0.1878
Treatment9 4.175 10.418873 9 0.400715 0.6980
```

Correlation:

```
(Intr) Trtmn2 Trtmn3 Trtmn4 Trtmn5 Trtmn6 Trtmn7 Trtmn8
Treatment2 -0.707
Treatment3 -0.707 0.500
Treatment4 -0.707 0.500 0.500
Treatment5 -0.707 0.500 0.500 0.500
Treatment6 -0.707 0.500 0.500 0.500 0.500
Treatment7 -0.707 0.500 0.500 0.500 0.500 0.500
Treatment8 -0.707 0.500 0.500 0.500 0.500 0.500 0.500
Treatment9 -0.707 0.500 0.500 0.500 0.500 0.500 0.500 0.500
```

Standardized Within-Group Residuals:

```
Min Q1 Med Q3 Max
-1.58317377 -0.27048586 -0.01714348 0.33661564 1.82113370
```

Number of Observations: 36

Number of Groups: 18

Analysis of Variance Table

## Anexo 9 Anova de modelo mixto para cuantitativo de proteína método Kjeldahl

Analysis of Variance Table

Response: X..de.proteína Kjelah1

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
Treatment	8	1.66610	0.208262	4.8641	0.01467 *
Residuals	9	0.38535	0.042817		

---

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Tukey multiple comparisons of means  
95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = X..de.proteína ~ Treatment, data = tphsalgel)

```
$Treatment
  diff      lwr      upr    p adj
2-1  0.050 -0.768595178  0.8685952 0.9999990
3-1 -0.075 -0.893595178  0.7435952 0.9999779
4-1  0.110 -0.708595178  0.9285952 0.9996189
5-1  0.020 -0.798595178  0.8385952 1.0000000
6-1  0.505 -0.313595178  1.3235952 0.3631647
7-1  0.815 -0.003595178  1.6335952 0.0511916
8-1  0.600 -0.218595178  1.4185952 0.2064985
9-1  0.480 -0.338595178  1.2985952 0.4162152
3-2 -0.125 -0.943595178  0.6935952 0.9990555
4-2  0.060 -0.758595178  0.8785952 0.9999960
5-2 -0.030 -0.848595178  0.7885952 1.0000000
6-2  0.455 -0.363595178  1.2735952 0.4737586
7-2  0.765 -0.053595178  1.5835952 0.0710780
8-2  0.550 -0.268595178  1.3685952 0.2801120
9-2  0.430 -0.388595178  1.2485952 0.5350310
4-3  0.185 -0.633595178  1.0035952 0.9876539
5-3  0.095 -0.723595178  0.9135952 0.9998693
6-3  0.580 -0.238595178  1.3985952 0.2336805
7-3  0.890  0.071404822  1.7085952 0.0314052
8-3  0.675 -0.143595178  1.4935952 0.1280435
9-3  0.555 -0.263595178  1.3735952 0.2718858
5-4 -0.090 -0.908595178  0.7285952 0.9999125
6-4  0.395 -0.423595178  1.2135952 0.6247641
7-4  0.705 -0.113595178  1.5235952 0.1053356
8-4  0.490 -0.328595178  1.3085952 0.3944257
9-4  0.370 -0.448595178  1.1885952 0.6894036
6-5  0.485 -0.333595178  1.3035952 0.4052279
7-5  0.795 -0.023595178  1.6135952 0.0583666
8-5  0.580 -0.238595178  1.3985952 0.2336805
9-5  0.460 -0.358595178  1.2785952 0.4619216
7-6  0.310 -0.508595178  1.1285952 0.8324886
8-6  0.095 -0.723595178  0.9135952 0.9998693
9-6 -0.025 -0.843595178  0.7935952 1.0000000
8-7 -0.215 -1.033595178  0.6035952 0.9705710
9-7 -0.335 -1.153595178  0.4835952 0.7762149
9-8 -0.120 -0.938595178  0.6985952 0.9992911
```

## Anexo 1 Anovas de los atributos y descriptores que no presentaron diferencia significativa.

### Olor-ACIDO

#### Analysis of Variance Table

Response: values

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
reduccion.Na	1	0.04713	0.047129	1.7358	0.2001
grupo	3	0.15630	0.052099	1.9188	0.1535
reduccion.Na:grupo	3	0.10744	0.035812	1.3190	0.2913
Residuals	24	0.65165	0.027152		

Call:

```
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,
    data = templ)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.26389	-0.11310	0.00000	0.09583	0.34722

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	1.361e+00	2.416e-01	5.633	8.45e-06 ***
reduccion.Na	-2.632e-17	5.211e-03	0.000	1.0000
grupoB	-4.425e-01	3.417e-01	-1.295	0.2077
grupoSF	-6.000e-01	3.417e-01	-1.756	0.0919 .
grupoSR	-4.167e-02	3.417e-01	-0.122	0.9040
reduccion.Na:grupoB	5.952e-03	7.369e-03	0.808	0.4272
reduccion.Na:grupoSF	1.056e-02	7.369e-03	1.432	0.1649
reduccion.Na:grupoSR	-2.778e-03	7.369e-03	-0.377	0.7095

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.1648 on 24 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.323, Adjusted R-squared: 0.1255

F-statistic: 1.636 on 7 and 24 DF, p-value: 0.1734

### Olor-AHUMADA

#### Analysis of Variance Table

Response: values

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
reduccion.Na	1	0.00333	0.003332	0.0308	0.8622
grupo	3	0.72847	0.242825	2.2431	0.1092
reduccion.Na:grupo	3	0.38762	0.129207	1.1935	0.3333
Residuals	24	2.59814	0.108256		

Call:

```
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,
    data = templ)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.97817	-0.19444	0.03313	0.19444	0.54167

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	1.861e+00	4.824e-01	3.858	0.000754 ***
reduccion.Na	-2.639e-17	1.040e-02	0.000	1.000000
grupoB	3.770e-02	6.823e-01	0.055	0.956394
grupoSF	-3.139e-01	6.823e-01	-0.460	0.649613
grupoSR	6.833e-01	6.823e-01	1.002	0.326552
reduccion.Na:grupoB	7.540e-03	1.471e-02	0.512	0.613052

```

reduccion.Na:grupoSF 1.083e-02 1.471e-02 0.736 0.468718
reduccion.Na:grupoSR -1.472e-02 1.471e-02 -1.001 0.327032
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.329 on 24 degrees of freedom
Multiple R-squared: 0.3011, Adjusted R-squared: 0.09728
F-statistic: 1.477 on 7 and 24 DF, p-value: 0.2225

```

### Olor-CARNICO

#### Analysis of Variance Table

Response: values

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
reduccion.Na	1	0.13937	0.139371	3.6806	0.06702 .
grupo	3	0.20245	0.067483	1.7821	0.17745
reduccion.Na:grupo	3	0.35577	0.118589	3.1318	0.04426 *
Residuals	24	0.90880	0.037867		

```

---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

Call:

```

lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,
    data = temp1)

```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.44444	-0.10069	0.01389	0.10694	0.36111

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	3.472e+00	2.853e-01	12.169	9.35e-12 ***
reduccion.Na	-4.588e-17	6.154e-03	0.000	1.0000
grupoB	-9.167e-01	4.035e-01	-2.272	0.0324 *
grupoSF	-6.056e-01	4.035e-01	-1.501	0.1465
grupoSR	6.389e-02	4.035e-01	0.158	0.8755
reduccion.Na:grupoB	1.944e-02	8.702e-03	2.234	0.0350 *
reduccion.Na:grupoSF	9.444e-03	8.702e-03	1.085	0.2886
reduccion.Na:grupoSR	-5.278e-03	8.702e-03	-0.606	0.5499

```

---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

```

Residual standard error: 0.1946 on 24 degrees of freedom
Multiple R-squared: 0.4343, Adjusted R-squared: 0.2693
F-statistic: 2.632 on 7 and 24 DF, p-value: 0.03616

```

### Olor-COND.JAMON

#### Analysis of Variance Table

Response: values

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
reduccion.Na	1	0.23139	0.231394	2.7041	0.1131
grupo	3	0.22135	0.073782	0.8622	0.4741
reduccion.Na:grupo	3	0.36219	0.120731	1.4109	0.2640
Residuals	24	2.05374	0.085573		

Call:

```

lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,
    data = temp1)

```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.59960	-0.16667	-0.00536	0.19097	0.42778

Coefficients:

```

              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)    2.833e+00  4.289e-01   6.606 7.84e-07 ***
reduccion.Na  -5.858e-17  9.251e-03   0.000  1.000
grupoB         -7.544e-01  6.066e-01  -1.244  0.226
grupoSF        -6.889e-01  6.066e-01  -1.136  0.267
grupoSR         1.046e-01  6.066e-01   0.172  0.865
reduccion.Na:grupoB  1.996e-02  1.308e-02   1.526  0.140
reduccion.Na:grupoSF 1.361e-02  1.308e-02   1.040  0.309
reduccion.Na:grupoSR -3.148e-03  1.308e-02  -0.241  0.812
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.2925 on 24 degrees of freedom
Multiple R-squared:  0.2841,    Adjusted R-squared:  0.07527
F-statistic:  1.36 on 7 and 24 DF,  p-value: 0.2667

```

### Olor-DULCE

#### Analysis of Variance Table

Response: values

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
reduccion.Na	1	0.01192	0.011919	0.2591	0.6154
grupo	3	0.14900	0.049666	1.0799	0.3764
reduccion.Na:grupo	3	0.02182	0.007275	0.1582	0.9234
Residuals	24	1.10382	0.045993		

Call:

```
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,
    data = templ)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.39603	-0.08333	-0.03611	0.09028	0.43413

Coefficients:

```

              Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)    1.639e+00  3.145e-01   5.212 2.43e-05 ***
reduccion.Na    2.845e-17  6.782e-03   0.000  1.000
grupoB          1.095e-01  4.447e-01   0.246  0.808
grupoSF        -3.056e-01  4.447e-01  -0.687  0.499
grupoSR        -1.583e-01  4.447e-01  -0.356  0.725
reduccion.Na:grupoB -3.175e-04  9.591e-03  -0.033  0.974
reduccion.Na:grupoSF 5.556e-03  9.591e-03   0.579  0.568
reduccion.Na:grupoSR 1.667e-03  9.591e-03   0.174  0.863
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

Residual standard error: 0.2145 on 24 degrees of freedom  
Multiple R-squared: 0.142, Adjusted R-squared: -0.1082  
F-statistic: 0.5676 on 7 and 24 DF, p-value: 0.7747

### Olor-ESPECIADO

#### Analysis of Variance Table

Response: values

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
reduccion.Na	1	0.00855	0.008546	0.1380	0.71353
grupo	3	0.08346	0.027822	0.4493	0.72008
reduccion.Na:grupo	3	0.44571	0.148569	2.3994	0.09281
Residuals	24	1.48607	0.061919		

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Call:

```
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,
```

```

data = templ)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.49444 -0.12440  0.05351  0.08562  0.47381

Coefficients:
            Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)  2.083e+00  3.649e-01  5.710 6.98e-06 ***
reduccion.Na -6.894e-17  7.869e-03  0.000 1.0000
grupoB       -7.726e-01  5.160e-01 -1.497  0.1473
grupoSF      3.194e-01  5.160e-01  0.619  0.5417
grupoSR      3.065e-01  5.160e-01  0.594  0.5581
reduccion.Na:grupoB  1.909e-02  1.113e-02  1.715  0.0992 .
reduccion.Na:grupoSF -5.556e-03  1.113e-02 -0.499  0.6222
reduccion.Na:grupoSR -7.685e-03  1.113e-02 -0.691  0.4964
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.2488 on 24 degrees of freedom
Multiple R-squared: 0.2657, Adjusted R-squared: 0.05153
F-statistic: 1.241 on 7 and 24 DF, p-value: 0.3202

```

Olor-GRASO  
Analysis of Variance Table

```

Response: values
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
reduccion.Na  1 0.00707 0.007069  0.1730 0.6811
grupo        3 0.26683 0.088945  2.1773 0.1169
reduccion.Na:grupo  3 0.13984 0.046612  1.1410 0.3526
Residuals    24 0.98041 0.040850

```

```

Call:
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,
    data = templ)

```

```

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.45873 -0.12569  0.04167  0.09514  0.30833

Coefficients:
            Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)  1.583e+00  2.964e-01  5.343 1.75e-05 ***
reduccion.Na -1.443e-17  6.391e-03  0.000 1.000
grupoB       2.937e-02  4.191e-01  0.070  0.945
grupoSF     -6.806e-01  4.191e-01 -1.624  0.117
grupoSR      1.111e-02  4.191e-01  0.027  0.979
reduccion.Na:grupoB -1.071e-03  9.039e-03 -0.119  0.907
reduccion.Na:grupoSF  1.111e-02  9.039e-03  1.229  0.231
reduccion.Na:grupoSR -4.722e-03  9.039e-03 -0.522  0.606
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

```

Residual standard error: 0.2021 on 24 degrees of freedom
Multiple R-squared: 0.2968, Adjusted R-squared: 0.09166
F-statistic: 1.447 on 7 and 24 DF, p-value: 0.2332

```

Olor-SALADO  
Analysis of Variance Table

```

Response: values
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
reduccion.Na  1 0.09960 0.099604  3.0339 0.09435 .
grupo        3 0.18313 0.061043  1.8593 0.16347

```

```

reduccion.Na:grupo 3 0.22540 0.075133 2.2885 0.10412
Residuals          24 0.78793 0.032830
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Call:
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,
    data = temp1)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.39683 -0.06389 -0.02440  0.02847  0.42857

Coefficients:
                Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)      2.306e+00  2.657e-01   8.678 7.26e-09 ***
reduccion.Na     -6.203e-17  5.730e-03   0.000  1.0000
grupoB           -8.294e-01  3.757e-01  -2.207  0.0371 *
grupoSF          -3.194e-01  3.757e-01  -0.850  0.4036
grupoSR          -1.194e-01  3.757e-01  -0.318  0.7533
reduccion.Na:grupoB  1.746e-02  8.103e-03   2.155  0.0414 *
reduccion.Na:grupoSF 4.167e-03  8.103e-03   0.514  0.6118
reduccion.Na:grupoSR -1.667e-03  8.103e-03  -0.206  0.8388
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.1812 on 24 degrees of freedom
Multiple R-squared: 0.3921, Adjusted R-squared: 0.2147
F-statistic: 2.211 on 7 and 24 DF, p-value: 0.06967

```

Sabor-ACIDO  
Analysis of Variance Table

```

Response: values
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
reduccion.Na  1 0.00512 0.005116  0.2705 0.60777
grupo        3 0.08552 0.028507  1.5071 0.23807
reduccion.Na:grupo  3 0.13627 0.045423  2.4014 0.09262
Residuals    24 0.45396 0.018915
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Call:
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,
    data = temp1)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.18452 -0.07292 -0.04682  0.06528  0.29167

Coefficients:
                Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)      1.333e+00  2.017e-01   6.612 7.72e-07 ***
reduccion.Na     1.331e-17  4.349e-03   0.000  1.0000
grupoB           5.357e-01  2.852e-01   1.878  0.0725 .
grupoSF          3.889e-02  2.852e-01   0.136  0.8927
grupoSR          -9.722e-02  2.852e-01  -0.341  0.7361
reduccion.Na:grupoB -1.091e-02  6.151e-03  -1.774  0.0887 .
reduccion.Na:grupoSF 2.222e-03  6.151e-03   0.361  0.7210
reduccion.Na:grupoSR 4.167e-03  6.151e-03   0.677  0.5046
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.1375 on 24 degrees of freedom
Multiple R-squared: 0.3333, Adjusted R-squared: 0.1388
F-statistic: 1.714 on 7 and 24 DF, p-value: 0.1532

```

Sabor-AHUMADO  
Analysis of Variance Table

Response: values

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
reduccion.Na	1	0.04235	0.042353	0.3326	0.5695
grupo	3	0.46299	0.154329	1.2121	0.3267
reduccion.Na:grupo	3	0.55634	0.185446	1.4564	0.2514
Residuals	24	3.05585	0.127327		

Call:

lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,  
data = templ)

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.75040	-0.24444	0.05099	0.23333	0.64444

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	1.861e+00	5.232e-01	3.557	0.0016 **
reduccion.Na	-3.255e-17	1.128e-02	0.000	1.0000
grupoB	-6.786e-02	7.399e-01	-0.092	0.9277
grupoSF	-2.833e-01	7.399e-01	-0.383	0.7052
grupoSR	9.389e-01	7.399e-01	1.269	0.2167
reduccion.Na:grupoB	5.873e-03	1.596e-02	0.368	0.7161
reduccion.Na:grupoSF	4.444e-03	1.596e-02	0.279	0.7830
reduccion.Na:grupoSR	-2.333e-02	1.596e-02	-1.462	0.1567

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.3568 on 24 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.2578, Adjusted R-squared: 0.04138

F-statistic: 1.191 on 7 and 24 DF, p-value: 0.3449

Sabor-ASTRINGENTE  
Analysis of Variance Table

Response: values

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
reduccion.Na	1	0.02261	0.022613	0.4996	0.4865
grupo	3	0.09463	0.031544	0.6970	0.5630
reduccion.Na:grupo	3	0.02572	0.008574	0.1894	0.9025
Residuals	24	1.08624	0.045260		

Call:

lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,  
data = templ)

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.33333	-0.07801	-0.01811	0.08460	0.33333

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	2.222e+00	3.119e-01	7.124	2.31e-07 ***
reduccion.Na	-1.673e-18	6.728e-03	0.000	1.000
grupoB	4.851e-02	4.412e-01	0.110	0.913
grupoSF	-1.083e-01	4.412e-01	-0.246	0.808
grupoSR	2.009e-01	4.412e-01	0.455	0.653
reduccion.Na:grupoB	-2.103e-03	9.514e-03	-0.221	0.827
reduccion.Na:grupoSF	-8.333e-04	9.514e-03	-0.088	0.931
reduccion.Na:grupoSR	-6.574e-03	9.514e-03	-0.691	0.496

Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.2127 on 24 degrees of freedom  
Multiple R-squared: 0.1163, Adjusted R-squared: -0.1414  
F-statistic: 0.4513 on 7 and 24 DF, p-value: 0.8595

### Sabor-COND.JAMON

#### Analysis of Variance Table

Response: values

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
reduccion.Na	1	0.07865	0.078645	1.4830	0.2351
grupo	3	0.45320	0.151066	2.8486	0.0587 .
reduccion.Na:grupo	3	0.09288	0.030960	0.5838	0.6314
Residuals	24	1.27277	0.053032		

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Call:

```
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,  
    data = temp1)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.54831	-0.09921	0.08175	0.10937	0.32560

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	3.044e+00	3.377e-01	9.014	3.59e-09 ***
reduccion.Na	-4.326e-17	7.282e-03	0.000	1.0000
grupoB	-2.358e-01	4.775e-01	-0.494	0.6259
grupoSF	-8.749e-01	4.775e-01	-1.832	0.0794 .
grupoSR	-3.393e-01	4.775e-01	-0.710	0.4843
reduccion.Na:grupoB	2.887e-03	1.030e-02	0.280	0.7816
reduccion.Na:grupoSF	1.257e-02	1.030e-02	1.220	0.2341
reduccion.Na:grupoSR	2.280e-03	1.030e-02	0.221	0.8267

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.2303 on 24 degrees of freedom  
Multiple R-squared: 0.3292, Adjusted R-squared: 0.1336  
F-statistic: 1.683 on 7 and 24 DF, p-value: 0.1609

### Sabor-DULCE

#### Analysis of Variance Table

Response: values

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
reduccion.Na	1	0.02331	0.023310	0.7829	0.3850
grupo	3	0.18452	0.061505	2.0657	0.1314
reduccion.Na:grupo	3	0.01596	0.005321	0.1787	0.9098
Residuals	24	0.71457	0.029774		

Call:

```
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,  
    data = temp1)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.291667	-0.131845	0.003704	0.126389	0.263889

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	1.611e+00	2.530e-01	6.368	1.39e-06 ***

```

reduccion.Na      -6.413e-19  5.457e-03  0.000  1.000
grupoB            1.075e-01  3.578e-01  0.301  0.766
grupoSF          -9.722e-02  3.578e-01 -0.272  0.788
grupoSR          -1.296e-02  3.578e-01 -0.036  0.971
reduccion.Na:grupoB  2.063e-03  7.717e-03  0.267  0.791
reduccion.Na:grupoSF  5.556e-03  7.717e-03  0.720  0.479
reduccion.Na:grupoSR  2.037e-03  7.717e-03  0.264  0.794
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.1726 on 24 degrees of freedom
Multiple R-squared: 0.2385, Adjusted R-squared: 0.01638
F-statistic: 1.074 on 7 and 24 DF, p-value: 0.4099

```

### Sabor-ESPECIADO

#### Analysis of Variance Table

Response: values

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
reduccion.Na	1	0.00296	0.002957	0.0583	0.81130
grupo	3	0.40465	0.134885	2.6581	0.07118 .
reduccion.Na:grupo	3	0.21245	0.070817	1.3956	0.26834
Residuals	24	1.21786	0.050744		

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Call:

```
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,
    data = templ)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.42685	-0.06458	0.02983	0.07986	0.52407

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	1.944e+00	3.303e-01	5.887	4.5e-06 ***
reduccion.Na	-1.152e-17	7.123e-03	0.000	1.000
grupoB	-1.635e-01	4.671e-01	-0.350	0.729
grupoSF	5.778e-01	4.671e-01	1.237	0.228
grupoSR	2.676e-01	4.671e-01	0.573	0.572
reduccion.Na:grupoB	1.036e-02	1.007e-02	1.028	0.314
reduccion.Na:grupoSF	-9.444e-03	1.007e-02	-0.937	0.358
reduccion.Na:grupoSR	-4.352e-03	1.007e-02	-0.432	0.670

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.2253 on 24 degrees of freedom  
Multiple R-squared: 0.3374, Adjusted R-squared: 0.1441  
F-statistic: 1.746 on 7 and 24 DF, p-value: 0.1457

### Sabor-GRASO

#### Analysis of Variance Table

Response: values

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
reduccion.Na	1	0.03535	0.035352	0.7481	0.39564
grupo	3	0.51025	0.170084	3.5993	0.02808 *
reduccion.Na:grupo	3	0.24466	0.081553	1.7258	0.18843
Residuals	24	1.13413	0.047255		

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Call:

```
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,
```

```

data = templ)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.41627 -0.09745 -0.00516  0.13079  0.45556

Coefficients:
            Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)  1.639e+00  3.187e-01  5.142  2.9e-05 ***
reduccion.Na -1.405e-17  6.874e-03  0.000  1.000
grupoB       6.790e-01  4.508e-01  1.506  0.145
grupoSF     -5.361e-01  4.508e-01 -1.189  0.246
grupoSR      1.148e-01  4.508e-01  0.255  0.801
reduccion.Na:grupoB -1.282e-02  9.722e-03 -1.318  0.200
reduccion.Na:grupoSF  8.056e-03  9.722e-03  0.829  0.415
reduccion.Na:grupoSR -7.130e-03  9.722e-03 -0.733  0.470
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.2174 on 24 degrees of freedom
Multiple R-squared: 0.4107, Adjusted R-squared: 0.2388
F-statistic: 2.389 on 7 and 24 DF, p-value: 0.05269

```

### Sabor-JABON

Analysis of Variance Table

```

Response: values
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
reduccion.Na  1  0.01372  0.013717  0.1056 0.7481
grupo        3  0.32215  0.107382  0.8263 0.4923
reduccion.Na:grupo  3  0.46235  0.154115  1.1860 0.3360
Residuals    24  3.11876  0.129948

```

```

Call:
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,
    data = templ)

```

```

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.59074 -0.21088 -0.08704  0.17917  0.69074

```

```

Coefficients:
            Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)  5.000e-01  5.286e-01  0.946  0.354
reduccion.Na  3.659e-17  1.140e-02  0.000  1.000
grupoB       7.722e-01  7.475e-01  1.033  0.312
grupoSF     -2.361e-01  7.475e-01 -0.316  0.755
grupoSR     -3.093e-01  7.475e-01 -0.414  0.683
reduccion.Na:grupoB -1.500e-02  1.612e-02 -0.930  0.361
reduccion.Na:grupoSF  1.111e-02  1.612e-02  0.689  0.497
reduccion.Na:grupoSR  1.130e-02  1.612e-02  0.701  0.490

```

```

Residual standard error: 0.3605 on 24 degrees of freedom
Multiple R-squared: 0.2038, Adjusted R-squared: -0.02845
F-statistic: 0.8775 on 7 and 24 DF, p-value: 0.5384

```

### Sabor-METALICO

Analysis of Variance Table

```

Response: values
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
reduccion.Na  1  0.00075  0.000751  0.0142 0.9061
grupo        3  0.17373  0.057909  1.0959 0.3700
reduccion.Na:grupo  3  0.11505  0.038351  0.7258 0.5466
Residuals    24  1.26824  0.052843

```

```

Call:
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,

```

```

data = templ)

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.37778 -0.11310 -0.01806  0.06736  0.52315

Coefficients:
            Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)  1.250e+00  3.371e-01   3.708  0.0011 **
reduccion.Na  2.346e-17  7.269e-03   0.000  1.0000
grupoB       4.603e-01  4.767e-01   0.966  0.3438
grupoSF      -5.000e-02  4.767e-01  -0.105  0.9173
grupoSR       2.315e-02  4.767e-01   0.049  0.9617
reduccion.Na:grupoB -9.325e-03  1.028e-02  -0.907  0.3734
reduccion.Na:grupoSF  3.889e-03  1.028e-02   0.378  0.7085
reduccion.Na:grupoSR  3.704e-03  1.028e-02   0.360  0.7218
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.2299 on 24 degrees of freedom
Multiple R-squared:  0.1859,    Adjusted R-squared: -0.05159
F-statistic: 0.7827 on 7 and 24 DF,  p-value: 0.6082

```

Sabor-PICANTE  
Analysis of Variance Table

```

Response: values
      Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
reduccion.Na  1 0.00001 0.000008  0.0002 0.98807
grupo        3 0.26647 0.088824  2.6899 0.06891 .
reduccion.Na:grupo  3 0.02118 0.007061  0.2138 0.88582
Residuals    24 0.79251 0.033021
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

```

Call:
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,
    data = templ)

```

```

Residuals:
    Min       1Q   Median       3Q      Max
-0.22222 -0.13802 -0.00712  0.11606  0.33056

Coefficients:
            Estimate Std. Error t value Pr(>|t|)
(Intercept)  1.306e+00  2.664e-01   4.900 5.36e-05 ***
reduccion.Na -4.144e-17  5.746e-03   0.000  1.000
grupoB      -1.990e-01  3.768e-01  -0.528  0.602
grupoSF     -1.389e-02  3.768e-01  -0.037  0.971
grupoSR     -1.361e-01  3.768e-01  -0.361  0.721
reduccion.Na:grupoB  3.785e-03  8.127e-03   0.466  0.646
reduccion.Na:grupoSF -1.389e-03  8.127e-03  -0.171  0.866
reduccion.Na:grupoSR -2.222e-03  8.127e-03  -0.273  0.787
---
Signif. codes:  0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

```

Residual standard error: 0.1817 on 24 degrees of freedom
Multiple R-squared:  0.2663,    Adjusted R-squared: 0.05232
F-statistic: 1.245 on 7 and 24 DF,  p-value: 0.3183

```

Textura-BLANDO  
Analysis of Variance Table

Response: values

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
reduccion.Na	1	0.06184	0.061839	4.3015	0.04897 *
grupo	3	0.06112	0.020373	1.4172	0.26219
reduccion.Na:grupo	3	0.05045	0.016816	1.1697	0.34191
Residuals	24	0.34502	0.014376		

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Call:  
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,  
data = templ)

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.214683	-0.047817	-0.009987	0.031250	0.314815

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	3.028e+00	1.758e-01	17.222	5.17e-15 ***
reduccion.Na	-1.160e-17	3.792e-03	0.000	1.000
grupoB	-1.627e-02	2.486e-01	-0.065	0.948
grupoSF	-2.639e-01	2.486e-01	-1.061	0.299
grupoSR	-2.130e-01	2.486e-01	-0.857	0.400
reduccion.Na:grupoB	9.127e-04	5.362e-03	0.170	0.866
reduccion.Na:grupoSF	8.333e-03	5.362e-03	1.554	0.133
reduccion.Na:grupoSR	6.481e-03	5.362e-03	1.209	0.239

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.1199 on 24 degrees of freedom  
Multiple R-squared: 0.3345, Adjusted R-squared: 0.1404  
F-statistic: 1.723 on 7 and 24 DF, p-value: 0.151

Textura-COHESIVO  
Analysis of Variance Table

Response: values

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
reduccion.Na	1	0.00115	0.001148	0.0266	0.8718
grupo	3	0.04804	0.016015	0.3709	0.7747
reduccion.Na:grupo	3	0.08023	0.026743	0.6194	0.6093
Residuals	24	1.03624	0.043177		

Call:  
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,  
data = templ)

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.43889	-0.08333	0.04722	0.08988	0.33889

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	2.028e+00	3.047e-01	6.655	6.96e-07 ***
reduccion.Na	-5.017e-17	6.571e-03	0.000	1.000
grupoB	-5.159e-03	4.309e-01	-0.012	0.991
grupoSF	-2.944e-01	4.309e-01	-0.683	0.501
grupoSR	3.722e-01	4.309e-01	0.864	0.396
reduccion.Na:grupoB	3.571e-04	9.293e-03	0.038	0.970
reduccion.Na:grupoSF	5.000e-03	9.293e-03	0.538	0.595
reduccion.Na:grupoSR	-7.500e-03	9.293e-03	-0.807	0.428

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.2078 on 24 degrees of freedom  
Multiple R-squared: 0.111, Adjusted R-squared: -0.1483

F-statistic: 0.4282 on 7 and 24 DF, p-value: 0.8749

### Textura-ELASTICO

#### Analysis of Variance Table

Response: values

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
reduccion.Na	1	0.00010	0.0001008	0.0067	0.9353
grupo	3	0.08029	0.0267621	1.7850	0.1769
reduccion.Na:grupo	3	0.00681	0.0022686	0.1513	0.9278
Residuals	24	0.35983	0.0149928		

Call:

```
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,  
    data = templ)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.19167	-0.11111	0.00000	0.07986	0.18611

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	1.333e+00	1.795e-01	7.426	1.15e-07 ***
reduccion.Na	9.206e-18	3.872e-03	0.000	1.000
grupoB	1.052e-01	2.539e-01	0.414	0.682
grupoSF	4.167e-02	2.539e-01	0.164	0.871
grupoSR	2.250e-01	2.539e-01	0.886	0.384
reduccion.Na:grupoB	1.984e-04	5.476e-03	0.036	0.971
reduccion.Na:grupoSF	1.389e-03	5.476e-03	0.254	0.802
reduccion.Na:grupoSR	-2.222e-03	5.476e-03	-0.406	0.688

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.1224 on 24 degrees of freedom

Multiple R-squared: 0.1951, Adjusted R-squared: -0.03972

F-statistic: 0.8308 on 7 and 24 DF, p-value: 0.5722

### Textura-FIBROSO

#### Analysis of Variance Table

Response: values

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
reduccion.Na	1	0.01736	0.017361	0.2350	0.63225
grupo	3	0.82716	0.275720	3.7319	0.02474 *
reduccion.Na:grupo	3	0.25270	0.084234	1.1401	0.35292
Residuals	24	1.77315	0.073881		

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Call:

```
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,  
    data = templ)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.65278	-0.22222	0.05556	0.18750	0.31944

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	2.556e+00	3.986e-01	6.412	1.25e-06 ***
reduccion.Na	-4.788e-17	8.595e-03	0.000	1.000
grupoB	-5.139e-01	5.636e-01	-0.912	0.371
grupoSF	-2.639e-01	5.636e-01	-0.468	0.644
grupoSR	2.639e-01	5.636e-01	0.468	0.644

```

reduccion.Na:grupoB 8.333e-03 1.216e-02 0.686 0.500
reduccion.Na:grupoSF -2.778e-03 1.216e-02 -0.229 0.821
reduccion.Na:grupoSR -1.389e-02 1.216e-02 -1.143 0.264
---
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.2718 on 24 degrees of freedom
Multiple R-squared: 0.3823, Adjusted R-squared: 0.2021
F-statistic: 2.122 on 7 and 24 DF, p-value: 0.08024

```

### Textura-FRIABLE

#### Analysis of Variance Table

Response: values

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
reduccion.Na	1	0.01406	0.014062	0.3995	0.53335
grupo	3	0.35986	0.119952	3.4073	0.03379 *
reduccion.Na:grupo	3	0.03571	0.011902	0.3381	0.79794
Residuals	24	0.84491	0.035204		

```

---
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

Call:

```

lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,
    data = templ)

```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.46389	-0.08264	-0.02778	0.07083	0.36944

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	2.306e+00	2.751e-01	8.380	1.37e-08 ***
reduccion.Na	9.248e-18	5.933e-03	0.000	1.000
grupoB	2.472e-01	3.891e-01	0.635	0.531
grupoSF	-9.722e-02	3.891e-01	-0.250	0.805
grupoSR	2.278e-01	3.891e-01	0.585	0.564
reduccion.Na:grupoB	-5.556e-04	8.391e-03	-0.066	0.948
reduccion.Na:grupoSF	6.944e-03	8.391e-03	0.828	0.416
reduccion.Na:grupoSR	1.111e-03	8.391e-03	0.132	0.896

```

---
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

```

```

Residual standard error: 0.1876 on 24 degrees of freedom
Multiple R-squared: 0.3265, Adjusted R-squared: 0.1301
F-statistic: 1.662 on 7 and 24 DF, p-value: 0.1663

```

### Textura-GRASO

#### Analysis of Variance Table

Response: values

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
reduccion.Na	1	0.00418	0.0041765	0.1837	0.6720
grupo	3	0.02408	0.0080277	0.3531	0.7872
reduccion.Na:grupo	3	0.02130	0.0071013	0.3124	0.8162
Residuals	24	0.54556	0.0227318		

Call:

```

lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,
    data = templ)

```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.19444	-0.10347	0.01885	0.07500	0.22302

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	1.306e+00	2.211e-01	5.906	4.3e-06 ***
reduccion.Na	-1.223e-17	4.768e-03	0.000	1.000
grupoB	5.238e-02	3.126e-01	0.168	0.868
grupoSF	-2.528e-01	3.126e-01	-0.809	0.427
grupoSR	-3.611e-02	3.126e-01	-0.116	0.909
reduccion.Na:grupoB	-6.349e-04	6.743e-03	-0.094	0.926
reduccion.Na:grupoSF	5.000e-03	6.743e-03	0.742	0.466
reduccion.Na:grupoSR	-2.778e-04	6.743e-03	-0.041	0.967

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.1508 on 24 degrees of freedom  
Multiple R-squared: 0.08328, Adjusted R-squared: -0.1841  
F-statistic: 0.3115 on 7 and 24 DF, p-value: 0.9416

### Textura-HUMEDAD

Analysis of Variance Table

Response: values

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
reduccion.Na	1	0.00001	0.000006	0.0004	0.98507
grupo	3	0.22062	0.073539	4.1734	0.01637 *
reduccion.Na:grupo	3	0.06871	0.022905	1.2999	0.29738
Residuals	24	0.42290	0.017621		

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Call:  
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,  
data = temp1)

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.24444	-0.05556	0.01389	0.05903	0.31667

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	2.333e+00	1.946e-01	11.988	1.28e-11 ***
reduccion.Na	-7.506e-18	4.198e-03	0.000	1.000
grupoB	-1.631e-01	2.753e-01	-0.593	0.559
grupoSF	-4.028e-01	2.753e-01	-1.463	0.156
grupoSR	3.167e-01	2.753e-01	1.150	0.261
reduccion.Na:grupoB	7.143e-04	5.936e-03	0.120	0.905
reduccion.Na:grupoSF	5.556e-03	5.936e-03	0.936	0.359
reduccion.Na:grupoSR	-6.111e-03	5.936e-03	-1.029	0.314

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.1327 on 24 degrees of freedom  
Multiple R-squared: 0.4062, Adjusted R-squared: 0.2331  
F-statistic: 2.346 on 7 and 24 DF, p-value: 0.05639

### Textura-JUGOSIDAD

Analysis of Variance Table

Response: values

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
reduccion.Na	1	0.01564	0.015642	0.5595	0.4617
grupo	3	0.10480	0.034932	1.2496	0.3139
reduccion.Na:grupo	3	0.15322	0.051075	1.8270	0.1692
Residuals	24	0.67092	0.027955		

Call:

```
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,
    data = temp1)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.29841	-0.11111	0.00833	0.10843	0.42381

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	2.556e+00	2.452e-01	10.424	2.17e-10 ***
reduccion.Na	-2.974e-17	5.287e-03	0.000	1.0000
grupoB	-1.929e-01	3.467e-01	-0.556	0.5832
grupoSF	-6.778e-01	3.467e-01	-1.955	0.0623 .
grupoSR	1.787e-01	3.467e-01	0.515	0.6110
reduccion.Na:grupoB	1.706e-03	7.477e-03	0.228	0.8214
reduccion.Na:grupoSF	1.167e-02	7.477e-03	1.560	0.1318
reduccion.Na:grupoSR	-5.463e-03	7.477e-03	-0.731	0.4721

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.1672 on 24 degrees of freedom  
Multiple R-squared: 0.2897, Adjusted R-squared: 0.08255  
F-statistic: 1.398 on 7 and 24 DF, p-value: 0.2514

### Textura-MASTICABLE

Analysis of Variance Table

Response: values

	Df	Sum Sq	Mean Sq	F value	Pr(>F)
reduccion.Na	1	0.08330	0.083302	2.4470	0.13084
grupo	3	0.43048	0.143495	4.2152	0.01575 *
reduccion.Na:grupo	3	0.07433	0.024777	0.7278	0.54540
Residuals	24	0.81701	0.034042		

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Call:

```
lm(formula = values ~ reduccion.Na + grupo + reduccion.Na:grupo,
    data = temp1)
```

Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-0.38056	-0.11111	-0.00833	0.11111	0.26825

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t )
(Intercept)	2.778e+00	2.705e-01	10.268	2.93e-10 ***
reduccion.Na	2.612e-21	5.835e-03	0.000	1.000
grupoB	-6.984e-02	3.826e-01	-0.183	0.857
grupoSF	-3.139e-01	3.826e-01	-0.820	0.420
grupoSR	2.111e-01	3.826e-01	0.552	0.586
reduccion.Na:grupoB	8.254e-03	8.251e-03	1.000	0.327
reduccion.Na:grupoSF	9.444e-03	8.251e-03	1.145	0.264
reduccion.Na:grupoSR	5.556e-04	8.251e-03	0.067	0.947

---  
Signif. codes: 0 '\*\*\*' 0.001 '\*\*' 0.01 '\*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

Residual standard error: 0.1845 on 24 degrees of freedom  
Multiple R-squared: 0.4186, Adjusted R-squared: 0.249  
F-statistic: 2.468 on 7 and 24 DF, p-value: 0.04659

