**universidad
de león**

Facultad de Veterinaria

**Departamento de Higiene y Tecnología de los
Alimentos**

**Evaluación de diversas características
responsables de la calidad de
los chorizos elaborados en México**

**Memoria presentada por
Roberto González Tenorio**

**Para obtener el grado de
Doctor en Ciencia y Tecnología de los Alimentos**

**Director
Dr. Javier Mateo Oyagüe**

**Codirectores
Dra. Irma Caro Canales
Dr. Alfonso Totosaús Sánchez**

León, España. Octubre 2011

Esta Tesis Doctoral estuvo financiada mediante los fondos obtenidos de:

Beca del Programa de Mejoramiento del Profesorado (PROMEP) que otorga la Secretaría de Educación Pública (SEP) mediante la Subsecretaría de Educación Superior (SES), México. Convocatoria 2008. Folio No. UAEH-112.

Recursos de apoyo a la investigación del Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de León.

AGRADECIMIENTOS:

A mis directores de Tesis: Dr. Javier Mateo Oyagüe, Dra. Irma Caro Canales y Dr. Alfonso Totosaús Sánchez, por brindarme la confianza y la oportunidad de iniciarme y conducirme en el campo de la investigación, por sus valiosos e invaluable conocimientos recibidos durante este tiempo. En especial al Dr. Javier Mateo y a la Dra. Irma Caro, quienes más que mi directores se han convertido en grandes amigos y de quienes he recibido en todo momento mucho más que un gran apoyo profesional, por sus invaluable enseñanzas, ayuda en diversos ámbitos y su amistad, muchas gracias.

A todos los profesores del Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos que en su momento contribuyeron a mi formación profesional, en especial a los doctores: José María Zumalacárregui, María Mercedes López, José María Fresno, María Josefa González, Miguel Prieto y María Luisa Sierra.

A los profesores doctores, personal técnico y administrativo de la Universidad de León por su apoyo en distintos ámbitos, por la amistad y buenos momentos, en especial a: Bernardo, Montse, Chema Castro, María Eugenia, Carlos Alonso, Leticia, Julio, Tania, Eva María, Araceli, Dolores y Mercedes.

A mis compañeros y amigos del Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos por los momentos compartidos que hicieron muy grata mi estancia en España: Ana, Sergio, Wilmar, Aida, Teresa, Domingo, Noelia, Ricardo, Bettit, Dafne, Patricia...

A la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo y en particular al **Instituto de Ciencias Agropecuarias** por su contribución a mi formación profesional.

A mi familia: Marisol, Diana Yael, Roberto Uriel y Ángel Benjamín, por ser la fuerza que motiva a seguir siempre adelante. A mis hermanos Arturo, Oscar y Rosa María por estar siempre que se ha necesitado de su colaboración y apoyo.

A mis padres

Lilia Tenorio Lemus

Pedro González Ramírez⁺

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	1
1 INTRODUCCIÓN	3
1.1 EL CHORIZO ELABORADO EN MÉXICO	3
1.1.1 <i>Perspectiva histórica</i>	3
1.1.2 <i>Producción y consumo de derivados cárnicos en México</i>	6
1.1.3 <i>El chorizo en México</i>	7
1.1.3.1 Características generales del chorizo en México.....	7
1.1.3.2 Proceso de elaboración y comercialización del chorizo en México.....	10
1.1.4 <i>Los embutidos frescos y los crudos curados ¿Es el chorizo comercializado en México un embutido fresco o un embutido crudo curado?</i>	13
1.1.4.1 Embutidos frescos.....	13
1.1.4.2 Embutidos crudos curados.....	14
1.1.4.3 ¿Es el chorizo mexicano un embutido fresco o un embutido crudo curado?	16
1.2 PROPIEDADES SENSORIALES DE LOS EMBUTIDOS FRESCOS Y CRUDOS CURADOS.....	17
1.3 MATERIAS PRIMAS UTILIZADAS EN LA ELABORACIÓN DE LOS EMBUTIDOS FRESCOS Y CRUDOS CURADOS.....	21
1.3.1 <i>Carne</i>	21
1.3.2 <i>Grasa</i>	22
1.3.3 <i>Sal común, agentes del curado y coadyuvantes</i>	24
1.3.4 <i>Otros ingredientes</i>	28
1.3.5 <i>Tripas</i>	31
1.4 PROCESO DE ELABORACIÓN DE LOS EMBUTIDOS FRESCOS	32
1.4.1 <i>Picado de la carne - grasa y amasado</i>	32
1.4.2 <i>Reposo de la masa o premaduración</i>	33
1.4.3 <i>Embutido de la masa, atado y oreo</i>	33
1.5 ALMACENAMIENTO A REFRIGERACIÓN DE LOS EMBUTIDOS FRESCOS	34
1.5.1 <i>Generalidades</i>	34
1.5.2 <i>Principales grupos microbianos asociados a los embutidos frescos</i>	36
1.5.2.1 Psicrotrofos gram negativos.....	37
1.5.2.2 Esporulados gram positivos.....	38
1.5.2.3 Enterobacterias	38
1.5.2.4 Bacterias ácido lácticas (BAL)	39
1.5.2.5 <i>Brochotrix thermosphacta</i>	40
1.5.2.6 <i>Micrococcus</i>	40
1.5.2.7 <i>Staphylococcus</i>	41
1.5.2.8 Levaduras	41
1.5.2.9 Mohos	42
1.5.3 <i>Microorganismos patógenos</i>	43
1.6 MADURACIÓN DE LOS EMBUTIDOS CRUDOS CURADOS	43
1.6.1 <i>Generalidades</i>	43
1.6.2 <i>Secado</i>	44
1.6.3 <i>Fermentación</i>	45
1.6.4 <i>Cambios en las sustancias nitrogenadas (proteólisis, desnaturalización proteica, cambios en los nitritos y en la mioglobina, catabolismo de aminoácidos, formación de aminos biógenas)</i>	47
1.6.5 <i>Cambios en la fracción grasa (lipólisis y oxidación)</i>	50
1.7 EL ENVASADO AL VACÍO Y EN ATMÓSFERAS MODIFICADAS DE LOS EMBUTIDOS FRESCOS	52
1.7.1 <i>Generalidades</i>	52
1.7.2 <i>Envasado al vacío</i>	53
1.7.3 <i>Envasado en atmósferas modificadas (AM)</i>	54

2	OBJETIVOS.....	57
3	MATERIAL Y MÉTODOS.....	59
3.1	PLAN EXPERIMENTAL	59
3.1.1	<i>Primera parte del estudio: Caracterización del chorizo en el Estado de Hidalgo.....</i>	59
3.1.1.1	Diseño experimental	59
3.1.1.2	Toma de muestras y análisis realizados	61
3.1.2	<i>Segunda parte del estudio: Efecto del uso de atmósfera modificada anóxica con CO₂ (20%) y de la actividad de agua en el momento de envasado, sobre la evolución de diversos parámetros de calidad del chorizo fresco.....</i>	63
3.1.2.1	Diseño experimental y muestreo	63
3.1.2.2	Elaboración de embutidos.....	66
3.1.2.3	Secado, envase y almacenamiento de las muestras	68
3.2	METODOLOGÍA ANALÍTICA	70
3.2.1	<i>Análisis microbiológicos.....</i>	70
3.2.1.1	Preparación de las muestras	70
3.2.1.2	Bacterias ácido lácticas (BAL)	71
3.2.1.3	Microorganismos aerobios mesófilos viables (MAMV)	71
3.2.1.4	Microorganismos aerobios psicrotrofos viables (MAPV)	72
3.2.1.5	Microorganismos esporulados aerobios (MEAER)	72
3.2.1.6	Micrococaceas (MICC).....	73
3.2.1.7	Enterobacterias (ENB)	73
3.2.1.8	Mohos y levaduras (MYL)	73
3.2.2	<i>Análisis químicos y físico-químicos</i>	74
3.2.2.1	Dimensiones y granulometría	74
3.2.2.2	Pérdidas de humedad	75
3.2.2.3	pH.....	75
3.2.2.4	Actividad de agua (a _w).....	76
3.2.2.5	Humedad.....	76
3.2.2.6	Nitrógeno total - proteína	77
3.2.2.7	Nitrógeno α-aminoacídico.....	79
3.2.2.8	Nitrógeno soluble y nitrógeno no proteico	81
3.2.2.9	Cenizas	81
3.2.2.10	Hidroxiprolina (Hpro) - colágeno.....	83
3.2.2.11	Aminas biógenas	85
3.2.2.12	Grasa	87
3.2.2.13	Ácidos grasos totales.....	88
3.2.2.14	Ácidos grasos libres	91
3.2.2.15	Ácidos orgánicos	93
3.2.2.16	Contenido de minerales	94
3.2.2.17	Color.....	96
3.2.2.18	Análisis de perfil de textura (TPA)	97
3.2.3	<i>Análisis sensorial.....</i>	99
3.2.3.1	Prueba hedónica de grado de satisfacción.....	99
3.2.4	<i>Análisis estadístico.....</i>	100
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	103
4.1	CARACTERIZACIÓN DEL CHORIZO EN EL ESTADO DE HIDALGO	103
4.1.1	<i>Características microbiológicas</i>	103
4.1.2	<i>Composición química.....</i>	109
4.1.2.1	Composición proximal.....	109
4.1.2.2	Contenido de NaCl, ácidos láctico, acético y cítrico, valores de a _w y pH	114
4.1.2.3	Colágeno y nitrógeno aminoacídico	119

4.1.2.4	Elementos minerales	122
4.1.2.5	Ácidos grasos.....	127
4.1.3	<i>Características de apariencia</i>	131
4.1.4	<i>Análisis de perfil de textura (TPA)</i>	135
4.2	EVOLUCIÓN DE DIVERSAS CARACTERÍSTICAS DE CALIDAD DEL CHORIZO FRESCO, EFECTO DE LA ATMÓSFERA MODIFICADA CON CO ₂ Y LA ACTIVIDAD DE AGUA EN EL ENVASADO.....	139
4.2.1	<i>Grupos microbianos</i>	139
4.2.1.1	<i>Micrococcaceae</i>	141
4.2.1.2	<i>Enterobacteriaceae</i>	142
4.2.1.3	Bacterias ácido lácticas.....	144
4.2.1.4	Psicrotrofos	145
4.2.1.5	Mohos y levaduras	146
4.2.2	<i>Composición proximal, pérdidas de peso y características fisicoquímicas asociadas con la fermentación, proteólisis y lipólisis</i>	147
4.2.2.1	Pérdidas de peso	149
4.2.2.2	pH	151
4.2.2.3	Ácido láctico	153
4.2.2.4	Ácido acético	155
4.2.2.5	Nitrógeno no proteico (NNP)	157
4.2.2.6	Nitrógeno soluble en agua (NSA)	158
4.2.2.7	Ácidos grasos libres	159
4.2.3	<i>Aminas biógenas</i>	163
4.2.3.1	Monoaminas (tiramina e histamina)	164
4.2.3.2	Diaminas (putrescina y cadaverina) y poliaminas (espermidina y espermina).....	167
4.2.4	<i>Evaluación instrumental del color</i>	170
4.2.4.1	Color en la masa	171
4.2.4.2	Color en superficie	172
4.2.5	<i>Análisis sensorial</i>	175
5	CONCLUSIONES	183
6	BIBLIOGRAFÍA	185
7	PUBLICACIÓN	209
8	ANEXOS	223

TABLAS

TABLA 1. CLASIFICACIÓN DE EMBUTIDOS CRUDOS CURADOS SEGÚN EL GRADO DE SECADO	16
TABLA 2. CLASIFICACIÓN DE EMBUTIDOS DE ACUERDO A SU INTENSIDAD DE ACIDIFICACIÓN	16
TABLA 3. MICROORGANISMOS DE INTERÉS EN LA ALTERACIÓN DE LOS EMBUTIDOS CRUDOS.....	37
TABLA 4. DESCRIPCIÓN DE LAS MUESTRAS OBTENIDAS	60
TABLA 5. VARIABLES UTILIZADAS EN EL DISEÑO EXPERIMENTAL (DIVISIONES)	65
TABLA 6. PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS, SENSORIALES, QUÍMICOS Y FISICOQUÍMICOS REALIZADOS EN FUNCIÓN DEL MOMENTO DEL ANÁLISIS	66
TABLA 7. CONTENIDO DE INGREDIENTES Y ADITIVOS EXPRESADOS EN G/KG ⁻¹ DE MASA INICIAL PARA CADA UNO DE LOS EMBUTIDOS ..	67
TABLA 8. RECUENTOS MICROBIOLÓGICOS (LOG UFC/G) OBTENIDOS EN LOS DISTINTOS TIPOS DE CHORIZOS ESTUDIADOS.....	105
TABLA 9. VALORES MEDIOS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LOS RECUENTOS DE DIVERSOS GRUPOS MICROBIANOS (LOG UFC/G) EN LOS TIPOS DE CHORIZO EVALUADOS	106
TABLA 10. VALORES DE LA COMPOSICIÓN PROXIMAL (G/100G) SOBRE MATERIA FRESCA EN LOS CUATRO TIPOS DE CHORIZOS ANALIZADOS	110
TABLA 11. VALORES MEDIOS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA COMPOSICIÓN PROXIMAL (%) DE LOS CHORIZOS ANALIZADOS.....	111
TABLA 12. VALORES DEL PORCENTAJE DE SAL, RELACIÓN ENTRE SAL Y HUMEDAD, ÁCIDOS ORGÁNICOS, ACTIVIDAD DE AGUA Y pH SOBRE MATERIA FRESCA DE LOS CHORIZOS ANALIZADOS	116
TABLA 13. VALORES MEDIOS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DEL CONTENIDO DE SAL, ÁCIDOS ORGÁNICOS, ACTIVIDAD DE AGUA, RELACIÓN ENTRE SAL Y HUMEDAD, pH Y ÁCIDOS ORGÁNICOS SOBRE MATERIA FRESCA Y MATERIA SECA EN LOS CUATROS TIPOS DE CHORIZOS ANALIZADOS	117
TABLA 14. VALORES DE COLÁGENO Y NITRÓGENO α -AMÍNICO (EXPRESADO COMO LEUCINA) EN LOS CUATRO TIPOS DE CHORIZOS AVALUADOS.....	121
TABLA 15. VALORES MEDIOS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DEL PORCENTAJE DE COLÁGENO Y NITRÓGENO α -AMÍNICO (EXPRESADO COMO LEUCINA) EN LOS CHORIZOS ANALIZADOS	122
TABLA 16. CONTENIDO EN ELEMENTOS MINERALES EXPRESADOS COMO MG/100G Y CANTIDAD DE FÓSFORO EXPRESADA COMO % DE P ₂ O ₅ DE LAS CUATRO VARIEDADES DE CHORIZOS EVALUADOS	124
TABLA 17. VALORES MEDIOS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DEL CONTENIDO DE ELEMENTOS MINERALES EXPRESADOS COMO MG/100G DE MATERIA FRESCA, MATERIA SECA O MATERIA SECA DESENGRASADA Y CANTIDAD DE FÓSFORO EXPRESADA COMO % DE P ₂ O ₅ EN LAS CUATRO VARIEDADES DE CHORIZOS EVALUADOS.....	126
TABLA 18. CONTENIDO DE LOS PRINCIPALES ÁCIDOS GRASOS (%) EN LOS CHORIZOS ANALIZADOS DE CADA TIPO	128
TABLA 19. VALORES MEDIOS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DEL CONTENIDO (%) EN ÁCIDOS GRASOS DE LOS CUATRO TIPOS DE CHORIZOS EVALUADOS	129
TABLA 20. GRADO DE SATURACIÓN (%) DE LAS CUATRO CATEGORÍAS DE CHORIZOS ANALIZADOS	130
TABLA 21. SATURACIÓN DE LOS ÁCIDOS GRASOS (%) POR TIPO DE CHORIZO.....	131
TABLA 22. CARACTERÍSTICAS DE APARIENCIA DE LOS CHORIZOS EN EL ESTADO DE HIDALGO	133
TABLA 23. VALORES MEDIOS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LAS CARACTERÍSTICAS DE APARIENCIA DE LOS CHORIZOS	135
TABLA 24. ANÁLISIS DE PERFIL DE TEXTURA (TPA) EN LOS CHORIZOS ANALIZADOS.....	137
TABLA 25. VALORES MEDIOS Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR EN LOS PARÁMETROS DE TEXTURA EN LOS CHORIZOS ANALIZADOS	138
TABLA 26. RESULTADOS (NIVEL DE SIGNIFICACIÓN EN LA COMPARACIÓN DE MEDIAS) DEL ANÁLISIS DE VARIANZA DE LOS RECUENTOS DE LOS GRUPOS MICROBIANOS EVALUADOS EN BASE A LOS DISTINTOS FACTORES ESTUDIADOS Y LAS INTERACCIONES DOBLES ENTRE LOS MISMOS	141
TABLA 27. EVOLUCIÓN DE LOS RECUENTOS DE MICROCOCCOS (LOG UFC/G) PRESENTES EN LOS CHORIZOS ARTESANAL E INDUSTRIAL ENVASADOS A DISTINTAS A _w (0,96, 0,94 Y 0,92) ^{*,#} DURANTE SU ALMACENAMIENTO A REFRIGERACIÓN (HASTA 42 DÍAS) ...	142
TABLA 28. EVOLUCIÓN DE LOS RECUENTOS DE ENTEROBACTERIAS (LOG UFC/G) EN LOS CHORIZOS ARTESANAL E INDUSTRIAL ENVASADOS A DISTINTAS A _w (0,96, 0,94 Y 0,92) ^{*,#} DURANTE SU ALMACENAMIENTO A REFRIGERACIÓN (HASTA 42 DÍAS) ...	143
TABLA 29. EVOLUCIÓN DE LOS RECUENTOS DE BACTERIAS ÁCIDO LÁCTICAS (LOG UFC/G) PRESENTES EN LOS CHORIZOS ARTESANAL E INDUSTRIAL ENVASADOS A DISTINTAS A _w (0,96, 0,94 Y 0,92) ^{*,#} DURANTE SU ALMACENAMIENTO A REFRIGERACIÓN (HASTA 42 DÍAS).....	144

TABLA 30. EVOLUCIÓN DE LOS RECUENTOS DE BACTERIAS PSICROTROFAS (LOG UFC/G) PRESENTES EN LOS CHORIZOS ARTESANAL E INDUSTRIAL ENVASADOS A DISTINTAS A_w (0,96, 0,94 Y 0,92) ^{*,#} DURANTE SU ALMACENAMIENTO A REFRIGERACIÓN (HASTA 42 DÍAS).....	146
TABLA 31. EVOLUCIÓN DE LOS RECUENTOS DE MOHOS Y LEVADURAS (LOG UFC/G) PRESENTES EN LOS CHORIZOS ARTESANAL E INDUSTRIAL ENVASADOS A DISTINTAS A_w (0,96, 0,94 Y 0,92) ^{*,#} DURANTE SU ALMACENAMIENTO A REFRIGERACIÓN (HASTA 42 DÍAS).....	147
TABLA 32. COMPOSICIÓN PROXIMAL DE LOS CHORIZOS ARTESANAL E INDUSTRIAL EN EL DÍA DE ENVASADO A DISTINTOS VALORES DE A_w	148
TABLA 33. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA (NIVEL DE SIGNIFICACIÓN EN LA COMPARACIÓN DE MEDIAS) DE LAS PÉRDIDAS DE PESO, PH, ÁCIDOS LÁCTICO Y ACÉTICO, NITRÓGENO NO PROTEICO (NNP), NITRÓGENO SOLUBLE EN AGUA (NSA), DE LOS PORCENTAJES DE DISTINTAS SUMATORIAS DE ÁCIDOS GRASOS LIBRES (AGL) Y LAS INTERACCIONES DOBLES ENTRE LOS MISMOS, EN BASE A LAS DISTINTAS VARIABLES ESTUDIADAS	149
TABLA 34. PÉRDIDAS DE PESO (%) EN LOS CHORIZOS ARTESANAL E INDUSTRIAL ENVASADOS A DISTINTAS A_w (0,96, 0,94 Y 0,92) ^{*,#} Y ATMÓSFERAS DURANTE SU ALMACENAMIENTO A REFRIGERACIÓN	150
TABLA 35. EVOLUCIÓN DEL PH EN LOS CHORIZOS ARTESANAL E INDUSTRIAL ENVASADOS A DISTINTOS VALORES DE A_w (0,96, 0,94 Y 0,92) ^{*,#} DURANTE SU ALMACENAMIENTO A REFRIGERACIÓN	151
TABLA 36. EVOLUCIÓN DEL CONTENIDO DE ÁCIDO LÁCTICO (MG/100G) EN LOS CHORIZOS ARTESANAL E INDUSTRIAL ENVASADOS A DISTINTAS A_w (0,96, 0,94 Y 0,92) ^{*,#} DURANTE SU ALMACENAMIENTO A REFRIGERACIÓN.....	154
TABLA 37. EVOLUCIÓN DEL CONTENIDO DE ÁCIDO ACÉTICO (MG/100G) EN LOS CHORIZOS ARTESANAL E INDUSTRIAL ENVASADOS A DISTINTAS A_w (0,96, 0,94 Y 0,92) ^{*,#} DURANTE SU ALMACENAMIENTO A REFRIGERACIÓN.....	156
TABLA 38. EVOLUCIÓN DEL PORCENTAJE DE NITRÓGENO NO PROTEICO (NNP) SOBRE NITRÓGENO TOTAL (NT) EN LOS CHORIZOS ARTESANAL E INDUSTRIAL ENVASADOS A DISTINTAS A_w (0,96, 0,94 Y 0,92) ^{*,#} DURANTE SU ALMACENAMIENTO A REFRIGERACIÓN	157
TABLA 39. EVOLUCIÓN DEL PORCENTAJE DE NITRÓGENO SOLUBLE EN AGUA (NSA) SOBRE NITRÓGENO TOTAL (NT) EN LOS CHORIZOS ARTESANAL E INDUSTRIAL ENVASADOS A DISTINTAS A_w (0,96, 0,94 Y 0,92) ^{*,#} DURANTE SU ALMACENAMIENTO A REFRIGERACIÓN	158
TABLA 40. EVOLUCIÓN DEL CONTENIDO EN ÁCIDOS GRASOS LIBRES TOTALES (G/100G DE GRASA) DE LOS CHORIZOS ARTESANAL E INDUSTRIAL ENVASADOS A DISTINTAS A_w (0,96, 0,94 Y 0,92) ^{*,#} DURANTE SU ALMACENAMIENTO A REFRIGERACIÓN (HASTA 42 DÍAS) EN FUNCIÓN DEL TIPO DE ENVASADO ⁵	159
TABLA 41. MEDIAS Y DESVIACIONES ESTÁNDAR DE LOS % DE ÁCIDOS GRASOS LIBRES MAYORITARIOS Y DE LAS SUMATORIAS DE ÁCIDOS GRASOS LIBRES SATURADOS, MONOINSATURADOS Y POLIINSATURADOS SOBRE EL TOTAL DE ÁCIDOS GRASOS LIBRES OBTENIDAS DE LAS MUESTRAS ANALIZADAS DE LOS CHORIZOS ARTESANAL E INDUSTRIAL	161
TABLA 42. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE VARIANZA (NIVEL DE SIGNIFICACIÓN EN LA COMPARACIÓN DE MEDIAS) DEL CONTENIDO EN AMINAS BIÓGENAS (TIRAMINA, HISTAMINA, PUTRESCINA, CADAVERINA, ESPERMIDINA Y ESPERMINA) EN BASE A LOS DISTINTOS FACTORES EVALUADOS Y LAS INTERACCIONES DOBLES ENTRE LOS MISMOS	164
TABLA 43. EVOLUCIÓN DEL CONTENIDO EN TIRAMINA (MG/KG) DE LOS CHORIZOS ARTESANAL E INDUSTRIAL ENVASADOS A DISTINTAS A_w (0,96, 0,94 Y 0,92) ^{*,#} DURANTE SU ALMACENAMIENTO A REFRIGERACIÓN.....	165
TABLA 44. EVOLUCIÓN DEL CONTENIDO EN PUTRESCINA Y CADAVERINA (MG/KG) DE LOS CHORIZOS ARTESANAL E INDUSTRIAL ENVASADOS A DISTINTAS A_w (0,96, 0,94 Y 0,92) ^{*,#} DURANTE SU ALMACENAMIENTO A REFRIGERACIÓN	168
TABLA 45. CONTENIDO DE ESPERMIDINA (MG/KG) EN FUNCIÓN DE LA ACTIVIDAD DE AGUA (0,96, 0,94 Y 0,92) ^{*,#} Y TIPO DE CHORIZO	169
TABLA 46. CONTENIDO DE ESPERMINA (MG/KG) EN FUNCIÓN DE LA ATMÓSFERA DE ENVASADO (0,96, 0,94 Y 0,92) ^{*,#} Y TIEMPO DE ALMACENAMIENTO A REFRIGERACIÓN	170
TABLA 47. RESULTADOS (NIVEL DE SIGNIFICACIÓN EN LA COMPARACIÓN DE MEDIAS) DEL ANÁLISIS DE VARIANZA DE LAS MEDIDAS DEL COLOR (INTERNO O MASA Y EXTERNO O SUPERFICIE) EN BASE A LOS DISTINTOS FACTORES EVALUADOS Y LAS INTERACCIONES DOBLES ENTRE LOS MISMOS	171
TABLA 48. PARÁMETROS DEL COLOR (L^* , a^* Y b^*) DE LA MASA DEL EMBUTIDO EN FUNCIÓN DE LA ACTIVIDAD DE AGUA (0,96, 0,94 Y 0,92) ^{*,#} Y TIPO DE CHORIZO	172
TABLA 49. VALOR L^* EN LA SUPERFICIE DE LOS CHORIZOS EN FUNCIÓN DE LA A_w (0,96, 0,94 Y 0,92) [#] Y EL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO	173

TABLA 50. EVOLUCIÓN DEL VALOR DE A^* EN SUPERFICIE EN LOS CHORIZOS ARTESANAL E INDUSTRIAL ENVASADOS A DISTINTAS A_w (0,96, 0,94 Y 0,92) [#] DURANTE SU ALMACENAMIENTO A REFRIGERACIÓN EN FUNCIÓN DEL TIPO DE ENVASADO	173
TABLA 51. EVOLUCIÓN DEL VALOR B^* EN SUPERFICIE DE LOS CHORIZOS ARTESANAL E INDUSTRIAL ENVASADOS A DISTINTAS A_w (0,96, 0,94 Y 0,92) [#] DURANTE SU ALMACENAMIENTO A REFRIGERACIÓN.....	174
TABLA 52. RESULTADOS (NIVEL DE SIGNIFICACIÓN EN LA COMPARACIÓN DE MEDIAS) DEL ANÁLISIS DE VARIANZA DE LAS PUNTUACIONES SENSORIALES EN BASE A LOS DISTINTOS FACTORES EVALUADOS Y LAS INTERACCIONES DOBLES ENTRE LOS MISMOS	175
TABLA 53. EVOLUCIÓN DE LA PUNTUACIÓN DE APARIENCIA (VALORADA EN LA ESCALA DE 1 AL 5) DE LOS CHORIZOS ARTESANAL E INDUSTRIAL ENVASADOS A DISTINTOS VALORES DE A_w (0,96, 0,94 Y 0,92) DURANTE SU ALMACENAMIENTO A REFRIGERACIÓN EN FUNCIÓN DEL TIPO DE ATMÓSFERA [#]	176
TABLA 54. COEFICIENTES DE CORRELACIÓN ENTRE LA PUNTUACIÓN DE LA APARIENCIA Y LOS PARÁMETROS DEL COLOR L^* , A^* Y B^* EN SUPERFICIE DE LOS CHORIZOS ARTESANAL E INDUSTRIAL ENVASADOS EN BANDEJAS CON PELÍCULA PERMEABLE A LOS GASES ATMOSFÉRICOS, A LOS DISTINTOS VALORES DE A_w ESTUDIADOS (0,96, 0,94 Y 0,92).....	178
TABLA 55. EVOLUCIÓN DE LA PUNTUACIÓN DEL OLOR (VALORADA EN LA ESCALA DE 1 AL 5) DE LOS CHORIZOS ARTESANAL E INDUSTRIAL ENVASADOS A DISTINTOS VALORES DE A_w (0,96, 0,94 Y 0,92)* DURANTE SU ALMACENAMIENTO A REFRIGERACIÓN EN FUNCIÓN DEL TIPO DE ATMÓSFERA [#]	180
TABLA 56. EVOLUCIÓN DE LA PUNTUACIÓN DEL SABOR (VALORADA EN LA ESCALA DE 1 AL 5) DE LOS CHORIZOS ARTESANAL E INDUSTRIAL ENVASADOS A DISTINTOS VALORES DE A_w (0,96, 0,94 Y 0,92)* DURANTE SU ALMACENAMIENTO A REFRIGERACIÓN EN FUNCIÓN DEL TIPO DE ATMÓSFERA [#]	181
TABLA 57. COEFICIENTES DE CORRELACIÓN ENTRE LA PUNTUACIÓN DEL OLOR Y SABOR Y LOS NIVELES DE UNA SELECCIÓN DE PROPIEDADES DEL CHORIZO ARTESANAL ENVASADO EN BANDEJA CON PELÍCULA PERMEABLE A LOS GASES, A LOS DISTINTOS VALORES DE A_w ESTUDIADOS (0,96, 0,94 Y 0,92)	182

FIGURAS

FIGURA 1. SISTEMAS DE CAZA Y OBTENCIÓN DE CARNE DURANTE LA PREHISTORIA.....	3
FIGURA 2. CHORIZOS CRIOLLOS EXPUESTOS A LA VENTA EN MERCADOS RURALES EN ALGUNOS PAÍSES DE LATINOAMÉRICA.....	6
FIGURA 3. DISTRIBUCIÓN DEL GASTO PROMEDIO EN LOS HOGARES MEXICANOS EN LA COMPRA DE CARNE FRESCA Y PRODUCTOS CÁRNICOS PROCESADOS	7
FIGURA 4. DIAGRAMA DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DE CHORIZO TRADICIONAL MEXICANO	10
FIGURA 5. CHORIZO EN EL PUNTO DE VENTA EN UNA DE LAS CARNICERÍAS EN EL ESTADO DE HIDALGO.....	12
FIGURA 6. DIFERENTES MARCAS DE CHORIZOS ELABORADOS POR EMPRESAS MEXICANAS DE ÁMBITO NACIONAL	12
FIGURA 7. DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE LOS PRINCIPALES PUNTOS DE COMPRA DE CHORIZO.....	13
FIGURA 8. DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO DEL GRANO EN LOS CHORIZOS	75
FIGURA 9. CÁPSULAS DE ALUMINIO CONTENIENDO MUESTRAS DE CHORIZO CON ARENA DE MAR PARA DETERMINACIÓN DE HUMEDAD	77
FIGURA 10. BLOQUE DE DIGESTIÓN Y DESTILADOR CON MUESTRAS DE CHORIZO UTILIZADOS EN LA DETERMINACIÓN DE LA PROTEÍNA	79
FIGURA 11. EQUIPO AUTOMATIZADO SOXHLET UTILIZADO EN LA DETERMINACIÓN DE GRASA	88
FIGURA 12. EMBUDOS DE DECANTACIÓN USADOS DURANTE EL PROCESO DE EXTRACCIÓN DE GRASA.	92
FIGURA 13. COLORÍMETRO MINOLTA Y CAJAS DE PETRI CONTENIENDO MUESTRAS DE CHORIZO HOMOGENEIZADO CUBIERTAS CON PELÍCULA PLÁSTICA PARA LA DETERMINACIÓN DEL COLOR.	97
FIGURA 14. DETERMINACIÓN DEL ANÁLISIS DE PERFIL DE TEXTURA (TPA)	98
FIGURA 15. MUESTRAS DE CHORIZO DURANTE EL PROCESO PREVIO A LA EVALUACIÓN SENSORIAL.....	100
FIGURA 16. EVOLUCIÓN DE LOS % DE LOS ÁCIDOS GRASOS LIBRES SATURADOS (ARRIBA), MONOINSATURADOS (EN EL MEDIO) Y POLIINSATURADOS (ABAJO) DE LOS CHORIZOS ARTESANAL (CH ART) E INDUSTRIAL (CH IND). SE HAN TOMADO EN CADA GRÁFICA LOS VALORES CONJUNTOS DE LAS TRES A_w ESTUDIADAS, POR LO TANTO CADA CURVA ESTÁ BASADA EN LAS MEDIDAS DE 12 MUESTRAS.....	162
FIGURA 17. CHORIZO ARTESANAL AL MOMENTO DEL ENVASADO (DÍA 1) A DISTINTAS ACTIVIDADES DE AGUA	177
FIGURA 18. CHORIZO INDUSTRIAL AL MOMENTO DEL ENVASADO (DÍA 1) A DISTINTAS ACTIVIDADES DE AGUA	177
FIGURA 19. MUESTRAS DE CHORIZOS ENVASADOS EN BANDEJA CON FILM PERMEABLE AL OXÍGENO QUE PRESENTAN FALLOS EN LA APARIENCIA DEBIDOS AL CRECIMIENTO MICROBIANO, EXUDADOS U OPACIDADES DE TRIPA	179

RESUMEN

En el presente trabajo se ha llevado a cabo, por una parte, la caracterización del chorizo mexicano que se comercializa en el Estado de Hidalgo y, por otra, se ha estudiado la evolución de las características de calidad del chorizo fresco a lo largo de su almacenamiento a refrigeración con distinto tipo de envasado y a diferentes valores de a_w .

En la primera parte se analizaron 40 muestras de chorizos, 10 de cada una de las siguientes categorías: carnicerías (elaborados en carnicerías minoristas), mercados rurales (elaborados en pequeñas unidades de producción artesanal en el medio rural), centros comerciales (elaborados por grandes empresas de ámbito nacional) y centrales de abasto (elaborados por pequeñas-medianas empresas para un mercado de bajo precio). Las determinaciones analíticas realizadas fueron: recuentos microbianos (bacterias ácido lácticas, mesófilos aerobios, psicrotrofos aerobios, esporulados aerobios, micrococaceas, enterobacterias y mohos y levaduras), características de apariencia (diámetro, granulometría y color CIE Lab), análisis químicos (pH, actividad de agua, composición proximal, ácidos grasos, ácidos láctico acético y cítrico, colágeno, nitrógeno aminoacídico, elementos minerales) y análisis de perfil de textura.

En la segunda parte se elaboraron en planta piloto dos tipos de chorizos (dos lotes de cada tipo), uno artesanal y otro industrial. Los chorizos fueron mantenidos en cámara de refrigeración ($8 \pm 2^\circ\text{C}$) hasta conseguir la actividad de agua deseada (0,96, 0,94 ó 0,92) para su envasado. Después los chorizos se envasaron en bandeja recubierta con film plástico permeable al oxígeno o en atmósfera modificada (AM; 20% CO_2 y 80% N_2) y se almacenaron a refrigeración hasta 42 días, tomando muestras para su análisis en el momento del embutido, en el momento del envasado y a los, 14, 28 y 42 días de almacenamiento. Los análisis realizados fueron: recuentos microbianos (los vistos anteriormente), pérdidas de peso, análisis proximal, pH, ácidos láctico y acético, nitrógeno no proteico y soluble en agua, ácidos grasos libres, aminas biógenas, color CIE Lab en la masa y superficie y evaluación sensorial de la apariencia, sabor y aroma.

La microbiota, las cantidades de ácido láctico, acético y el pH de la mayor parte de los chorizos analizados en la primera parte mostraron valores asimilables a los encontrados en embutidos secos fermentados. El rango de humedad de los chorizos fue muy amplio

aunque la mayoría de los chorizos pueden considerarse como semisecos (40-50% de humedad). La mayoría de los chorizos analizados (aunque no todos) pueden considerarse como microbiológicamente estables a temperatura ambiente por sus valores de pH inferiores a 5,3 y de a_w entre 0,90 y 0,95. Hubo diferencias importantes en las propiedades de los chorizos en función de la categoría estudiada. Los chorizos de medios rurales fueron los de menor calibre y presentaron los niveles más elevados de proteína sobre materia seca. Los chorizos de carnicería presentaron cantidades relativamente elevadas de grasa sobre materia seca y de ácidos grasos de cadena impar y ramificada. Los chorizos de centros comerciales fueron los de menor humedad y a diferencia del resto se clasificarían en la categoría embutidos de secos. También fueron los que presentaron mayor contenido en sal y fósforo sobre materia seca. Los chorizos de centrales de abasto se caracterizaron por un alto contenido en grasa sobre materia seca, el uso extendido de sustancias de relleno (almidones, gomas u otras) en detrimento de la proteína y por color más encendido (más luminoso y rojo).

Los resultados de la segunda parte mostraron que los chorizos fermentaron a baja temperatura durante el secado previo al envasado o durante el almacenamiento a refrigeración. Paralelamente, los recuentos de enterobacterias disminuyeron. La atmósfera (aire *vs* AM) no afectó significativamente a los recuentos microbianos de la masa de los chorizos. El nitrógeno no proteico mostró un moderado aumento durante el almacenamiento. El contenido de ácidos grasos libres aumentó considerablemente; el incremento fue más elevado en los chorizos de mayor a_w y en los almacenados en aire. También hubo un incremento considerable y progresivo en el contenido de tiramina, putrescina y cadaverina, alcanzándose después de unas semanas valores de tiramina potencialmente peligrosos para el consumidor. El incremento en el contenido de aminas biógenas estuvo influido por el tipo de chorizo (mayor en el artesanal) y la a_w del envasado (menor en los de a_w más baja) pero no por el tipo de atmósfera. La apariencia, olor y sabor de los chorizos envasados en aire fueron demeritados con el tiempo de almacenamiento. Por el contrario, en los chorizos envasados en AM no se observó pérdida de calidad sensorial. La alteración sensorial de los chorizos envasados en aire tiene lugar en la superficie de los mismos y se puede atribuir a causas microbianas. La depreciación en la valoración sensorial de los chorizos envasados en aire mostró una fuerte dependencia del tipo de chorizo (el artesanal perdió antes su calidad).

1 INTRODUCCIÓN

1.1 El chorizo elaborado en México

1.1.1 Perspectiva histórica

Parece lógico pensar que la conveniencia de aprovechar los excedentes eventuales de carne propiciara el que la humanidad buscara métodos para su conservación. En la prehistoria, se conservaba la carne cortándola en tiras finas y dejándolas secar al sol. En ocasiones la carne seca se desmenuzaba y se mezclaba con la grasa. Con el descubrimiento del fuego se utilizó el humo y la cocción como técnicas adicionales de conservación. Adicionalmente, se señala al salado y la fermentación como formas de conservación de la edad antigua (Bacus, 1984; Pearson y Tauber, 1984; Smith, 1987; Roca e Incze, 1990; Zeuthen, 1995).

Figura 1. Sistemas de caza y obtención de carne durante la prehistoria

Probablemente fue un hecho casual cuando se observó que la carne troceada, mezclada con sal, especias y embutida en tripas representaba una buena práctica para su conservación. Las primeras evidencias de la existencia de embutidos datan de hace más de 5.000 años y fueron encontradas en la cultura Sumeria (antigua Babilonia). Los dos primeros escritos referidos a los embutidos datan aproximadamente del año 600 a. C., ambos surgidos de las antiguas Grecia y China. En China, se habla de un embutido conocido como “La chang” o “Lup cheong”, adicionado con azúcar, sal, especias y ahumado (Hoggenkamp, 2008), y en Grecia los embutidos fueron descritos en los trabajos de Homero y Epicharmo y también fue escrita una comedia titulada “el embutido” (Anónimo 1, 2011).

En la zona del Mediterráneo, las prácticas de elaboración de embutidos, junto con el salazonado, secado y ahumado de la carne experimentaron un gran desarrollo durante la época del imperio romano a lo largo del siglo I, paralelamente a la cría del cerdo (Hugas, 1994). Desde el Mediterráneo los procesos de elaboración de productos cárnicos se extendieron también al Norte de Europa (Rust, 1994).

Durante la edad media en Europa la producción de embutidos era común entre los pobladores y más tarde durante el renacimiento, aunque basados en las tradiciones anteriores, el arte de hacer embutidos experimentó un nuevo desarrollo.

En los siglos XV y XVI, la demanda de productos cárnicos salados, con o sin tratamiento térmico, sometidos a secado creció con el fin de cubrir las necesidades alimentarias de los hombres en la guerra, expediciones y viajes, así como enriquecer la escasa dieta de la gente pobre (Wright, 1999). En las regiones más frías de Europa, donde las bajas temperaturas hacían posible la conservación de los alimentos durante largos periodos de tiempo, los productos curados cocidos, ahumados y semisecos fueron los dominantes. Mientras tanto, en el más cálido sur, los productos cárnicos más importantes consistieron en carnes crudas maduradas (paletas y jamones, cecinas de vacuno, embutidos como los salamis, los chorizos, etc.), las cuales eran secadas durante los meses más fríos del año y de esta manera se conservaban durante los meses más calurosos.

En este contexto, colonizadores procedentes de la Península Ibérica llegaron a Latinoamérica, y trajeron consigo tanto el ganado porcino, así como su saber hacer en la elaboración de productos cárnicos. Con su llegada, las técnicas y el saber hacer de los colonizadores en cuanto a la elaboración de productos cárnicos se diseminaron por los territorios latinoamericanos, asimilándose por las culturas allí presentes.

Sin embargo, esas técnicas ibéricas experimentaron modificaciones a lo largo del tiempo para adaptarse a las nuevas circunstancias (clima, recursos disponibles, influencias culturales, etc.), con el fin de adecuar y optimizar procesos y productos (Monín, 1991). Por otro lado, también hubo algunos cambios en el proceso tradicional de elaboración de productos en la Península Ibérica por la influencia latinoamericana.

El cambio tal vez más evidente fue el uso de los frutos desecados de las plantas del pimiento *Capsicum annuum*, en la manufactura de embutidos (Zapata et al., 1992).

Actualmente, se pueden citar bastantes evidencias del pasado común de los productos cárnicos tradicionales ibéricos y latinoamericanos. Incluso se puede hablar de productos cárnicos criollos definidos como aquellos productos tradicionales de Latinoamérica originados de los productos cárnicos ibéricos pero adaptados a las condiciones y circunstancias locales. Así, es posible encontrar productos cárnicos criollos con el mismo nombre que algunos productos cárnicos ibéricos pero con distinta apariencia y aroma en función de las peculiaridades de cada región (Mateo et al., 2009). Así por ejemplo, en Latinoamérica hay una gran variedad de embutidos frescos llamados Chorizos, Salchichas o Longaniza o ‘Chouriço/Salcichão/Linguças’ (en países de habla hispana o portuguesa, respectivamente). El chorizo se definió ya en el Diccionario de Autoridades de 1726 como *“pedazo corto de tripa, lleno de carne, regularmente de puerco, picada y adobada, que normalmente se cura al humo”*. Por el contrario, es también posible encontrar productos cárnicos con similar apariencia o aroma pero diferente nombre.

La mayoría de los productos cárnicos considerados como criollos son productos cárnicos frescos o cocidos (Mateo et al., 2009). La popularidad de ambos es alta, existiendo una gran variedad de productos criollos a lo largo y ancho del territorio latinoamericano. Dentro de estos productos, en México así como en otros países latinoamericanos destaca el chorizo, que es probablemente uno de los embutidos más populares y extendidos en toda Latinoamérica (Figura 2).

Figura 2. Chorizos criollos expuestos a la venta en mercados rurales en algunos países de Latinoamérica

Como anécdota relacionada con el chorizo y la historia hispano-mexicana, se traen a colación unos documentos comerciales de los años 1928 y 1933, en los cuales se recogen transacciones comerciales de chorizos españoles de Cantimpalos a México, siendo curioso que en uno de esos documentos, con fecha 12 de Mayo de 1928, se advierta a los proveedores de la aparición de imitaciones del mismo. La forma de envío del Chorizo de Cantimpalos en sus viajes transatlánticos, era en envases metálicos, donde los chorizos iban cubiertos en aceite, debido a la larga duración de estos viajes (Anónimo 2, 2011).

1.1.2 Producción y consumo de derivados cárnicos en México

La carne y los productos de cerdo son ampliamente consumidos en la dieta mexicana, tanto por razones culturales como por su relativo bajo costo. En el año 2009 la producción de derivados cárnicos en el país (principalmente jamón, salchicha, chorizo, cecina, tocino y mortadela) fue de más de 807 mil toneladas, con un consumo per cápita superior a los 8 kg (CMC, 2009). En la actualidad, de acuerdo con cifras oficiales (Figura 3), los hogares mexicanos en promedio destinan el 24 por ciento del gasto total de alimentos y bebidas al consumo de proteína cárnica. De este 24%, el 80% se destina al consumo de carne fresca y el 20% a la compra de productos cárnicos procesados como el jamón, salchicha y chorizo principalmente.

Figura 3. Distribución del gasto promedio en los hogares mexicanos en la compra de carne fresca y productos cárnicos procesados

Fuente: Consejo Mexicano de la Carne (CMC, 2009) con datos de INEGI

1.1.3 El chorizo en México

1.1.3.1 Características generales del chorizo en México

Entre los embutidos más populares en América Latina está el chorizo, un tipo de embutido –generalmente de carne de cerdo– que tiene sus orígenes en la Península Ibérica. Hoy en día existen muchas variaciones de este producto. En algunos casos este embutido es fresco y granuloso mientras que en otros casos es seco y ahumado (Rocha McGuire, 2010).

El chorizo en México es un embutido crudo, obtenido de una mezcla de carne y grasa de cerdo, que son picadas y amasadas, y altamente condimentada, embutida en tripa natural. No obstante lo dicho, también se puede utilizar carne de otras especies, siendo común por ejemplo utilizar carne de muslo de pavo (Rocha McGuire, 2010). Esta misma autora comenta que el porcentaje de grasa varía, pudiendo ser de 20 a 30% para productos de alta calidad y de hasta el 40% en productos más económicos. Así mismo, el grado de picado de carne y grasa suele ser inferior al del chorizo en España. El chorizo es generalmente blando o fresco, en cuanto a que no se madura intencionalmente (Kuri et al., 1995; Escartin et al., 1999).

El chorizo es uno de los productos de cerdo más populares en México debido probablemente a su bajo precio y sus apreciadas propiedades sensoriales. Se consume con frecuencia como tacos de chorizo (chorizo frito y desmenuzado sobre tortillas de maíz), a los que se agrega al gusto cebolla frita, cilantro, salsa picante y jugo de limón. También es frecuente usar el chorizo para acompañar otros alimentos como el huevo, frijol (alubias), papa (patatas) o nopales, o consumirlo en tortas (bocadillos) regularmente acompañadas con queso fundido.

Aún cuando existen diversas definiciones del producto, tras la observación de las condiciones de elaboración en México, el chorizo mexicano más común puede definirse como: “Un embutido fresco o de corta maduración elaborado con una mezcla de carne y grasa de cerdo picados y adicionada con sal, una pasta de chiles secos (generalmente chile guajillo y ancho) rehidratados en agua caliente, vinagre y otros condimentos y especias (ajo, pimienta, clavo, comino, etc.), que puede o no llevar sales de curado, azúcar y aditivos permitidos, embutida en tripa natural de cerdo, resultando un embutido de color rojo-naranja, con un sabor y aroma característico”.

En el centro del país, se usa tanto el término chorizo como longaniza para denominar productos con diferencias entre ellos no muy claras. En el ámbito popular la diferencia entre estos dos productos se basa exclusivamente en la forma o presentación del embutido. Generalmente se considera chorizo al producto que después de embutido ha sido atado con cordel (en forma de ristra) regularmente entre ocho a diez cm de longitud y se conoce como longaniza al producto que se presenta sin este atado. Se entiende que a efectos tecnológicos del proceso de elaboración ambos productos son esencialmente lo mismo y el término chorizo (más usado) puede englobar al término de longaniza (menos usado). Por este motivo de aquí en adelante se hará referencia solamente al chorizo.

El chorizo muestra variedades a lo largo y ancho del país, habiendo algunas variedades muy típicas de determinadas zonas. Así por ejemplo, en la ciudad de Toluca, que tiene fama tanto por la calidad como por las variedades de chorizo que allí se elaboran, existe un chorizo muy singular en la gastronomía mexicana

denominado "chorizo verde", por el color que imparten al producto ciertas plantas (espinaca, cilantro, perejil) que se utilizan en la elaboración. A ese tipo de chorizos se les suele agregar cacahuates, y otros condimentos autóctonos de la zona anteriores a la conquista. De acuerdo con la variante de la receta estos pueden ser picantes o no. Por otra parte, el "chorizo nortero" que se fabrica en los estados de la frontera con los Estados Unidos de Norte América suele ser más picante que los chorizos del centro o del sur. Para este tipo de chorizos se utilizan variedades de chile como el chiltepín (*Capsicum annuum* var. *glabriusculum*), o de árbol (*Capsicum frutescens* L.), así como el vinagre blanco o de manzana. Además, tanto en los estados de Guerrero como en el de Yucatán, al chorizo se le añade "un extra" de color con achiote y de sabor con zumo o jugo de naranja.

A pesar de la popularidad del chorizo en México, son pocos los estudios encontrados sobre su composición química (Pérez et al., 1999 y Austria et al., 2006). En el primero se hace la evaluación de un chorizo tipo Pamplona elaborado con carne de cerdo pelón mexicano y de cerdo mejorado y en el segundo un estudio de chorizo Huasteco. En estos estudios el valor de pH, estuvo comprendido entre 4,2 y 5,1 y el de a_w entre 0,94 y 0,98. Los rangos de composición química fueron los siguientes: humedad, 45,1 - 56,4%; proteína, 31,6 - 40,3%; grasa 48,2 - 56,9% y cenizas 3,75 - 5,12%.

Con respecto a la composición microbiológica también fueron pocos los estudios encontrados (Kuri et al., 1995; Salgado et al., 1999 y Escartin et al., 1999). De forma global estos estudios consistieron en el análisis e identificación de microorganismos patógenos como la *Salmonella* en chorizos tanto durante su elaboración como en los mercados.

La norma oficial mexicana (NOM-145-SSA1-1995) ubica a los chorizos y longanizas (frescos o madurados) dentro de los productos cárnicos troceados y curados (entendiendo como curados aquellos productos cárnicos a los que se les ha agregado sales del curado, nitratos o nitritos), cuya carne fue troceada o picada hasta lograr trozos no menores de 2 mm.

1.1.3.2 Proceso de elaboración y comercialización del chorizo en México

El chorizo se elabora a partir de carne y grasa, regularmente de cerdo, que son sometidas a un picado. A la mezcla carne-grasa se le adiciona sal común, vinagre y diversas especias como el ajo, la pimienta, el comino y el clavo (entre otras), además de chiles secos (*Capsicum* spp.) y se le amasa. Los chiles más utilizados, denominados con nombres del mercado, son los chiles guajillo, mora, de árbol, cascabel o ancho; no obstante, de entre estos, el más empleado es el chile guajillo. Antes de su uso los chiles secos se escaldan en agua y después se trituran con agua hasta obtener una papilla homogénea.

Después del amasado, la mezcla es embutida en tripa natural de cerdo y opcionalmente el embutido puede ser atado, comúnmente en trozos de 8-10 cm de longitud. Posteriormente el embutido es sometido a un corto periodo de oreo/secado a temperatura ambiente (48 horas aproximadamente). Algunos productores además pueden durante ese oreo someter el chorizo a un ahumado con serrín de cedro. Finalmente, el chorizo se comercializa y para ello se suele exhibir colgado a temperatura ambiente. Regularmente el chorizo se comercializa sin refrigeración. Durante el tiempo que dura la comercialización el chorizo se expone a la venta colgado a temperatura ambiente y cuando el negocio está cerrado es mantenido en sitios ventilados y a temperaturas normalmente no mayores de 15°C (siempre que el clima lo permita). En la Figura 4 se muestra el diagrama del proceso de elaboración del chorizo.

Figura 4. Diagrama del proceso de elaboración de chorizo tradicional mexicano

El chorizo en México es un producto tradicional que es producido por industrias de distintos tamaños, por carniceros minoristas o en el ámbito familiar (Kuri et al., 1995). Los procesos de elaboración en las empresas de ámbito familiar han sido transmitidos de generación en generación. No obstante, en México, la reciente diversificación en los procesos de elaboración de productos cárnicos, en general, y los chorizos en particular, debida a la incorporación de nuevas tecnologías (aditivos, maquinaria) y el elevado nivel de competitividad en el mercado (altamente competitivo en precios) han conducido a muchos industriales, e incluso carniceros, a modificar las políticas de producción de chorizo, introduciendo variantes a la producción tradicional como la utilización de diferentes materias primas no cárnicas de alto contenido proteico (soja o gluten), el uso de colorantes, sintéticos o naturales, el incremento en el porcentaje de grasa, la inclusión de carne deshuesada mecánicamente, uso de sustancias de relleno como almidones, etc. Estos elementos conllevan a una reflexión acerca de la situación económica y políticas de calidad de los productos que presenta México actualmente en relación con la industria cárnica. El fenómeno de utilizar ingredientes no cárnicos para bajar el coste de elaboración de embutidos frescos está extendido mundialmente (Feiner, 2006).

En cuanto a la comercialización, después de estudiar mediante observación in situ las vías de producción y comercialización del chorizo en distintas partes de México, incluyendo la capital (México, D.F.), se considera que en el país existen principalmente cuatro tipos de productores de chorizo: 1) productores del medio rural, 2) productores que elaboran y comercializan chorizos en sus propias carnicerías, 3) grandes empresas que elaboran el producto con una marca registrada y lo comercializan en supermercados y tiendas de abarrotes (comestibles) y 4) empresas que elaboran chorizos de bajo costo y que lo distribuyen en centrales de abasto mayoristas (más adelante se hace una descripción de las características de estos cuatro tipos de productores).

En la Figura 5 se aprecia una carnicería típica del Estado de Hidalgo donde se exhibe el chorizo en el punto de venta (el embutido largo se denomina longaniza, mientras que los embutidos atados, chorizos). En la Figura 6 se muestran algunas marcas de chorizos elaborados y comercializados por distintas empresas mexicanas de ámbito

nacional (tipo 3) y que se venden con una marca comercial para ser distribuidos principalmente en centros comerciales.

Figura 5. Chorizo en el punto de venta en una de las carnicerías en el Estado de Hidalgo

Figura 6. Diferentes marcas de chorizos elaborados por empresas mexicanas de ámbito nacional

Básicamente, se puede señalar que los principales puntos de venta de chorizo en México son las carnicerías y centrales de abasto mayoristas y en menor proporción en grandes tiendas como los supermercados y los mercados rurales (Figura 7).

Figura 7. Distribución porcentual de los principales puntos de compra de chorizo

Fuente: Consejo mexicano de la carne (CMC, 2009)

1.1.4 Los embutidos frescos y los crudos curados ¿Es el chorizo comercializado en México un embutido fresco o un embutido crudo curado?

1.1.4.1 Embutidos frescos

Los embutidos frescos son productos cárnicos que aunque se consuman cocinados, son comercializados sin ningún tratamiento térmico previo; es decir, son embutidos crudos. La cocción del producto para su consumo (generalmente frito, a la parrilla o asado), se realiza por el consumidor final o en establecimientos de restauración colectiva. Para su venta, comúnmente se almacenan en refrigeración aunque algunos se comercializan congelados (Feiner, 2006). Muchos países tienen sus propias especialidades de embutidos frescos como son la salchicha y chorizo frescos en España, “bratwurst” en Alemania, “boerewors” en Sudáfrica, “breakfast sausage” en los Estados Unidos o Reino Unido.

Estos productos son elaborados principalmente a partir de carne y grasa de diversas especies animales. Generalmente el picado de la carne en estos embutidos es grueso (tamaños de grano de algunos mm), aunque también se pueden encontrar embutidos de pasta fina, tipo emulsión. Durante su elaboración se procede a la adición de sales, especias, hierbas y otros ingredientes, incluyendo en algunos casos aditivos.

Posteriormente se embuten y necesitan frío para su conservación (Zumalacárregui y Mateo, 1997).

Los embutidos frescos pertenecen a la categoría de preparados cárnicos frescos establecida en la legislación española. En el Real Decreto 1376/2003 (2003) se define a los preparados cárnicos frescos como aquellos productos elaborados con la carne picada de animales de abasto autorizadas, con o sin grasa, a las que se les hayan añadido otros productos alimenticios, sal, condimentos, especias y aditivos, embutidos o no, y que no hayan sido sometidos a un tratamiento que modifique la estructura celular de la carne en la parte central de la superficie de corte y haga desaparecer así las características de la carne fresca; concretamente, no sometidos a tratamiento de desecación, cocción o salazón.

Estos embutidos son elaborados en los distintos países bajo diferentes normas de calidad. En la mayoría de las normas, cuando las hay, los contenidos mínimos de carne y máximos de grasa, así como la cantidad mínima de proteína suelen estar regulados (Feiner, 2006). Este autor señala que normalmente una parte de la proteína no es de origen cárnico. Es común emplear otros ingredientes proteicos (como la soja, gluten de trigo, caseinato, etc.) con el fin de reducir el coste de las materias primas sin perder las propiedades funcionales de la proteína y/o el valor nutritivo que estas confieren al producto final. Existe un mercado importante de embutidos frescos de bajo coste. En estos embutidos la cantidad de proteína de origen cárnico con respecto a la proteína total llega a ser muy baja. El costo del producto y el precio de venta lo determina la proporción de carne utilizada en la formulación.

1.1.4.2 Embutidos crudos curados

Los embutidos crudos curados son otro tipo de embutidos crudos. A diferencia de los anteriores éstos han sido sometidos a un proceso de secado y maduración y se consumen crudos. Los embutidos crudos curados están constituidos por una mezcla de carne magra, normalmente de cerdo o cerdo y vacuno y de grasa de cerdo, picada y amasada con sal, especias y aditivos, que se embute en tripas naturales o de colágeno reconstituido y, finalmente se somete a un proceso de fermentación

/secado que les confiere unas características sensoriales típicas y una estabilidad microbiológica sin necesidad de refrigeración (Flores y Bermell, 1995; Frey, 1995).

Los procedimientos de elaboración son muy variados, dependiendo de diversos parámetros como tipo de producto, país, mercado al que van dirigidos, etc., aunque el concepto básico en todos ellos es conseguir una reducción del pH y/o de la a_w (Zumalacárregui y Mateo, 1997). Son productos cárnicos de larga conservación, su tolerancia al ambiente lo obtienen por varios factores combinados (o barreras) entre los que se incluyen la formación de ácido láctico y descenso del pH, la reducción de la a_w , el descenso del potencial redox, la presencia de sustancias conservantes como los nitritos o sustancias procedentes de las especias (Leistner, 1992).

En Europa existen diferencias regionales claras. Mientras que en los países mediterráneos se elaboran embutidos en los que la estabilidad y seguridad se basa en la deshidratación, en países del norte y centro de Europa la fermentación unida al ahumado permite la obtención de un producto menos deshidratado. Los sistemas de elaboración seguidos en Norteamérica están basados en una rápida fermentación a temperaturas elevadas, omitiéndose en algunos casos la etapa de deshidratación (Zumalacárregui y Mateo, 1997).

En base a estas diferencias se han propuesto clasificaciones de los embutidos crudos curados de acuerdo a la intensidad de su acidez (bajo o alto pH), grado de secado, la especie animal de la carne utilizada, la zona geográfica de elaboración, el calibre, la adición o no de pimentón, el grado de picado, la presencia de mohos en superficie, la adición o no de carbohidratos, con o sin inoculación microbiana etc. (Incze, 1992).

Un ejemplo de clasificación de embutidos según el grado de secado es el que se muestra en la Tabla 1 y se refiere a la cantidad de agua, la pérdida de peso y el contenido de humedad en relación a la proteína. Por otra parte, otra clasificación basada en la velocidad e intensidad de acidificación se muestra en la Tabla 2.

Tabla 1. Clasificación de embutidos crudos curados según el grado de secado

Tipo (ejemplos)	Contenido acuoso (%)	Pérdida de peso (%)	Relación agua / proteína
Secos (Pepperoni, Salami, Salchichón)	20 – 35	25 – 50	2,3 / 1
Semisecos (Chorizo, Cervelat)	40 – 50	20	2,3 – 3,7 / 1
No desecados (untuoso) (Sobrasada, Mettwurst)	50 – 60	10	> 3,7/1

Fuente: Adams (1986)

Tabla 2. Clasificación de embutidos de acuerdo a su intensidad de acidificación

Características		Embutidos de alta acidez	Embutidos de baja acidez
Temperatura de fermentación	Inicial	22-25°C	< 12°C
	Final	15-18°C	14-18°C
Concentración de sal		2,2-3,0 %	2,5-3,0 %
Valor de la a_w	Final	< 0,95	< 0,90
pH	Inicial	< 6,2	< 6,2
	Final	< 5,3	Alrededor de 6,0
Uso de carbohidratos		0,3-0,7 %	No necesarios

Fuente: Incze (1992)

1.1.4.3 ¿Es el chorizo mexicano un embutido fresco o un embutido crudo curado?

En México los chorizos son, en su mayoría, elaborados como embutidos frescos que se comercializan crudos y se consumen después de un tratamiento térmico (normalmente fritura). El consumo de chorizo crudo madurado es muy escaso en el país. Aunque los chorizos madurados existen en los mostradores de los supermercados, no son muy populares entre los consumidores.

No obstante, la comercialización del chorizo fresco en México no está regulada en cuanto a que se realiza a temperatura ambiente y durante un tiempo variable. De esta forma se pueden encontrar en el mercado chorizos con diferente tiempo desde su elaboración (desde 1 día hasta 2-3 semanas) y, por lo tanto, diferente grado de secado y mantenido durante ese tiempo a un rango diverso de temperaturas. Durante el oreo y la comercialización, e incluso en el ámbito doméstico de los consumidores finales, los chorizos se van secando a temperatura ambiente, obteniéndose un producto cada vez con menor humedad y con mayor intensidad de sabor (Guerrero

et al., 2002), y aunque se seque se cocina de todas las maneras antes de su consumo. Durante este periodo de tiempo, además, si la temperatura lo permite y el tiempo es suficiente, puede tener lugar una fermentación espontánea de los azúcares presentes en la masa generándose ácido láctico por medio de las BAL (Kuri et al., 1995).

Así pues, por una parte, si la a_w de los chorizos durante la comercialización (antes de la venta o consumo) descendiera por debajo de 0,90, los chorizos se podrían considerar como embutidos de humedad intermedia, secos, y microbiológicamente estables a temperatura ambiente (Leistner, 1978; Adams, 1986). Por otra parte, en caso de que el pH descendiera, los chorizos se considerarían como embutidos fermentados y en caso de alcanzarse valores por debajo de 5,0 también se podrían considerar estables a temperatura ambiente (Incze, 1992; Feiner, 2006). En estos casos se puede pensar si se pierde la condición de preparado cárnico fresco dentro del marco de la legislación europea y desde el punto de vista de los conceptos tecnológicos. Aunque en el proceso de elaboración del chorizo en México regularmente no se contempla un periodo de fermentación, secado y/o maduración, estos fenómenos pueden llegar a ocurrir de forma no controlada durante el oreo y comercialización (Escartin et al., 1999). En estos casos, de acuerdo a los valores de pH y humedad alcanzados, los chorizos mexicanos podrían llegar a clasificarse como embutidos fermentados y/o secos y no como embutidos frescos.

En conclusión, debido a que no se contempla una etapa de maduración o secado en el esquema general de elaboración del chorizo mexicano, se considera que este chorizo ha de entenderse como un embutido fresco. No obstante, parte de los chorizos del mercado habrían perdido esa condición durante su comercialización.

1.2 Propiedades sensoriales de los embutidos frescos y crudos curados

Resulta complejo definir las sensaciones generadas por los embutidos crudos. La apariencia, la sensación olfato-gustativa que se produce al comerlos, la sensación de textura en la boca, junto con las propiedades funcionales de aptitud para el consumo, los aspectos culturales y los hábitos alimenticios, son los principales factores que

influyen en el placer de comer estos embutidos (Savic y Savic, 1996). El objetivo último de un estudio sobre la calidad sensorial de un embutido crudo sería establecer la interrelación entre los parámetros del proceso de elaboración, los de composición y los sensoriales. De esta forma no sólo se determinaría su calidad sensorial, sino que se conocería cómo el proceso de elaboración afecta a las propiedades intrínsecas del embutido (composición, propiedades físicas) y cómo estos parámetros, así como las variables del proceso de elaboración, están relacionados con dicha calidad. Este objetivo es ambicioso por lo complejo del mismo dado el elevado número de parámetros en juego.

El color es una de las principales características sensoriales de los productos cárnicos que determinan su aceptabilidad. La evolución y estabilidad del color durante la maduración y/o conservación de los embutidos es un parámetro importante de su calidad. El color puede verse afectado negativamente por fenómenos de excesivo secado y por la oxidación o degradación de los pigmentos responsables.

Una de las causas de decoloración de los embutidos debido a la oxidación de pigmentos radica en el desarrollo de ciertas especies bacterianas con capacidad para oxidar a los pigmentos como por ejemplo algunas cepas pertenecientes al género *Lactobacillus* (Benezet et al., 1997). Estas bacterias son capaces de crecer en el embutido a bajas temperaturas y de producir y acumular H₂O₂ (Pérez-Dubé y Andújar, 2000). Por otro lado, la despigmentación no es necesariamente de origen microbiano, sino que también puede ser originada por el grado de autooxidación de los tejidos. Si en la elaboración del producto se emplean tejidos grasos y carnes que han permanecido almacenados durante mucho tiempo y que por lo tanto, pueden estar enranciados, estos pueden causar la decoloración del embutido durante su maduración o conservación (Pérez-Dubé y Andújar, 2000).

La especia resultante de la deshidratación de los frutos maduros de ciertas variedades de pimiento (*Capsicum* spp.) se caracteriza por su alto contenido en pigmentos carotenoides (capsanteno y capsorrubeno, fundamentalmente) que son responsables del llamativo color rojo final de los embutidos en los que se utiliza, como es el caso del chorizo (Mínguez et al., 1992). La variedad, cantidad y calidad del

Capsicum utilizado influye en el color de los embutidos. La adición de pimiento seco es muy popular en los embutidos fermentados en países de habla hispana. Para modificar o mejorar el color y también para reducir costos, se ha hecho común el uso de aditivos colorantes como los extractos de pimentón o el rojo cochinilla entre otros.

El color de los embutidos puede ser medido por determinación del contenido de pigmentos. Estos métodos incluyen el uso de reactivos químicos y requieren de un relativamente largo tiempo de análisis. Por otra parte, mediante el uso del espectrofotómetro de reflectancia es posible calcular el color de forma más rápida y sin el uso de reactivos. Uno de los sistemas más extendidos de cuantificación del color por reflectancia es el desarrollado por la CIE, mediante el que se obtienen los parámetros del espacio CIELab. Este sistema permite especificar el color en un espacio tridimensional, el eje L^* : representa la luminosidad; que va de 0 (negro) a 100 (blanco), el a^* es el componente rojo a verde y b^* el componente de amarillo a azul (Ansorena et al., 1997).

Los cambios en el color interno de los embutidos crudos han sido estudiados principalmente durante la etapa de maduración. Pérez-Álvarez et al. (1999) encontraron un aumento neto en el valor de L^* y de a^* y una disminución de b^* durante la maduración del salchichón, aunque el comportamiento de estos parámetros varió dependiendo de la etapa de la maduración que se considere (bien sea etapa inicial o bien etapa final). Un comportamiento similar fue encontrado por Üren y Babayigit (1997) en un embutido turco. Sin embargo, Casaburi et al. (2007) observaron un descenso de L^* , a^* y b^* en salamis italianos. Estos cambios, que muestran variabilidad entre estudios, se explicaron tentativamente en base a los fenómenos de formación de nitrosomioglobina, pérdida de humedad, descenso en el pH o reducción en el potencial redox y su correspondiente efecto sobre el pigmento cárnico. No obstante, se desconoce en gran medida la química de evolución de la mioglobina durante la maduración y conservación de los embutidos.

La deglución de un embutido crudo curado implica un trabajo con la lengua y una masticación en la que se produce saliva, se liberan jugos de la porción de embutido, se forma una película grasa en la cavidad bucal, se generan fragmentos, etc. De esta

forma, la textura es una característica sensorial de gran importancia en la carne y los productos cárnicos dentro de la que se consideran distintos atributos entre los que cabe destacar los siguientes: dureza, cohesividad, jugosidad, tamaño de grano, masticabilidad, etc. (Fernández-Fernández, 2002).

Una de las características de textura que presentan los embutidos crudos de gran importancia comercial, incluso antes ser deglutidos, es la consistencia de la masa, así como la cohesión o ligado de sus trozos entre sí. En este sentido, el tamaño de grano, la cantidad de sal y el amasado son partes del proceso de preparación de la masa cárnica con un importante efecto sobre la ligazón y cohesividad del magro y la grasa.

Otra característica relacionada directamente con la materia prima cárnica y que influye decisivamente en la dureza es la cantidad de tejido conjuntivo. Además, la cantidad de grasa no solo tiene un efecto directo sobre la dureza sino también sobre la jugosidad.

En los embutidos crudos curados, durante la maduración, mediante la acidificación de la masa se incrementa la firmeza en base a una coagulación de las proteínas por acidez (formación de gel) al acercarse el pH del embutido al punto isoeléctrico de las proteínas predominantes (Flores y Bermell, 1995). Según Baumgartner (1980), la consistencia se incrementa especialmente cuando el pH desciende por debajo de 5,4. En otras palabras, la parte de las proteínas que se solubiliza por la acción de la sal durante la operación de amasado de la pasta, al producirse la acidificación, coagula y actúa de cemento de unión entre los trozos de carne y grasa. Esta desnaturalización, junto con la deshidratación más o menos intensa son las causantes principales del aumento en la firmeza (Liepe et al., 1990).

Para la evaluación de la textura se han descrito distintos tipos de ensayos siendo el análisis de perfil de textura (TPA) uno de los más extendidos. Este análisis permite evaluar la dureza, cohesividad, adhesividad y elasticidad, y a partir de éstas calcular la masticabilidad y gomosidad (Bourne, 1978; Daubert y Foegeding, 2009). Esta es una técnica empírica que utiliza un ensayo de compresión de dos ciclos, normalmente con una máquina de ensayo universal. Este ensayo es registrado como la fuerza en función de la distancia de la compresión o el tiempo.

Los embutidos crudos contienen una gran cantidad de compuestos sápidos y volátiles que pueden estimular el sentido del gusto y olfato, produciendo sensaciones complejas durante su consumo que junto con las sensaciones generadas en el nervio trigémino de irritación, picor, etc., dan al embutido un sabor realmente complejo (Haefeli y Glaser, 1990; Mateo et al., 1996; Savic y Savic, 1996). Esos compuestos provienen de las propias materias primas o de los procesos fermentativos, proteolíticos y lipolíticos acaecidos durante la maduración o conservación. La determinación de los compuestos sápidos y volátiles de los embutidos se lleva a cabo mediante análisis cromatográfico. Paralelamente se pueden llevar a cabo análisis sensoriales que puedan llevar a correlacionar la presencia o cantidad de esos compuestos con la percepción del olor y sabor de los embutidos por los catadores.

A continuación se describirán las etapas del proceso de elaboración de los embutidos frescos y crudos curados incluyendo las fases de conservación en frío para los primeros y maduración para los segundos. En esta descripción se abordarán aspectos tecnológicos, microbiológicos y sensoriales.

1.3 Materias primas utilizadas en la elaboración de los embutidos frescos y crudos curados

1.3.1 Carne

La selección de la carne es indispensable en la elaboración de los embutidos ya que de ella dependerá en gran medida la calidad del producto final (Roncalés, 1995). El grado de contaminación, tiempo, temperatura de almacenamiento y pH, previos a la elaboración, e incluso la a_w de la carne son esenciales (Feiner, 2006). Este autor aconseja usar carne con bajos recuentos microbianos (óptimo 10^2 - 10^3 UFC/g, máximo 10^5 UFC/g), almacenada a temperatura de refrigeración o incluso de congelación (-1 a -10°C) y que su pH esté entre 5 y 6.

Las carnes con pH demasiado alto (DFD) pueden ocasionar problemas de multiplicación de la microbiota contaminante al encontrarse el pH cerca de la neutralidad. Además un pH elevado dificulta la transformación de los nitritos a monóxido de nitrógeno (disminuyendo la formación de nitrosilmioglobina y

generando así problemas de formación del color del curado) y el secado. Por el contrario, el uso de carnes con bajo pH (PSE) se tolera bien en la elaboración de embutidos, aunque el uso de cantidades elevadas de carne PSE (por ejemplo por encima del 20% sobre la cantidad total de carne) puede ser causa de defectos derivados de una desecación rápida y en exceso, defectos asociados a una coloración pálida y, además, se han relacionado con defectos en la textura (Townsend et al., 1980; Prieto y Carballo, 1997).

Por otra parte, es de destacar que el uso de carne de animales adultos (carne de cerdas y machos castrados, con mayor color y más baja a_w) para la elaboración de embutidos crudos curados se considera que mejora la calidad respecto al color, textura y, probablemente, sabor del producto final (Prändl et al., 1994; Rödel et al., 1995).

Finalmente, la carne utilizada para la elaboración de embutidos no debe de contener glándulas, grandes tendones o fascias o zonas con hemorragias. Los tejidos musculares lisos, tripas y estómagos que se consideran subproductos cárnicos pueden utilizarse. Sin embargo, estas materias primas poseen una peor capacidad de ligazón o unión, fundamental para la textura del producto (Rust, 1994), y su uso debe de estar señalado en el etiquetado según la legislación de la Unión Europea (Diario Oficial de las Comunidades Europeas, 2001).

1.3.2 Grasa

La grasa de cerdo es más apreciada que la de otras especies animales y es la que realmente se utiliza en la elaboración de embutidos. La grasa puede ser incorporada como materia prima independiente de la carne o venir unida al tejido muscular. La grasa es el segundo ingrediente en importancia de los embutidos crudos, es más barata que la carne y normalmente se adiciona en una cantidad tal que la masa inicial del embutido contenga entre 20 y 35% de grasa.

La grasa en los embutidos participa de forma importante en su calidad comestible ya que facilita la masticabilidad, mejora la apariencia, el color, la jugosidad y la untuosidad de los mismos (Prieto y Carballo, 1997). Además, participa en el sabor a través de los volátiles que contiene originariamente (en el animal recién sacrificado),

los que se forman durante la conservación o maduración mediante cambios lipolíticos y oxidativos y especialmente aquellos que aparecen durante el tratamiento térmico de cocinado (Calkins y Hodgen, 2007; Carrapiso, 2007). Otra implicación tecnológica de la grasa es el que condiciona la cinética de la pérdida de humedad de los embutidos crudos curados durante su secado o maduración (Stiebing y Rödel, 1988).

La grasa comúnmente utilizada es de consistencia dura proveniente de la región dorsal de las canales de cerdo o de otros depósitos grasos subcutáneos o intermusculares. Es importante la elección del tipo de grasa, ya que una grasa demasiado blanda contiene demasiados ácidos grasos insaturados que aceleran el enranciamiento y con ello la presentación de alteraciones de sabor y color, motivando además una menor capacidad de conservación. Igualmente la masa puede resultar demasiado blanda, con una consistencia al corte deficiente y superficies de sección grasientas (Frey, 1995). La firmeza de la grasa no solo depende del contenido de los ácidos grasos sino de la cantidad y madurez del tejido conectivo en la grasa.

Una práctica tecnológica para mejorar la aptitud de la grasa para elaborar embutidos crudos es preacondicionarla, normalmente antes de ser congelada, manteniéndola 2-3 días a temperaturas entre -2 y -4°C bajo una corriente de aire para reducir su humedad e incrementar el punto de fusión (Feiner, 2006).

La utilización de grasas oxidadas o de grasas propensas a la oxidación ocasiona defectos en el sabor del producto y un acortamiento de su vida útil. Las bajas temperaturas de almacenamiento, luz y/o oxígeno ambiental contribuyen al retraso de la oxidación lipídica (Zumalacárregui et al., 2000).

Además de estos factores tecnológicos, actualmente se está dando importancia a diversos parámetros relacionados con el valor nutritivo de las grasas animales, como son la relación entre ácidos grasos poliinsaturados y ácidos grasos saturados, la relación entre ácidos grasos omega-3 y omega-6, la cantidad de ácido linoleico conjugado o ácidos grasos trans o el colesterol (Valsta et al., 2005).

Respecto a la composición de la grasa de cerdo, cabe señalar que ésta contiene fundamentalmente cuatro tipos de ácidos grasos: oleico (C18:1), palmítico (C16:0),

esteárico (C18:0) y linoleico (C18:2). La cantidad de estos ácidos grasos dependen fundamentalmente de la alimentación y también de la edad y el sexo. En cuanto a la alimentación, dada su condición de animal monogástrico, el cerdo incorpora a sus propios tejidos una gran parte los ácidos grasos tal y como los ingiere en la dieta, por lo que la alimentación pasa a ser un factor determinante (Prieto y Carballo 1997), ya que influye considerablemente en la composición de la grasa y su estabilidad a la oxidación (Feiner, 2006). Por lo que respecta al sexo, comparando hembras y machos castrados, se ha observado que los machos enteros presentan un contenido de ácidos grasos poliinsaturados más elevado (Wood et al., 2008).

1.3.3 Sal común, agentes del curado y coadyuvantes

Sal (NaCl)

La sal común es un ingrediente esencial en la elaboración de los embutidos ya que tiene repercusiones sobre su sabor, estabilidad microbiana y textura. Esto es debido a su efecto saborizante, su acción como conservante (ya que contribuye a la reducción de la a_w) y su función en la activación y solubilización de las proteínas miofibrilares, las cuales una vez en solución presentan propiedades funcionales de emulsión de grasa, retención de agua y ligazón o establecimiento de uniones químicas entre las partículas de carne y grasa.

La cantidad de sal utilizada en la elaboración de embutidos varía de entre 1 y 5%. Los embutidos madurados contienen generalmente un 3-5% de sal, mientras que los frescos generalmente contienen un 1,5-2% (Rust, 1994). La adición de sal ocasiona una disminución de la a_w de la masa cárnica, alcanzándose valores aproximados de 0,96, lo que junto con el pH ligeramente ácido de la masa cárnica, las condiciones de anaerobiosis en la masa y la eventual presencia de nitritos, crea unas condiciones adecuadas para el desarrollo de las BAL que interfieren sobre el crecimiento de otros microorganismos considerados como indeseables, por ejemplo bacterias de putrefacción (Girard, 1991; Varnam y Sutherland, 1998). Sin embargo, una adición escasa o excesiva de sal puede traer como consecuencia el crecimiento de otros microorganismos no deseados distintos a las BAL o inhibición de las propias BAL, respectivamente (Vösgen, 1994).

Por otra parte la sal puede afectar negativamente al embutido favoreciendo el enranciamiento de su grasa, ya que en sí misma es un agente pro-oxidante (Rust, 1994; Aguirrezábal et al., 2000). También, la sal puede tener un efecto perjudicial desde el punto de vista nutricional relacionado con la hipertensión arterial y el consecuente riesgo cardiovascular. En este sentido, hay investigaciones que buscan reducir el contenido en Na de los embutidos crudos curados basándose en la sustitución parcial de NaCl por KCl (Jiménez-Colmenero, 1996).

Nitratos y nitritos

A escala industrial y también artesanal, en los embutidos crudos curados se utilizan los nitratos y nitritos (Frey, 1995). La adición de estos aditivos en los productos cárnicos curados (con agentes curantes) frescos o madurados está regulada tanto por la norma oficial mexicana (NOM-145-SSA1-1995) como por la Unión Europea en la lista positiva de aditivos (Diario Oficial de las Comunidades Europeas, 1995). En México la cantidad máxima permitida de nitritos es de 156 ppm, que es muy parecida a la de la Unión Europea, de 150 ppm. Sin embargo, en la Unión Europea la adición de nitritos no está autorizada en los chorizos frescos mientras que en la legislación mexicana sí.

Los nitratos y nitritos desempeñan un papel importante en el desarrollo de características esenciales en los embutidos crudos curados, ya que intervienen en la aparición del color rosado característico de éstos, dando un sabor y aroma esencial al producto. Los nitritos, además, retardan la oxidación lipídica (lo que se ha atribuido a que el Fe de la nitrosomioglobina tiene menor potencial catalítico en la reacción de oxidación) y son bacteriostáticos, especialmente considerados por la acción inhibidora sobre la germinación de esporos bacterianos del género *Clostridium* (Girard, 1991).

Normalmente se usa el nitrato o nitrito sódico o potásico. En el caso de los nitratos la dosis suele ser de unos 30 g por cada 100 kg de carne, y los nitritos se emplean a niveles de 15 g por cada 100 kg de carne. Si se adicionan nitratos en lugar de nitritos, es recomendable asegurarse de que van a actuar sobre los mismos bacterias con

actividad nitrato reductasa (normalmente micrococáceas) que los transformen en nitritos (Rust, 1994).

Finalmente cabe señalar que en la fabricación artesanal no se suele adicionar ni nitratos ni nitritos. Sin embargo, se han encontrado cantidades significativas de estos compuestos derivadas de ingredientes como el ajo y el pimentón (Varnam y Sutherland, 1998; Aguirrezábal et al., 2000).

Ascorbato o eritorbato

También se usan en los embutidos el ácido ascórbico, ascorbato o eritorbato sódico. Estos se pueden agregar a la masa del embutido con un fin antioxidante. Su uso se cifra normalmente en 0,5 g por kg de masa, cantidad que se considera suficiente para que ejerzan sus efectos (en el caso del eritorbato éste es el máximo permitido en la lista positiva de aditivos; Diario Oficial de las Comunidades Europeas, 1995). Estos compuestos contribuyen a la formación del color del curado y aumentan la estabilidad de las grasas y pigmentos a la oxidación ya que contribuyen al descenso del potencial redox (Alley et al., 1992; Sunesen et al., 2004).

Fosfatos

Los fosfatos se emplean ampliamente como aditivos en los productos cárnicos, principalmente en los cocidos y su función está basada en su aptitud para quelar cationes y para disociar el complejo actomiosina. Se utilizan sales sódicas de los difosfatos, trifosfatos o polifosfatos, que de acuerdo al contenido en Na o H pueden presentar en disolución valores de pH entre 3,8 y 10,7 (Gerhardt, 1979).

La adición de fosfatos a los productos cárnicos está regulada por la Unión Europea en la lista positiva de aditivos (Diario Oficial de las Comunidades Europeas, 1995) y el máximo que se puede añadir es de 5 g/kg (expresado como P_2O_5). La principal causa de tal limitación es el hecho de que los fosfatos son agentes quelantes de metales que pueden actuar a nivel del tracto digestivo impidiendo la absorción de algunos cationes metálicos con importancia nutritiva (como el Ca^{2+} o el Mg^{2+}), además están asociados a trastornos en el metabolismo del Ca y de los huesos (Kemi et al., 2009).

El efecto de los fosfatos en los productos cárnicos tratados por el calor es amplio y claro. Se ha observado que los fosfatos mejoran la textura (más jugosidad, menor dureza), favorecen la ligazón entre trozos de carne, previenen la ruptura de la emulsión en las pastas finas, incrementan el rendimiento, retardan la oxidación de las grasas y aumentan la estabilidad del color (Frey, 1995; Varnam y Sutherland, 1998).

En los embutidos crudos el uso de fosfatos no es tan frecuente como en los cocidos. La utilidad de los fosfatos en estos embutidos se basa según Feiner (2006) en que facilitan el llenado de la masa en tripas y reducen el riesgo de embarrado de la masa. Además, en el trabajo de Fonseca et al. (2011) se ha observado que los fosfatos en los embutidos crudos curados pueden facilitar el proceso de secado, aumentar la firmeza y cohesividad del embutido y contribuir a una mayor estabilidad oxidativa.

Azúcares

En los embutidos fermentados, los azúcares presentes en la masa cárnica (endógenos o añadidos) son el sustrato principal de las BAL. La cantidad de glucosa en la carne fresca es escasa y no llega a 10 $\mu\text{mol/g}$. Las especias son una fuente de azúcares, pero debido a que se usan en pequeña cantidad, este aporte es moderado. Por lo tanto, para asegurar la presencia de suficiente cantidad de sustrato para el crecimiento de las BAL, con la subsecuente formación de ácido láctico, en la elaboración de muchos embutidos crudos curados, especialmente en los de tipo industrial, se suelen agregar azúcares a la masa cárnica como ingredientes específicos. En general, la adición de azúcares a la masa de los embutidos crudos curados tiene lugar en cantidades entre 0,2 y 0,7% (Incze, 1992; Lücke, 1994). Como regla general un 1% de azúcar fermentable en la masa cárnica trae como consecuencia un descenso de una unidad de pH (Vösgen, 1994).

Acidulantes

Con la adición de estos productos se busca un descenso del pH en el embutido. Se recomienda su uso para garantizar la seguridad de los embutidos (Feiner, 2006). Los acidulantes más empleados son los ácidos orgánicos láctico, cítrico y acético. En este sentido en México es frecuente agregar al chorizo una cantidad determinada de vinagre de caña o de manzana. Para provocar la acidificación también se puede

emplear glucono- δ -lactona, que bajo la influencia del agua contenida en la mezcla se hidroliza y transforma en ácido glucónico, con lo que desciende el pH sin que intervengan los microorganismos (Frey, 1995).

1.3.4 Otros ingredientes

Espicias y condimentos

Los condimentos y las especias constituyen un elemento clave en los embutidos en general y los embutidos crudos en particular. El uso de determinados condimentos y especias es una característica distintiva de los embutidos. Normalmente se emplean mezclas de varias especias que se pueden adicionar enteras o en varias de estas formas: molidas, aceites esenciales y oleorresinas. Además de impartir aromas y sabores especiales al embutido, ciertas especias como la pimienta negra, el pimentón, el tomillo o el romero y condimentos como el ajo tienen propiedades antioxidantes (Rust, 1994).

Las especias pueden manifestar un efecto estimulante en el crecimiento de las BAL y/o la formación de ácidos orgánicos producidos por las BAL, lo que se ha atribuido, al menos parcialmente, a su contenido en manganeso (Zaika y Kissinger, 1984). Una mayor presencia de Mn^{2+} en el embutido puede acelerar la producción de ácido láctico, sin que se vea afectado el número total de BAL (Demeyer et al., 1987; Hagen et al., 2000). El efecto estimulante de las especias sobre las BAL, aún usando la misma formulación, es variable en función de la procedencia de las especias utilizadas, ya que la procedencia afecta a su composición (Vösgen, 1994).

Como aspecto negativo, las especias pueden tener elevada contaminación microbiana que puede ocasionar fallos en el embutido o incluso supone un peligro de índole sanitario. Los extractos de especias no tienen tanta contaminación microbiana pero pueden haber perdido alguna de las propiedades tecnológicas descritas anteriormente (Vösgen, 1994). La contaminación microbiológica de las especias es considerada como un criterio de calidad y una medida de su valor. La vida útil de los productos elaborados con especias, la aplicación de la tecnología de producción y la calidad del producto final pueden por lo tanto verse afectadas (McKee, 1995; Carlin, 2011).

Proteínas no cárnicas e hidrocoloides

En la actualidad y con el fin de abaratar costos de materias primas reduciendo el contenido de carne sin que se vea afectada la funcionalidad tecnológica de la masa cárnica, se usa en la elaboración de embutidos una cierta cantidad de proteínas no cárnicas (vegetales o lácteas) y sustancias de relleno como es el caso de los almidones (Durand, 2002). En México, cuantitativamente, los principales elementos no cárnicos utilizados en la elaboración de chorizos, son la soja texturizada, el gluten y la fibra de trigo (Ing. Brenda Maya, personal técnico de FABPSA).

La soja texturizada (ST) es un extensor de la carne cuya composición mayoritaria es: 52-54% de proteína; 30-32% de carbohidratos; 6-8% de humedad; 5-6% de cenizas; 3% de fibra bruta y 1% de grasa (Endres, 2001). Este producto se utiliza como ingrediente reemplazante de la carne en la elaboración de una gran variedad de productos cárnicos elaborados a base de carne picada o emulsiones cárnicas. De acuerdo con Hoogenkamp (2008), cuando la soja reemplaza a la carne magra y reduce considerablemente los costos de formulación, mejora el rendimiento. La ST brinda una textura y apariencia visual similar a la de la carne. Comúnmente la cantidad adicionada en los productos cárnicos va desde 2 hasta 12%. Si la adición es elevada, el producto final puede presentar efectos negativos en su calidad sensorial (Rocha McGuire, 2008). La ST puede ser incorporada seca, parcial o totalmente hidratada. En el último caso, la ST usualmente retiene de 2-3 veces su peso en agua. En la elaboración de chorizo se ha indicado que la ST se puede incorporar en cantidades de hasta un 2,5% (peso seco) con el fin de aumentar el rendimiento sin que se produzcan cambios en las características sensoriales ni en la estabilidad oxidativa y microbiológica (Porcella et al., 2001).

El gluten es la fracción insoluble en agua de las proteínas del trigo. Por la misma razón de su insolubilidad, ligada a una fuerte reticulación, estas proteínas no presentan capacidad emulsificante ni gelificante, solamente son capaces de fijar grandes cantidades de agua (Durand, 2002).

La fibra de trigo es un concentrado fibroso (con un pequeño tamaño de partícula y un total de hasta 97% de fibra insoluble) cuyo uso en los derivados cárnicos tiene

distintos objetivos: enriquecer el contenido de fibra, reducir la grasa y el valor calórico, mejorar la textura y/o controlar la migración de humedad, reduciendo las mermas de peso. Debido a su carácter neutro e inerte, esta fibra se puede utilizar sin modificación sensorial (Vitacel™, 2011).

El uso de fibra como reemplazante de grasa en los embutidos crudos curados es una alternativa planteada en algunos estudios de investigación sobre embutidos bajos en grasa (Jiménez-Colmenero et al., 2001; Mendoza et al., 2001; García et al., 2002a). En estos estudios se ha utilizado la inulina o fibras de melocotón (durazno), manzana o naranja y se ha concluido que se puede llevar a cabo una reducción parcial de la grasa, nunca mayor al 50%, manteniendo un buen nivel de aceptación de los embutidos.

El empleo de materias primas ricas en proteínas no cárnicas en los chorizos crudos curados está regulado en España por la orden de 7 de febrero de 1980 (BOE N° 70 de 21 de marzo de 1980). La cantidad máxima admitida de otro tipo de proteínas está entre el 1 y 3% dependiendo de la categoría de calidad. Igualmente, en dicha orden se permite la adición de hidratos de carbono insolubles en agua entre 1,5 y 2%, cantidad que está en función de la categoría de calidad. Para chorizos frescos no se ha encontrado ninguna norma de calidad que especifique limitaciones en el uso de proteínas no cárnicas o hidratos de carbono insolubles. Tampoco en la legislación mexicana se han observado límites (NOM-145-SSA1-1995).

Antioxidantes y conservantes distintos a los agentes y coadyuvantes del curado

Los antioxidantes son un grupo de compuestos que retardan el desarrollo del enranciamiento oxidativo de la grasa y de los pigmentos. El ácido ascórbico o sus sales y el eritorbato sódico (compuestos a los que se hizo mención anteriormente) son muy utilizados en los embutidos crudos. Por el contrario, el uso de antioxidantes sintéticos como galato de propilo, BHT, BHA está muy limitado. En la Unión Europea no se permite su uso en la elaboración de embutidos frescos o madurados y en México solo están autorizados para los embutidos madurados, con un nivel máximo de 0,1 g/kg.

En la elaboración de embutidos crudos curados se permite el uso de una serie conservantes (los ácidos sórbico, benzoico y PHB o sus sales) con una acción inhibitoria sobre mohos y levaduras (Durand, 2002). En la Unión Europea (Diario Oficial de las Comunidades Europeas, 1995) su uso sólo está permitido para su adición en superficie. En México, de acuerdo a la NOM-213-SSA1-2002), se permite su uso en los embutidos crudos, tanto en masa como en superficie, con la limitante de que la suma de todos esos conservantes no debe ser mayor a 1000 mg /kg.

1.3.5 Tripas

Las tripas han sido los envases tradicionales para los productos embutidos. Actualmente se utilizan tripas naturales o artificiales. Las tripas naturales, una vez obtenidas de los animales de abasto y limpiadas, se conservan en sal, en salmuera, o secas. Este tipo de tripas antes de su uso se deben lavar y dejar en remojo en agua para hidratarse y eliminar la sal, pudiéndose agregar ácido láctico para mejorar la estabilidad de la tripa (Heinz, 1987; Rust, 1994). Las tripas naturales pueden ser grasas, semigrasas o magras.

Grasas: están provistas de la capa serosa y/o de la mucosa del tejido intestinal por lo que son bastante impermeables. Para aumentar su permeabilidad suelen sufrir un raspado en su superficie. Durante la fase de secado la pérdida de peso del embutido suele ser inferior a la que se produce en los otros tipos de tripas.

Semigrasas: están desprovistas de serosa o de mucosa según el tipo de embutido que se quiera obtener. Favorece la desecación gradual del producto durante el secado y la maduración.

Magras: son quizá excesivamente permeables y requieren una atención especial durante el secado para evitar una excesiva desecación.

Las tripas mal conservadas pueden dar lugar a problemas de calidad microbiológica o enranciamiento. La calidad microbiológica de las tripas depende de la higiene de su obtención, del manejo y las condiciones de almacenamiento.

Hay distintos tipos de tripas artificiales pero las más utilizadas en la elaboración de embutidos son las tripas de colágeno. Éstas son una alternativa lógica a las tripas

naturales. Se elaboran con tejidos animales ricos en colágeno como la piel de vacuno. El colágeno se solubiliza y después se extruye y endurece. Poseen las mismas características de procesado que las tripas animales. Son muy permeables y el producto se deseca con rapidez, hecho que hay que controlar para evitar la formación de costra superficial en el embutido (SSICA, 1992).

1.4 Proceso de elaboración de los embutidos frescos

Las fases del proceso de elaboración de embutidos frescos incluyen el corte y picado de la carne, mezclado y amasado de esta con ingredientes y aditivos (sal, hierbas, especias y otros ingredientes), embutido, atado, oreo, maduración en caso de los embutidos madurados, opcionalmente ahumado, envasado y almacenamiento.

1.4.1 Picado de la carne - grasa y amasado

Una característica básica distintiva de los embutidos crudos es el tamaño de la partícula cárnica (Rust, 1994). En general los embutidos crudos admiten grados muy distintos de picado, yendo desde los muy atomizados (como el cervelat o la sobrasada) hasta los groseramente picados (como el chorizo de cerdo ibérico).

El picado debe de hacerse a bajas temperaturas, con los ingredientes fríos, preferiblemente congelados y evitando en lo posible que durante la fragmentación de la carne y grasa se produzca calentamiento; lo preferible es que la temperatura durante esta etapa no exceda los 2°C en la pasta terminada (Frey, 1995). Con esto se evita el embarrado, donde la grasa se funde formando una película en torno a las partículas de carne magra o acumulándose inmediatamente por debajo de la tripa (SSICA, 1992). El embarrado dificulta el ligado de las partículas de carne y el secado del embutido. El frío en el picado también es conveniente desde un punto de vista microbiano (Leistner, 1995).

Tras el picado de la carne y grasa se procede a la adición de sal y del resto de los ingredientes. Los propósitos del amasado son homogeneizar los componentes de la masa cárnica y activar las proteínas miofibrilares para que haya ligazón entre partículas de carne y grasa (Feiner, 2006).

1.4.2 Reposo de la masa o premaduración

Este paso, que consiste en dejar la masa compactada en reposo a temperatura de refrigeración durante 24-48 horas antes de proceder al embutido, es opcional, siendo más corriente encontrarlo en productos artesanales que industriales (Leistner, 1995). La inclusión de esta etapa en el proceso de elaboración de los embutidos crudos curados se justifica con varias explicaciones. Una de ellas se centra en aspectos microbiológicos, ya que en esta etapa la microbiota inicial de la carne presente en la masa se estresa previniendo así el desarrollo de los microorganismos no deseados y facilitando el desarrollo de la microbiota deseada (Rödel et al., 1995). El proceso también ayuda a bajar el potencial redox de la masa antes de su embutido y permite una mayor homogeneización de los componentes de la mezcla. También se ha visto que promueve la actividad de las bacterias nitrato reductoras (Bacus, 1986; Sanz et al., 1997a).

1.4.3 Embutido de la masa, atado y oreo

La masa cárnica es introducida en tripas naturales o artificiales. Estas tripas deben tener la capacidad de ser permeables a la humedad y adherirse a la superficie de la carne de modo que no se desprendan mientras el embutido se deseca y se contrae (Rust, 1994).

Durante el rellenado de las tripas es importante que la masa no esté a más de 4-5°C, ya que en caso contrario la grasa podría fusionarse presentando problemas de embarrado y, por otro lado, a temperaturas elevadas puede tener lugar una peligrosa proliferación microbiana. También es necesario evitar durante esta fase la entrada de aire en la tripa, ya que el oxígeno presente en el producto ejerce influencia negativa sobre la estabilidad del color y sobre los fenómenos microbianos deseables que tienen lugar durante la maduración (Frey, 1995). Después, el embutido normalmente se ata en porciones de distinto tamaño y posteriormente se oreo durante unas horas, normalmente a temperatura ambiente, para que se pierda el exceso de humedad superficial.

Después del oreo, los embutidos destinados a su comercialización como embutidos frescos no se maduran de forma intencionada. Estos se deberían almacenar a

temperatura de refrigeración hasta su consumo (ver 1.5). Por el contrario, los embutidos destinados a su comercialización como embutidos crudos curados, aunque hayan seguido el mismo proceso de elaboración que el descrito para los embutidos frescos, se tienen que madurar antes de su comercialización (ver 1.6).

1.5 Almacenamiento a refrigeración de los embutidos frescos

1.5.1 Generalidades

Los embutidos frescos se refrigeran para su conservación. Desde un punto de vista sensorial, la aplicación del frío en la carne y los productos cárnicos responde principalmente a dos propósitos: la de preservar la calidad inicial con vistas a su consumo ulterior retrasando la alteración del producto, o a la de mantenerlo a temperaturas adecuadas para hacer posible que acontezcan determinados procesos que vayan a contribuir de manera esencial a configurar los atributos (textura, aspecto, sabor, olor, etc.) característicos del producto como, por ejemplo, los procesos bioquímicos *post-mortem*, de la maduración de la carne. En el caso de los embutidos frescos es el primero de los dos propósitos mencionados es el que predomina.

Al estudiar los cambios químicos que ocurren durante la alteración de la carne a bajas temperaturas debe diferenciarse entre los cambios inducidos por las enzimas endógenas presentes en los tejidos animales y los debidos a la acción microbiana. El efecto conservador de las bajas temperaturas se debe fundamentalmente a que disminuye la velocidad de las reacciones químicas y enzimáticas que van a dar lugar al deterioro del producto, limitando o inhibiendo el desarrollo de microorganismos.

Las causas de alteración de los embutidos frescos tienen origen predominantemente microbiano de forma que la vida útil de estos embutidos depende en gran medida de la carga microbiana que a su vez viene dada por la higiene en su elaboración (Carballo y Jiménez, 2001). La masa inicial del embutido tiene normalmente una carga microbiana entre 10^2 - 10^6 UFC g⁻¹ dependiendo de la historia previa de la materia prima y las condiciones de procesado. Los microorganismos localizados en el medio ambiente (entorno) donde se procesan los alimentos contribuyen a la microbiota de los mismos. Un entorno extremadamente contaminado conduce a la

obtención de productos de poca calidad microbiológica. Al mismo tiempo la utilización de una amplia variedad de ingredientes no cárnicos (especias y condimentos) en la elaboración de embutidos implica que puedan ser responsables de un aumento en la carga si esos ingredientes tienen una carga microbiana elevada.

Además, de la carga inicial, durante la conservación de los embutidos frescos a refrigeración tiene lugar un crecimiento microbiano que condiciona su vida útil y depende de las características intrínsecas de los embutidos y de las condiciones de conservación. A lo largo del periodo de conservación, las bacterias presentes en el embutido utilizan en su metabolismo para su crecimiento glucosa, aminoácidos y otros compuestos de bajo peso molecular (Gill, 1976). La degradación de estos compuestos y el desarrollo microbiano subsiguiente genera cambios acompañados de un aumento del pH debido fundamentalmente a la formación de amoniaco por degradación bacteriana de los aminoácidos (Forsythe y Hayes, 2007), formación de olores anormales, cambios en el color, limosidad, visualización de colonias, etc.

Respecto a las condiciones intrínsecas que condicionan el desarrollo microbiano, comparando los embutidos frescos con la carne fresca intacta (no picada), por una parte, hay condiciones asociadas al picado de la carne que favorece el crecimiento microbiano en los primeros. Durante el picado de la carne se liberan constituyentes y líquidos celulares, proporcionando una fuente fácilmente accesible de nutrientes a los microorganismos. También se produce un aumento del área superficial de la carne con lo que el crecimiento microbiano es mucho mayor al poder disponer más fácilmente de oxígeno, permitiendo que los microorganismos presentes sobre la superficie, se dispersen por toda la carne. Por otra parte, la adición de sal y la posibilidad de descenso del pH debido a la adición de ingredientes ácidos o la fermentación microbiana, inhiben el crecimiento de algunos grupos microbianos. En relación a las condiciones de conservación, cabe mencionar el efecto sobre el desarrollo microbiano de la temperatura de conservación, la humedad relativa ambiental (que condiciona el crecimiento en superficie) y el tipo de envasado. Estas condiciones no solo afectan a la cantidad de microorganismos sino también al tipo de microorganismo que se desarrolle en el embutido.

Respecto a la temperatura, los preparados cárnicos frescos se conservan a temperaturas entre -1 y 7°C siendo preferible desde el punto de vista microbiano la temperatura más baja posible. Los productos almacenados a -1°C no se congelan porque la sal presente en los mismos disminuye el punto de congelación a alrededor de -2°C (dependiendo de la cantidad de sal presente). A temperaturas entre -1 y 2°C las esporas se mantienen bajo control y gran parte de las bacterias vegetativas no pueden crecer (Feiner, 2006).

1.5.2 Principales grupos microbianos asociados a los embutidos frescos

La población de los derivados cárnicos frescos elaborados con carne picada es muy variada, en principio es similar a la de la carne fresca, donde están presentes de forma predominante las *Pseudomonas* y enterobacterias (Ordóñez et al., 1999). Durante el almacenamiento a refrigeración, debido a que la masa inicial del embutido tiene una a_w de 0,95-0,97 (por la adición de sal, azúcares, etc.) y el oxígeno presente en su interior disminuye, en condiciones normales, después de uno o varios días, las BAL llegan a ser uno de los principales grupos microbianos de la masa (Lücke, 1998; Ordóñez et al., 1999; Moretti et al., 2004). No obstante son varios los grupos microbianos que pueden experimentar un aumento en sus recuentos durante el almacenamiento de los embutidos frescos, tanto en masa como en superficie, que conducen finalmente a la alteración de estos derivados cárnicos. En la Tabla 3 se enumeran algunos de los grupos microbianos, géneros y especies más importantes presentes en los derivados cárnicos frescos y a continuación se describen algunas de las características de los mismos. En los embutidos frescos como salchichas y chorizos, que llevan sal, condimentos y especias y las condiciones en la masa son de microaerofilia, los microorganismos alterantes que predominan son las BAL, las enterobacterias, los micrococos y estafilococos (Bermúdez y Rodríguez, 2001).

Tabla 3. Microorganismos de interés en la alteración de los embutidos crudos

Microorganismos	Grupos de interés	Géneros microbianos
Bacterias	Psicrotrofos gram negativos	<i>Pseudomonas</i> , <i>Alcaligenes</i> , <i>Moraxella</i> , <i>Acinetobacter</i> , <i>Yersinia</i> , <i>Listeria</i>
	Esporulados gram positivos	<i>Bacillus</i> , <i>Clostridium</i>
	Enterobacterias	<i>Salmonella</i> , <i>Escherichia</i> , <i>Yersinia</i> , <i>Enterobacter</i>
	Bacterias lácticas	<i>Lactobacillus</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>Carnobacterium</i> , <i>Vagococcus</i>
	Otros	<i>Brochotrix</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Staphylococcus</i>
Levaduras		<i>Candida</i> , <i>Cryptococcus</i> , <i>Rhodotorula</i> , <i>Trichosporon</i> , <i>Debaryomyces</i>
Mohos		<i>Penicillium</i> , <i>Aspergillus</i> , <i>Mucor</i> , <i>Monilia</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Cladosporium</i> , <i>Sporotrichum</i> , <i>Thamnidium</i>

Fuente: Tabla adaptada de Bermúdez y Rodríguez (2001) y García et al. (2002b)

1.5.2.1 Psicrotrofos gram negativos

Este grupo microbiano lo componen bacilos gram negativos, aerobios y no fermentadores (utilizan los azúcares y otros sustratos principalmente por la vía oxidativa) capaces de crecer a bajas temperaturas. Son bacterias que crecen de forma dominante en la superficie de la carne y derivados cárnicos en refrigeración, siempre que la a_w sea suficientemente alta y se den condiciones de aerobiosis. La adición de sal a la carne y el picado de la misma facilitan el desarrollo de otros grupos microbianos (por ejemplo las BAL) en detrimento de este grupo.

Dentro de este grupo destacan por su presencia en carne y productos cárnicos las *Pseudomonas* spp., *Shewanella* spp., *Aeromonas* spp., y *Acinetobacter* spp. Muchos de estos microorganismos, especialmente *Pseudomonas* spp., son capaces de utilizar una gran cantidad de sustratos, mayor que otras bacterias alterantes (Dainty, 1996; Cabeza-Herrera et al., 2006). La concentración de glucosa juega un papel clave, ya que una vez agotada la glucosa estas bacterias degradan aminoácidos y otros compuestos del nitrógeno no proteico. Es entonces cuando empiezan a notarse signos de alteración en el aroma del producto (Drosinos et al., 2006). Un crecimiento excesivo (recuentos superiores a 6 unidades logarítmicas por cm^2 – estas bacterias crecen en la superficie por ser aerobios) genera malos olores y sabores, incremento del pH, limosidad en la superficie de la carne y cambios indeseables de color (Gill, 1996; Feiner, 2006).

1.5.2.2 Esporulados gram positivos

Este grupo microbiano comprende un amplio conjunto de bacterias mesófilas con forma bacilar, capaces de formar esporas. Dentro de este grupo se encuentran tanto bacterias aerobias del género *Bacillus* (mesófilos, catalasa positiva), como anaerobias estrictas, género *Clostridium* (termófilos, catalasa negativa). Debido a su condición de esporulados, estos microorganismos están ampliamente distribuidos en el ambiente.

Gran parte de los esporulados de los embutidos podrían proceder de las especias, u otros ingredientes no cárnicos. Su desarrollo en el chorizo es en principio posible debido a su capacidad de crecer a temperaturas de refrigeración, especialmente especies del género *Clostridium* (Aston y Bernard, 2001; Huis, 1996). Sin embargo, el crecimiento competitivo de otras bacterias como *Pseudomonas* spp., o BAL, una baja a_w (0,90-0,95) y un bajo pH (4,3-5,0) llegan a inhibir su crecimiento. Es conocido también que la germinación de las esporas de *Clostridium* se ve inhibida por la presencia de nitritos.

Los efectos alterantes de estos esporulados en los alimentos en general y los embutidos en particular en donde crecen, se deben a que poseen una importante actividad proteolítica y/o lipolítica (Braun et al., 1999; Hasan et al., 2006) y a que generan sustancias volátiles con aromas desagradables a partir del metabolismo de aminoácidos, azúcares y ácidos orgánicos.

1.5.2.3 Enterobacterias

Las enterobacterias son bacterias gram negativas, oxidasa negativas, capaces de reducir nitrato a nitrito, anaerobias facultativas, catalasa positiva, no formadoras de esporos y fermentadoras de carbohidratos en condiciones de anaerobiosis (Kornacki y Johnson, 2001). La mayoría de las enterobacterias son habitantes comunes del tracto gastrointestinal por lo que su presencia en los alimentos puede indicar una contaminación fecal. Por ello se les considera microorganismos indicadores de contaminación fecal (Yousef y Carlstrom, 2006). Se debe tener presente, sin embargo, que las enterobacterias que se encuentran en los alimentos pueden tener un origen fecal o no. La presencia de números elevados de enterobacterias en un alimento puede deberse al crecimiento de un pequeño inóculo de origen no fecal.

En ocasiones este grupo microbiano puede ser responsable de la alteración de los preparados cárnicos frescos (olores desagradables) debidos a la descomposición de aminoácidos una vez agotada la glucosa o glucosa-6-fosfato (Nielsen, 1983; Cabeza-Herrera et al., 2006). Algunas de las enterobacterias aisladas con frecuencia de los productos cárnicos envasados al vacío y con atmósferas modificadas pertenecen a los géneros *Serratia* y *Hafnia*. La alteración por enterobacterias se produce principalmente cuando el pH es elevado ($>6,0$) y el contenido salino bajo ($<4\%$). Por el contrario, bajos valores de pH, altas concentraciones salinas, así como la presencia de nitritos y la interacción antagónica de las BAL frente a las enterobacterias inhiben su crecimiento e incluso provocan un descenso en los recuentos de este grupo microbiano (Vermeiren et al., 2005).

1.5.2.4 Bacterias ácido lácticas (BAL)

Las BAL son bacterias gram positivas, catalasa negativas, cocobacilos o bacilares inmóviles, anaerobias microaerófilas, con un metabolismo eminentemente fermentativo y muy resistentes a bajos valores de pH. Se clasifican en homofermentativas y heterofermentativas, las primeras degradan la glucosa a ácido láctico (glucólisis) mientras que las heterofermentativas además de degradar la glucosa y originar ácido láctico, pueden también formar ácido acético, CO_2 y etanol (Weber, 1994).

Las BAL son las responsables de la fermentación que conduce a la elaboración de los embutidos fermentados. La fermentación del embutido por BAL conlleva la producción de ácido láctico que provoca el descenso del pH creando un medio inadecuado para el crecimiento de otros microorganismos patógenos o alterantes con menor tolerancia a la acidez. Adicionalmente, una población elevada de BAL en un alimento fermentado compite fuertemente por los nutrientes con el resto de la microbiota allí presente y, en consecuencia, se aumenta la seguridad del producto y retrasa su alteración (Yousef y Carlstrom, 2006). Además las BAL pueden producir bacteriocinas con acción sobre otras bacterias (Moreno et al., 1993).

La alteración por BAL en carne y preparados cárnicos frescos es sensorialmente menos apreciable que la producida por otros microorganismos (Nychas y Tassou,

1997) y se detecta una vez transcurrido cierto tiempo desde que se alcanzan los recuentos máximos (8-9 unidades logarítmicas) en el interior de los productos o superficie de los envasados al vacío o en atmósfera modificada (ICSMF, 2001). Esta alteración cursa con acidificación excesiva (sabor ácido y cambios en textura), aromas atípicos de diverso tipo, enverdecimiento y/o limosidad superficial (Cabeza-Herrera et al., 2006).

1.5.2.5 *Brochotrix thermosphacta*

Esta bacteria es un bacilo gram positivo, no esporulado, no móvil, capaz de crecer a bajas temperaturas tanto en condiciones aerobias como anaerobias. Su papel como alterante se manifiesta principalmente en carne y productos cárnicos envasados al vacío o en atmósferas modificadas. En su metabolismo produce sustancias que afectan el olor del producto independientemente de que haya o no glucosa como sustrato (Gill, 1996). A partir de la glucosa puede originar diversas sustancias como ácido láctico, diacetilo, acetoína, ácido propiónico, butírico, etanol, 2-propanona, 2-heptanona, 3-metilbutanol y 2-metilpropanol (Joffraud et al., 2001; Sanz et al., 2005; Cayré et al., 2005). En condiciones anaerobias el lactato y etanol forman hasta el 90% de los productos derivados del metabolismo de la glucosa (Cabeza-Herrera et al., 2006).

1.5.2.6 *Micrococcus*

Los micrococos son cocos esféricos gram positivos y catalasa positivos. Son capaces de crecer a concentraciones relativamente elevadas de sal (halotolerantes; cantidades que exceden el 5% de NaCl) y a bajas temperaturas. Por el contrario, su crecimiento se ve inhibido por los bajos valores de pH (<5,3; Johansson et al., 1994).

En los embutidos crudos curados el desarrollo de micrococos es considerado como deseable y se llegan a usar como cultivos iniciadores. Por una parte afectan positivamente al desarrollo del sabor y por otra, debido a la actividad catalasa, que descompone el H₂O₂ producido por algunas cepas microbianas, se consideran benéficos para la estabilidad del color - el H₂O₂ es un agente oxidante extremadamente fuerte por lo tanto tiene un impacto negativo sobre el color (Feiner,

2006). Finalmente, la actividad nitrato reductasa de los micrococos juega un papel importante en la reducción de nitrato a nitrito (Feiner, 2006; Forsythe y Hayes, 2007). Por el contrario, en la carne y embutidos frescos, si se desarrollan en exceso pueden ser responsables de la alteración produciendo limosidad, acidificación y pigmentación (Huis, 1996).

1.5.2.7 *Staphylococcus*

Los estafilococos son cocos gram positivos, catalasa positivos y anaerobios facultativos. Estos microorganismos no crecen a temperaturas menores a 7°C. Son bastante tolerantes al pH y a la a_w , creciendo a valores de pH de hasta 5,3 y a_w de 0,85. Su presencia en la carne es bastante frecuente. Si se utilizan recortes de carne muy manipulados su número se incrementa considerablemente y existe también la posibilidad de que los estafilococos se encuentren en gran número en ganglios linfáticos inflamados (Moreno et al., 1993).

Al igual que los micrococos son microorganismos proteolíticos y lipolíticos, capaces de reducir los nitratos a nitritos y con actividad catalasa. Por este motivo, algunas cepas se utilizan como cultivos iniciadores en los embutidos crudos curados. Otras pueden producir enterotoxinas y por lo tanto problemas sanitarios en los embutidos. Las más relevantes son las de *S. aureus* coagulasa positivos cuya concentración peligrosa es de 10^6 UFC/g.

1.5.2.8 Levaduras

Las levaduras son un grupo taxonómicamente heterogéneo de hongos microscópicos unicelulares. Algunas levaduras son importantes en la alteración de alimentos por su capacidad para realizar la descomposición mediante degradación enzimática y fermentación de diversas sustancias orgánicas, principalmente los azúcares o hidratos de carbono. En condiciones de crecimiento adecuado para las bacterias las levaduras no suelen competir eficazmente con aquellas y no experimentan desarrollo considerable. Sin embargo, debido al relativamente amplio intervalo de condiciones pH, temperatura, a_w y Eh en los que pueden crecer, las levaduras se desarrollan en

condiciones donde las bacterias tienen más dificultad para su crecimiento (Fung y Liang, 1990).

En carnes y productos cárnicos frescos los recuentos iniciales de levaduras están en el orden de 3-4 unidades logarítmicas por g. Durante el almacenamiento a refrigeración los recuentos pueden llegar a valores de 6-7. Estos valores se asocian a problemas sensoriales (limosidad, decoloraciones superficiales, sabores y olores anormales, hinchazón de envases) y de alergias en los consumidores (Fleet, 1992; García et al., 2002b). En los embutidos frescos son varios los factores que favorecen la proliferación selectiva de levaduras al mismo tiempo que limitan el crecimiento de bacterias, como son: un descenso del pH y a_w con respecto a la carne fresca, bajas temperaturas de conservación, el eventual uso de agentes del curado, agentes antimicrobianos y/o glucosa (Fung y Liang, 1990). Las condiciones de pH son importantes para el crecimiento de levaduras en preparados cárnicos frescos. Así en los embutidos fermentados, alcanzándose valores de pH 5,5 o inferiores, se ve favorecido el crecimiento de levaduras ácido tolerantes, responsables de procesos lipolíticos y aparición de características sensoriales específicas (Encinas et al., 2000).

1.5.2.9 Mohos

Los mohos son hongos que se desarrollan formando estructuras filamentosas denominadas micelio que son muy fáciles de detectar visualmente en la superficie exterior o en los huecos de los alimentos. Presentan un metabolismo marcadamente aerobio. La presencia de mohos generalmente no es deseable en los alimentos, excepto en aquellos a los que se han adicionado intencionalmente. Los mohos pueden alterar los productos cárnicos o producir micotoxinas.

Generalmente crecen más lentamente que las bacterias y al igual que las levaduras son capaces de desarrollarse en rangos amplios de pH (por debajo de pH 2 hasta por encima de pH 9) y a_w (por debajo incluso de 0,85). Se desarrollan en la superficie del producto y por lo que se sabe pueden alterar al embutido en superficie aunque la masa presente características sensoriales todavía aceptables. Dos de las especies con mayor presencia en los productos cárnicos alterados por mohos son *Penicillium* spp., y *Aspergillus* spp. (Filtenborg et al., 1996).

Los hongos cuando se desarrollan en alimentos ácidos pueden metabolizar las moléculas de ácido y, en consecuencia, producir un aumento en el pH del producto, lo que puede conducir a que las nuevas condiciones permitan el crecimiento de bacterias o el desarrollo de reacciones enzimáticas que fueron, en un principio, inhibidas por la acidez del alimento.

1.5.3 Microorganismos patógenos

En cuanto a los riesgos para la salud que pueden tener los embutidos frescos, en términos generales son bastante reducidos aunque la incidencia de patógenos puede ser alta. Esto podría ser una contradicción pero se trata de productos inocuos en el sentido de que se cocinan antes de su consumo con lo que las intoxicaciones alimentarias, excepto la ocasionada por *S. aureus* enteropatógeno que produce una toxina termorresistente, se producirían solo por el consumo del embutido crudo, insuficientemente cocido o contaminado posteriormente al cocinado.

Los patógenos más relacionados con intoxicaciones y toxiinfecciones por consumo de embutidos frescos son *S. aureus*, *Salmonella* spp., y los serogrupos de *E. coli* enterohemorrágico, especialmente O157:H7, aunque también se pueden detectar otros patógenos típicos de la carne fresca (*Campylobacter jejuni*, *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica*, etc.). La enfermedad se produce normalmente por consumo de embutidos con cocción insuficiente. La principal fuente de patógenos en estos productos es la propia carne del animal, las hierbas aromáticas y especias como fuente de contaminación. Las especias no tratadas pueden contener un alto número de esporas fúngicas y bacterianas (*Bacillus* y *Clostridium*) que podrían desarrollarse en el producto posteriormente a su cocinado, ya que en fresco, el tiempo de vida de estos alimentos no permitiría el desarrollo de estos microorganismos (Bermúdez y Rodríguez, 2001).

1.6 Maduración de los embutidos crudos curados

1.6.1 Generalidades

En la etapa de maduración, los embutidos se mantienen colgados en condiciones ambientales naturales o en secaderos con aire acondicionado, con humedad relativa,

temperatura y velocidad del aire controlados. En general los lugares o cámaras de maduración se mantienen a temperaturas de 12-20°C, a humedades relativas en torno al 75-80% y con velocidades de aire entre 0,1 y 1 m/s. En algunos casos los embutidos son sometidos a un proceso de ahumado durante el secado, mediante el que el producto adquiere aroma, color y sabor característico (Leistner, 1995). El proceso consiste en la exposición del producto a la acción de determinadas sustancias procedentes de la combustión incompleta de combustibles vegetales (SSICA, 1992).

La maduración da lugar a tres fenómenos importantes relacionados con las características de calidad de los embutidos: el enrojecimiento, la trabazón o aumento de consistencia y la aromatización. El enrojecimiento evoluciona del interior al exterior y está condicionado a la naturaleza y concentración de las sustancias curantes añadidas y otros aditivos o ingredientes, así como a la tecnología empleada (por ejemplo el uso de embutidoras al vacío). La ligazón o trabazón es un fenómeno fisicoquímico en el cual desempeñan papel decisivo las proteínas musculares, liberadas durante el picado. En la aromatización, la fermentación de los azúcares, la proteólisis y lipólisis, así como la oxidación contribuyen a la formación de olor y sabor típicos del embutido (Mendoza et al., 2007).

1.6.2 Secado

A lo largo de esta etapa los embutidos pierden entre el 10 al 50% de su peso inicial, según si el embutido es seco, semiseco o blando (Adams, 1986). Es muy importante que la pérdida de humedad sea gradual y uniforme. De lo contrario, pueden aparecer huecos o grietas, costra reseca periférica y/o desprendimiento de la tripa (Frey, 1995). También, la costra reseca puede impedir la salida de más agua del interior del embutido, provocando un ablandamiento excesivo en el interior de la masa en los productos de mayor calibre (Rust, 1994). La velocidad de secado se regula por las condiciones ambientales y también por características intrínsecas del embutido como su diámetro (a menor grosor, mayor superficie por unidad de peso y mayor velocidad de deshidratación), contenido en grasa, grado de picado de la carne, pH, etc. (Prieto y Carballo, 1997; Feiner, 2006).

1.6.3 Fermentación

En la primera fase de maduración de los embutidos (primeros días), se produce un descenso en el valor del pH debido principalmente a la fermentación láctica de los azúcares (Liepe et al., 1990), que depende fundamentalmente de la cantidad y tipo de azúcares presentes en la masa, la temperatura ambiente, la microbiota de la masa cárnica (BAL, añadidas o no), la concentración de sal, el pH, el diámetro del embutido, el potencial redox y la capacidad tampón (Incze, 1992; Prieto y Carballo, 1997). Este descenso del pH es variable y en los embutidos de baja acidez puede no ser significativo (pH cercano a 6) mientras que en los de alta acidez el pH alcanza valores inferiores a 5,3.

Después de esa primera fase (en la que se da la fermentación) el pH se estabiliza para luego experimentar un ligero aumento atribuido a la formación de compuestos básicos generados en el metabolismo de los compuestos nitrogenados (Ordóñez et al., 1999).

El descenso del pH tiene importantes consecuencias tecnológicas y comerciales por su incidencia en la inocuidad y calidad sensorial de los embutidos (Flores y Bermell, 1995). Los efectos del descenso del pH sobre las características de calidad de los embutidos crudos curados se pueden resumir en los siguientes: ejerce un control sobre el crecimiento microbiano y las reacciones enzimáticas, incrementa la firmeza en la textura por favorecer el secado y contribuir a la gelificación proteica, y favorece la reacción de formación de óxido de nitrógeno a partir de los nitritos.

El descenso del pH durante los primeros días de la maduración es, en muchas ocasiones – especialmente cuando la temperatura ambiente no es baja, $< 12^{\circ}\text{C}$ – fundamental para asegurar la conservabilidad del producto en esta etapa, cuando la humedad es todavía elevada ya que se previenen los riesgos de que se implanten procesos microbianos de putrefacción (Prieto y Carballo, 1997). La reducción del pH inhibe el crecimiento de gérmenes patógenos y causantes de la alteración (Incze, 1992) a favor del desarrollo de las BAL. Esta estabilidad que otorga el descenso de acidez se completa posteriormente con el secado, donde se alcanzan los valores de a_w

que conjugados con los del pH, garantizan la conservación del embutido sin necesidad de refrigeración (Flores y Bermell, 1995).

Igualmente, el valor de pH que se alcanza en el embutido influye en la velocidad de deshidratación. Según Stiebing y Rödel (1990), la pérdida de humedad es más rápida en aquellos embutidos con un descenso de pH más acusado, especialmente cuando las condiciones de maduración son tales que la velocidad de secado es rápida (muchacha diferencia entre la humedad relativa ambiental y la a_w del producto).

Además, el descenso de pH juega un papel importante en la cohesión de las piezas de carne en el interior del embutido al favorecer la desnaturalización proteica – la proteína de la carne activada (o disuelta) gelifica a pH de 5,2 – y regula la velocidad de nitrificación, de disociación del ácido nitroso y, por lo tanto, de formación de pigmentos responsables del color (Stiebing y Rödel, 1990; Ordóñez et al., 1999).

Sin embargo, un pH excesivamente ácido (4,5-5,0) puede provocar i) defectos en el sabor del embutido como el “sabor picante” (exceso de ácidos láctico y acético) y otros sabores anómalos debidos a la formación de compuestos volátiles por las BAL heterofermentativas cuyo crecimiento se ve favorecido a ese bajo pH, ii) defectos en la consistencia o textura al tacto, iii) producción anormal de gas por la intensa actividad microbiana, que puede llevar a la formación de poros o a la ruptura de la tripa, iv) desarrollo de rancidez y pérdida de color, ya que las BAL pueden llegar a producir cantidades de H_2O_2 que no pueden ser eliminadas por la actividad catalasa debido a que se inhibe a pH inferior a 5, v) igualmente se inhiben las proteasas que no podrán realizar su función tecnológica en el embutido (Prändl, et al., 1994; Flores y Bermell, 1995; Varnam y Sutherland, 1998; Feiner, 2006).

En los embutidos, además de ácido láctico se encuentran otras sustancias procedentes de la fermentación cuya cantidad suele estar en función de la cantidad de ácido láctico. El ácido acético, que es el siguiente componente en importancia formado durante la fermentación, se encuentra en una concentración aproximadamente de diez a veinte veces menor que la del ácido láctico (Montel et al., 1993; Mateo et al., 1996; Baldini et al., 2000; Demeyer et al., 2000). Este ácido se forma principalmente por acción de las BAL heterofermentativas que producen además

CO₂, que, generado en grandes cantidades podría dar lugar a la formación de “ojos” en los embutidos (Lücke, 1998).

Como ya se ha mencionado, el ácido láctico principalmente y, en menor medida, el ácido acético son responsables del sabor ácido característico de los embutidos crudos curados. El ácido acético, además de contribuir al gusto ácido contribuye al aroma y sabor de los embutidos crudos curados por ser volátil. Su umbral de percepción olfativa se sitúa entre 20 y 50 ppm. En cantidades elevadas es indeseable por aportar una sensación aromática pungente y astringente desagradable al sabor de los embutidos (Weber, 1994).

1.6.4 Cambios en las sustancias nitrogenadas (proteólisis, desnaturalización proteica, cambios en los nitritos y en la mioglobina, catabolismo de aminoácidos, formación de aminos biógenas)

Los cambios de los compuestos nitrogenados durante la maduración de los embutidos crudos curados tienen un efecto potencial sobre su textura y su sabor. Dichos cambios son diversos y dependen en parte de las condiciones de procesado a lo largo de todo el ciclo de producción. Los cambios más relevantes son la proteólisis, la desnaturalización proteica, y las reacciones de los nitritos y derivados, la modificación del pigmento cárnico y el catabolismo de aminoácidos. La relación entre el grado de proteólisis y la calidad comestible de los embutidos se considera positiva (Demeyer et al., 2000).

Es un hecho constatado que el nitrógeno no proteico (NNP) aumenta durante la maduración (Demeyer et al., 1979). Así, la cantidad de NNP en producto final, expresada sobre extracto seco, puede doblar la cantidad presente en la masa inicial (Dierick et al., 1974), alcanzándose valores entre 0,4 y 1,8 g de NNP por 100 g de extracto seco (De Masi, 1990; Johansson et al., 1994). Por su parte, el contenido en nitrógeno soluble en agua (NSA) también aumenta encontrándose valores finales del 25% sobre nitrógeno total (García de Fernando y Fox, 1991). También se ha visto que el contenido en aminoácidos libres, sobre extracto seco, aumenta durante la maduración. Mateo et al., (1996) encontraron que ese contenido se multiplica por dos

durante la maduración de chorizos. Los aminoácidos predominantes en los embutidos madurados, de acuerdo a los resultados de diversos estudios, son el ácido glutámico, la alanina, la leucina, la isoleucina, la taurina, la valina y el ácido γ -amino butírico, detectados en cantidades superiores a los 100 mg por 100 g de materia seca (Mateo et al., 1996; De Masi et al., 1990).

Además del tiempo de maduración, hay numerosos factores con efecto sobre la intensidad de la proteólisis: la actividad proteolítica endógena de la carne (que depende a su vez de la genética, el sexo y la edad del animal; Demeyer et al., 2000), la actividad proteolítica microbiana, el hecho de que la carne haya o no sido congelada (la congelación tiene un efecto positivo sobre la proteólisis), el pH, la a_w del embutido y la temperatura de maduración.

Además de la proteólisis pueden ocurrir fenómenos de desnaturalización proteica debidos a la acidificación y al incremento en la fuerza iónica (Johanson et al., 2004). Estos fenómenos ocasionan cambios en la solubilidad de las proteínas, cuyo efecto sobre la calidad del embutido se relaciona principalmente con los aspectos de textura (gelificación proteica y cohesión de los trozos de magro y grasa, que resultan en un aumento de la firmeza).

Los nitritos, por su alta reactividad, se transforman siguiendo numerosas reacciones químicas. Parte de los nitritos que desaparecen se convierten en nitratos, otra parte se une a la mioglobina y a distintas proteínas. Solo una pequeña parte se transforma en nitrosaminas (potencialmente cancerígenas) debido a que las condiciones ácidas de la masa no favorecen su formación (Feiner, 2006).

A partir de los aminoácidos libres, por diversas reacciones catabólicas (reacción de Strecker, desaminación, etc.) se generan compuestos volátiles (aldehídos, ácidos orgánicos, alcoholes, aminas) que tienen efecto potencial positivo sobre el sabor de los embutidos crudos curados (Mateo y Zumalacárregui, 1996a; Montel et al., 1998).

Por otra parte, a partir de reacciones de descarboxilación de los aminoácidos atribuidas al metabolismo bacteriano, durante la maduración de los embutidos se forman cantidades importantes de aminas biógenas, que representan un peligro de

intoxicación para el consumidor (Eerola et al., 1993; Halász, et al., 1994; Hernández-Jover et al., 1997; González-Fernández et al., 2003; Suzzi y Gardini, 2003).

Las aminas biógenas son compuestos básicos nitrogenados formados principalmente por la descarboxilación de aminoácidos libres o por aminación o transaminación de aldehídos y cetonas (Maijala et al., 1993; Ruiz-Capillas y Jiménez-Colmenero, 2004a). Éstas pueden ser formadas y degradadas como resultado de la actividad metabólica normal en animales, plantas y microorganismos (Halász, et al., 1994; Silla Santos, 1996) y están presentes en un amplio número de alimentos incluyendo la carne y los productos cárnicos.

El consumo de alimentos con altos niveles de tiramina, histamina, feniletilamina y/o triptamina puede tener efectos toxicológicos (Bardócz, 1995; Ruiz-Capillas y Jiménez-Colmenero, 2004a; Latorre-Moratalla et al., 2010). Esas aminas biógenas son monoaminas que ejercen una acción vaso-activa y psicoactiva (Adrian y Frangne, 1990; Bover-Cid et al., 2000) en las personas que las consumen y pueden representar un peligro de enfermedad alimentaria (náuseas, sudoración, intoxicación, migrañas, crisis de hipertensión).

El nivel de aminas biógenas (monoaminas) en un alimento considerado como potencialmente dañino para la salud no es claro. Algunos autores consideran que son suficientes valores entre 100 a 800 mg por kg (Hernández-Jover et al., 1997). El cuerpo humano bajo condiciones normales es capaz de actuar rápidamente sobre las aminas absorbidas de los alimentos a través de la acción de la enzima amino oxidasa. Este proceso de desintoxicación puede ser afectado cuando existen factores de riesgo como inhibición de la mono-amino-oxidasa, consumo de drogas y alcohol o enfermedades gastrointestinales (Brink et al., 1990; Halász et al., 1994). Por su parte, las diaminas (putrescina y cadaverina) y las poliaminas (espermina y espermidina), favorecen la absorción intestinal e inhiben el catabolismo de las monoaminas, por lo que potencian su toxicidad (Bardócz, 1995; Silla Santos, 1996; Bover-Cid et al., 2000).

Los niveles de aminas biógenas en carne recién obtenida son muy bajos y sus niveles se incrementan con el deterioro microbiano (Ruiz-Capillas y Jiménez-Colmenero, 2004a). La acumulación de aminas usualmente es el resultado de la descarboxilación

de aminoácidos originado por enzimas de origen bacteriano, y están asociados con la higiene de la carne y manipulación, el tiempo y las condiciones de almacenamiento (Curiel et al., 2011). La determinación de estas aminas, principalmente histamina, tiramina, putrescina, cadaverina, espermina y espermidina es importante no solo desde el punto de vista de su toxicidad sino también porque pueden ser usadas como indicadores del grado de frescura o descomposición de la carne utilizada como materia prima (Vidal-Carou et al., 1990; Silla Santos, 1996).

En algunos estudios (Demeyer et al., 2000) se han encontrado embutidos crudos curados con concentraciones de aminas biógenas superiores a los considerados como potencialmente peligrosos para la salud (100 a 800 mg por kg; Hernández-Jover et al., 1997). No obstante, el contenido en aminas biógenas en los embutidos muestra gran variabilidad (Demeyer et al., 2000; Bover-Cid et al., 2001a), que ha sido justificada tanto por la variabilidad en el contenido de estas aminas en la carne de partida, como por la variabilidad en las condiciones de maduración y almacenamiento (pH, temperatura, flora predominante, presencia de azúcares, tiempo, etc.).

La amina biogénica más abundante en los embutidos crudos curados es la tiramina, que según Demeyer et al. (2000) representa entre el 40 y el 60% del total de las aminas biógenas. Su formación se debe a la descarboxilación de la tirosina y puede ser un reflejo de la cantidad de BAL formadoras de tiramina (Eerola et al., 1996). Por otra parte, la cantidad de otras aminas cuya presencia es también importante en los embutidos crudos curados como la cadaverina o la putrescina se ha relacionado principalmente con la acción de las enterobacterias (Roig y Eerola, 1997; Bover-Cid et al., 2001a; Latorre-Moratalla et al., 2010) y por lo tanto con las condiciones higiénicas del proceso de elaboración. Otras aminas como la triptamina o la feniletilamina parecen no ser detectadas hasta el final de la maduración, mientras que las cantidades espermina y espermidina (aminas fisiológicas) permanecen constantes o decrecen ligeramente a medida que avanza la maduración (Bover-Cid et al., 2001a).

1.6.5 Cambios en la fracción grasa (lipólisis y oxidación)

Durante la maduración de los embutidos la grasa se hidroliza paulatinamente por acción enzimática endógena o microbiana liberándose ácidos grasos (García et al.,

1992; Montel et al., 1993; Hierro et al., 1997). En las condiciones presentes en el seno de los embutidos crudos curados la actividad lipolítica microbiana es muy moderada en comparación con la actividad lipolítica endógena, (Molly et al., 1997; Montel et al., 1998). Para evaluar la intensidad de los procesos lipolíticos se han utilizado los análisis de acidez de la grasa o de ácidos grasos libres (Domínguez y Zumalacárregui, 1991; Franco et al., 2004). La lipólisis comienza durante la fermentación y continúa durante toda la maduración (Demeyer et al., 1974; Montel et al., 1993; Marco et al., 2006; Casaburi et al., 2007).

La cantidad de ácidos grasos libres encontrada en los embutidos varía entre 1 y 9% de la grasa total. Esta cantidad depende, por una parte, de las características de las materias primas cárnicas (capacidad lipolítica, grado de insaturación de la grasa, presencia inicial de ácidos grasos libres, etc.) y, por otra parte, de las condiciones de maduración como la flora microbiana, los valores de a_w y pH, la temperatura y tiempo de maduración (Domínguez y Zumalacárregui, 1991; Aguirrezábal et al., 2000; Demeyer et al., 2000).

Paralelamente al incremento en los ácidos grasos libres se ha observado un descenso de la cantidad de triglicéridos y de fosfolípidos (Demeyer et al., 1974; Johansson et al., 1994). Diversos autores (Navarro et al., 1997; Hierro et al., 1997; Demeyer et al., 2000) sugieren que en la maduración hay una hidrólisis preferencial de los fosfolípidos sobre las grasas neutras.

A pesar de atribuir a la lipólisis un efecto beneficioso sobre el sabor de los embutidos (Demeyer et al., 2000), no se sabe con certeza las consecuencias sensoriales derivadas de la presencia de mayor o menor cantidad de ácidos grasos libres en los embutidos. El posible efecto de los ácidos grasos libres sobre el sabor de los embutidos se sustenta en que su grupo carboxílico puede contribuir al sabor ácido (Dainty y Bloom, 1995), en que los ácidos grasos de cadena corta poseen olores intensos y bajos umbrales de percepción (Forss, 1972) y en que los ácidos grasos libres pueden experimentar reacciones de esterificación, con etanol principalmente, formándose etil-ésteres con potencial aromático (Edwards et al., 1991 y 1999).

Una de las causas más importantes de alteración de los alimentos en general y de la carne y productos cárnicos en particular, es la oxidación de los lípidos. La susceptibilidad de la grasa a la oxidación depende del grado de insaturación y de la presencia natural de sustancias antioxidantes u oxidantes (Chizzolini et al., 1998). En el caso de las carnes procesadas depende además de la reducción del tamaño de partícula, y de la adición de diversos aditivos en la formulación – sal, nitritos, fosfatos, etc. (Mateo y Zumalacárregui, 1996 b).

Los embutidos crudos curados son productos elaborados con carne picada y sal y madurados durante un tiempo lo que implica una exposición considerable a los agentes oxidantes. Sin embargo, varios autores han observado que el desarrollo de los procesos de oxidación en los embutidos crudos curados de baja humedad es limitado, es decir, no llega a generar un sabor a rancio (Domínguez y Zumalacárregui, 1991; Zanardi et al., 2002; Comi et al., 2005). La causa de esa observación se puede atribuir al efecto antioxidante de las especias, a los agentes del curado y eventualmente al humo.

1.7 El envasado al vacío y en atmósferas modificadas de los embutidos frescos

1.7.1 Generalidades

El envasado al vacío y el envasado con atmósferas modificadas son tecnologías extensamente utilizadas en el almacenamiento a refrigeración en los embutidos frescos (y también en los madurados). En un sentido general el envasado al vacío o en atmósfera modificada consiste en la eliminación de la atmósfera que rodea el alimento o el reemplazo, por otra con distinta composición gaseosa, antes de sellar el material de barrera (McMillin et al., 1999; McMillin, 2008).

Este tipo de envasado contribuye al aumento de la vida útil y favorece la comercialización en varios contextos, como es el de las grandes superficies (Yam et al., 2005). Por el contrario, como desventajas cabe señalar las siguientes: aumento de costes consumibles y de equipamiento (gases, envases y máquina de envasado), de costes de control de calidad (control de cierres, análisis de atmósferas, etc.) y de

costes de transporte (los productos envasados ocupan más volumen). Además, los beneficios del vacío y las atmósferas modificadas se pierden una vez abierto el envase o tras una fuga o pérdida de vacío.

La vida útil del producto envasado es afectada por las propiedades del material de envasado y las características del alimento antes de envasar (Han, 2005). En el caso de los embutidos crudos la vida útil depende de la calidad higiénica, el pH, la a_w , la temperatura de almacenamiento, la mezcla de gases utilizados o el material de envase utilizado (Church y Parsons, 1995). El plástico ha demostrado tener las propiedades más adecuadas para el envasado de alimentos al vacío y en atmósferas modificadas (Jenkins y Harrington, 1991). Los polímeros más utilizados en el envasado de alimentos son el polietileno de baja y alta densidad, el polipropileno, el politetrafluoretileno y la poliamida (nylon) (Yam et al., 2005) Aunque también se usan otros como los poliésteres, PVC, etc. (Marsh y Bugusu, 2007).

1.7.2 Envasado al vacío

En un adecuado envasado al vacío, los niveles iniciales de oxígeno residual han de ser inferiores al 1%. En el caso de la carnes y preparados cárnicos frescos, la mayor parte de ese O_2 residual es rápidamente consumido por la respiración celular y sustituido por CO_2 que se eleva a valores del 10-20% en la microatmósfera existente entre envase y producto (Parry, 1993).

En estas condiciones ambientales, la microbiota acidófila (en particular las BAL) llega a hacerse dominante (en detrimento de las bacterias psicrotrofas aerobias) siempre que el pH no sea anormalmente elevado y que la carne envasada se mantenga a bajas temperaturas. En condiciones de pH elevado o si hay un descuido en el mantenimiento de la temperatura baja, pese a multiplicación de las BAL, puede existir un número considerable de enterobacterias capaces de crecer a refrigeración (Reuter, 1970: Hechelmann 1974). El envasado al vacío, tiene efecto inhibitor además de sobre las bacterias psicrotrofas aerobias, sobre los mohos y gran parte de las levaduras.

El retraso en la alteración microbiana de los embutidos envasados al vacío radica por una parte en la inhibición de las bacterias aerobias gram negativas, *Pseudomonas* spp.,

y otras bacterias aerobias caracterizadas por su gran capacidad de alterar las características sensoriales de la carne. Las BAL, y en general la microbiota anaerobia, que se instaura normalmente en los embutidos envasados al vacío tienen menor potencial para el deterioro de la carne comparada con la microbiota psicrotrofa que se desarrolla en aerobiosis. Por otra parte, la presencia de CO₂ en el microambiente entre carne y film plástico supone un freno importante para el crecimiento microbiano en general. En definitiva, el tiempo en el que se manifiesta la alteración supera en unas 5 veces al tiempo en el que se altera la carne refrigerada en atmósfera normal.

Una de las principales desventajas que presenta el envasado al vacío de carne y productos cárnicos es la acumulación de exudado durante el almacenamiento prolongado. El exudado aumenta con el manejo y la presión ejercida sobre el alimento. Por otra parte, como desventaja adicional, en los embutidos al vacío podría haber un desarrollo de *Clostridium Botulinum* y producción de toxina, pero esto no es frecuente debido, por un lado, a la acción inhibidora de los agentes del curado en los productos cárnicos y la acidificación por parte de la flora acompañante. Además otra desventaja del envasado al vacío es que en el caso de los embutidos frescos cuando estos son envasados sufren una deformación evidente debido a la presión ejercida sobre el producto durante el proceso de vacío. Otro de los problemas más frecuentes asociados al envasado al vacío es la pérdida de vacío que cursa con el abultamiento más o menos acentuado de los envases laminares. Su causa más frecuente es el fallo en el cierre hermético debido a adherirse grasa y humedad del propio producto o cualquier otro material a la sutura de sellado. Así, también se producen arrugas que dan lugar a permeabilidades. Otra causa frecuente de alteración posible es la formación de gas por acción bacteriana desde el interior, este gas es comúnmente CO₂, formado a partir del desdoblamiento de los hidratos de carbono.

1.7.3 Envasado en atmósferas modificadas (AM)

Los gases más utilizados en AM de carne fresca y productos cárnicos son el oxígeno, el nitrógeno y el dióxido de carbono cuyas características principales se describen a

continuación. La alteración microbiana de los embutidos envasados en AM depende, en primer lugar, de los gases utilizados, concretamente del uso o no de oxígeno.

En el caso de envasar sin oxígeno, los mecanismos de alteración son comparables a los de la carne envasada al vacío, anteriormente comentado, y se puede resumir así: cuando la atmósfera lleva solo N_2 no pueden crecer las bacterias aerobias y crecerán las BAL que tardan más en alterar la carne que las aerobias. Cuando la atmósfera lleva N_2 más CO_2 se retrasa aún más la alteración pues el CO_2 inhibe el crecimiento de las BAL haciéndolo más lento. Al igual que con el vacío, el tiempo en el que se manifiesta la alteración en atmósfera anóxica con al menos un 20% de CO_2 supera en unas 5 veces al tiempo en el que se altera la carne refrigerada en atmósfera normal.

Las AM con O_2 contienen este gas en concentraciones superiores a la de la atmósfera normal y también contienen CO_2 en concentraciones iguales o superiores al 20% y opcionalmente N_2 . De esta forma, debido a la presencia de CO_2 el tiempo en el que la carne manifiesta alteración es de 2 o 3 veces mayor al tiempo de alteración de la carne refrigerada sin envasar. Las atmósferas más frecuentes en carne fresca tienen 70-80% de O_2 y 20-30% de CO_2 y si se incluye N_2 como gas de relleno, su concentración no suele sobrepasar el 20%. La presencia de altos niveles de O_2 garantiza que la mioglobina en la superficie de la carne fresca esté como oximioglobina y como la concentración de O_2 es mayor a la de la atmósfera, la capa de oximioglobina es más profunda que la de la carne expuesta al aire.

A continuación se describen las propiedades de los gases más utilizados en el envasado con AM.

Oxígeno (O_2): Es un gas incoloro, inodoro e insípido y poco soluble en agua. La presencia de oxígeno es muy importante en la conservación de carne fresca y de algunos productos cárnicos frescos ya que mantiene el pigmento mioglobina en su forma oxigenada, (oximioglobina) que es responsable del color rojo brillante de la carne. Por otra parte, cataliza las reacciones de oxidación de lípidos y otros compuestos. El oxígeno permite el crecimiento de los microorganismos aerobios causante del deterioro, por eso su empleo debe estar asociado al empleo de bajas temperaturas y CO_2 (Cofrades y Carballo, 2001).

Nitrógeno (N_2): Es un gas inerte, inodoro, incoloro e insípido, con baja solubilidad en agua y grasa, por tanto aunque se disuelva en la carne, no juega un papel activo. Se utiliza principalmente para desplazar el O_2 retrasando así la oxidación y evitando el enranciamiento, o como gas de relleno evitando el colapso del envase en los productos que absorben CO_2 (Cofrades y Carballo, 2001). El N_2 empleado como gas lastre previene además el problema de exudación del CO_2 debido a su alta solubilidad en agua (Warriss, 2003).

Dióxido de carbono (CO_2): Posee un efecto bacteriostático, inhibiendo el crecimiento de microorganismos, dentro de los que se incluyen los que causan la putrefacción de la carne. El efecto global del CO_2 en los microorganismos es una extensión de la fase de latencia y una disminución en la tasa de crecimiento durante la fase de crecimiento logarítmico (Forsythe y Hayes, 2007). La acción inhibidora del CO_2 sobre el crecimiento de los microorganismos se debe, por una parte, a la disminución del pH por el ácido carbónico producido por la combinación de CO_2 con el agua y, por otra a su acción sobre el sistema enzimático de las bacterias, causando daños que pueden llegar a ser letales. El efecto bacteriostático depende de varios factores entre los que caben destacar: la concentración, la especie microbiana que se encuentre en el producto, la carga bacteriana inicial, la temperatura y el tiempo de almacenamiento del alimento. Así, por ejemplo, la flora gram negativa se ve generalmente más inhibida que la gram positiva. Algunas bacterias toleran bastante bien este gas como es el caso de *Brochothrix thermosphacta* que puede tolerar concentraciones de CO_2 por encima del 75% y otras tales como las BAL que pueden crecer en 100% de CO_2 (Brody, 1989). También el efecto del CO_2 es mayor cuanto menor sea la temperatura de refrigeración; entre -1 y 2°C es más acusado el efecto (Cofrades y Carballo, 2001; Feiner, 2006). Una concentración del 20-30% de CO_2 es suficiente para retrasar adecuadamente el crecimiento de bacterias aerobias (Sorheim et al., 2004), pero incrementando los niveles de CO_2 se incrementa hasta cierto punto la eficiencia del gas. Por el contrario, hay evidencias de que las atmósferas conteniendo altas concentraciones de CO_2 promueven la oxidación y conducen a la pérdida del color y olor a fresco (Martínez et al., 2005). Otra consecuencia del tratamiento de la carne con altas concentraciones de CO_2 es la exudación y el colapso del envase (Warriss, 2003).

2 OBJETIVOS

El primer objetivo de este estudio fue determinar diversas propiedades físicas, químicas y microbiológicas de los diferentes tipos o calidades de chorizos mexicanos comercializados en el Estado de Hidalgo (chorizos de carnicerías, de mercados rurales, chorizos de marca de ámbito nacional obtenidos en centros comerciales y chorizos económicos obtenidos en centrales de abastos). Con la determinación de esas propiedades se pretende conocer las características responsables de la calidad del chorizo consumido en la región y establecer diferencias entre tipos de chorizos.

El segundo objetivo planteado fue conocer la evolución de la composición química, microbiológica y de diversas características responsables de la calidad sensorial de los chorizos mexicanos frescos almacenados a refrigeración, envasados bien en atmósfera normal o en atmósfera modificada (20% de CO₂ y 80% de N₂) a diferentes grados de secado (diferentes valores de a_w entre valores de 0,92 y 0,96).

3 MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 Plan experimental

3.1.1 Primera parte del estudio: Caracterización del chorizo en el Estado de Hidalgo

En esta primera parte del experimento se han estudiado las características físicas, químicas y microbiológicas de los chorizos en el Estado de Hidalgo (particularmente chorizos frescos) con el fin de definir la calidad del chorizo producido y consumido en la región y, en su caso, proponer mejoras en sus técnicas de elaboración.

3.1.1.1 Diseño experimental

En primer lugar se reflexionó sobre como clasificar los chorizos que se comercializan y consumen en diferentes regiones del Estado de Hidalgo, con el fin de establecer categorías o calidades. Finalmente, se decidió clasificarlos según el tipo de establecimiento en los que se comercializan, que básicamente se corresponde con el tipo de elaborador. Así, se procedió a la adquisición de muestras de chorizos de cuatro clases o categorías: i) chorizos a la venta en carnicerías de las ciudades más grandes del Estado de Hidalgo (entre 150 y 300 mil habitantes) y que fueron elaborados por los propios carniceros, ii) chorizos de mercados rurales, es decir, expuestos a la venta en mercados minoristas, normalmente ambulantes, de municipios eminentemente rurales (economía basada en la actividad agropecuaria y forestal) con menor población a las anteriores (menos de 50 mil habitantes); estos chorizos fueron elaborados por los propios productores de cerdo en el medio rural, iii) chorizos comercializados en supermercados de grandes centros comerciales (ciudades), elaborados por industrias cárnicas de tamaño medio-grande con una marca con prestigio comercial (publicidad, tecnologías avanzadas, instalaciones según normativa, etc.), y iv) chorizos de centrales de abasto mayoristas, que son los chorizos más económicos, que compiten en un mercado de bajo precio, elaborados en industrias poco conocidas, con instalaciones a veces precarias, con materias primas de bajo coste. Se utilizaron en el experimento diez chorizos de cada tipo. En la Tabla 4 se muestran las categorías o clases establecidas, las marcas comerciales, las

personas responsables del establecimiento de venta (cuando fue posible) y el lugar (colonia, población o entidad) donde se ubicaron los establecimientos proveedores de los chorizos.

Tabla 4. Descripción de las muestras obtenidas

Categoría	Marca	Produce	Lugar
Carnicerías*	1) El Mercadito	N	Jardines del Sur
	2) Flores Hnos.	Juan Flores	Centro
	3) La Vencedora	Carlos Amador	Francisco I. Madero
	4) Huerta	Oscar Huerta	Mercado Juárez
	5) La Lonja	N	Luis Ponce
	6) Princesa Guadalupana	Humberto Huerta	Guadalupe
	7) Carnicería del Norte	N	Caltengo
	8) Munive	Germán Munive	Mercado Municipal
	9) Flores	Sixto Flores	Allende
	10) El Banco	Adán Pérez	La Esperanza
Mercados rurales	11) Acaxochitlán	N	Acaxochitlán
	12) Metepec	N	Metepec
	13) Noya	Familia Noya	Estación de Apulco
	14) Bertha	Sra. Bertha	Agua Blanca
	15) Huasca	N	Huasca de Ocampo
	16) Santiago	N	Santiago Tulantepec
	17) Bramjesa	N	Tezontepec de Aldama
	18) La Antigua	N	Mixquiahuala de Juárez
	19) Artega	Sr. Arteaga	Progreso Obregón
	20) Huejutla	N	Huejutla
Centros comerciales	21) Rioja	Carnex	Tulancingo, Hgo.
	22) Cerdito Español	Empacadora Silva	Huamantla, Tlax.
	23) Fud	Sigma Alimentos	Guadalajara, Jal.
	24) Alpino	Qualita Alimentos	Monterrey, Nvo. León
	25) Zwan	Qualita Alimentos	Monterrey, Nvo. León
	26) Cerdito Pamplona	Empacadora Silva	Huamantla, Tlax.
	27) Bafar	Intercarnes	La Piedad, Mich.
	28) San Rafael	Sigma Alimentos	Guadalajara, Jal.
	29) Villa Franca	Villa Franca	Mexico, D.F.
	30) Obertal	Empacadora Wunsch	Mexico, D.F.
Centrales de abastos	31) Siempre viva	N	Tulancingo
	32) La Noria	Alberto Gómez	Tulancingo
	33) Campestre	Antonio Guerrero	Estado de México
	34) El Torito	N	Pachuca
	35) Briseño	Jorge Briseño	Pachuca
	36) Cadena	Sr. Cadena	Tulancingo
	37) Montiel	Pablo Montiel	Pachuca
	38) Fernández	Natalia Fernández.	Pachuca
	39) Los Andes	N	México D.F.
	40) San Ángel	Empacadora San Ángel	México D.F.

* Todas las carnicerías se encontraban en la ciudad de Tulancingo Hidalgo. N: No se proporcionó el nombre del elaborador responsable

3.1.1.2 Toma de muestras y análisis realizados

Para el caso de los chorizos de carnicerías, se eligieron al azar 10 colonias (barrios) repartidas a lo ancho y largo de la ciudad de Tulancingo. En cada colonia fue elegida la carnicería que fuese de las más conocidas y con mayor volumen de ventas. Esta selección se hizo a través de preguntas a vecinos y conocidos implicados en el sector. Para tomar la muestra como válida el chorizo tuvo que ser elaborado por el propio carnicero.

En los chorizos de mercados rurales fueron elegidos 10 municipios del Estado de Hidalgo elegidos al azar (excluyendo a las ciudades de Pachuca y Tulancingo). Para tomar la muestra como válida el chorizo tuvo que ser elaborado por un productor de cerdos en el ámbito local que no tuviese carnicería. Así pues los chorizos fueron elaborados en sus casas para venta en mercados.

En el caso de los chorizos de centro comercial, se muestrearon prácticamente todas las diferentes marcas encontradas en los distintos centros comerciales de Tulancingo y Pachuca con la condición de que fuesen elaborados en México, con marca con presencia en el ámbito nacional, elaborados en empresas media-grandes y con registro sanitario.

Por último, de los chorizos comercializados en centrales de abasto mayoristas, se tomaron muestras en las centrales de las dos grandes ciudades del Estado de Hidalgo, Pachuca y Tulancingo. De cada ciudad se eligieron los negocios con un mayor volumen de ventas de chorizos (particularmente los que venden chorizos más económicos debido a la gran competencia por precio en este tipo de mercados). En muchos casos estos chorizos económicos son dirigidos a negocios de comida rápida que preparan alimentos de bajo coste como las torterías (establecimientos en los que se vende principalmente tortas, con cierta similitud a los bocadillos en España), taquerías (restaurantes y en algunas ocasiones establecimientos ambulantes en los que se sirven principalmente tacos), pizzerías etc. y a comerciantes con establecimientos (tiendas de comestibles) en el medio rural (pueblos).

La toma de muestras se realizó mediante la compra de aproximadamente 1 kg de chorizo en cada punto de venta, mismos que al momento de su adquisición eran

expuestos a la venta en los diferentes establecimientos. Se desconocen las condiciones de elaboración pero se tienen datos de los productores y dónde se elaboraron.

Obtenidas las muestras, fueron llevadas a las instalaciones del Centro de Investigación en Ciencia y Tecnología de los Alimentos (CICyTA) del Instituto de Ciencias Agropecuarias (ICAp) de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (UAEH), México.

A su llegada al laboratorio, las muestras fueron etiquetadas y mantenidas en refrigeración y al día siguiente, se determinó la morfología (diámetro y tamaño de grano), pH, color, textura y se realizaron los análisis microbiológicos. El resto del chorizo fue congelado (-18°C) donde se mantuvo unas pocas semanas hasta que sobre una parte de las muestras se llevó a cabo el análisis de su composición proximal. Otra parte de las muestras congeladas (aproximadamente dos meses a partir de la toma de las mismas) fueron llevadas en recipientes isotermos a la Universidad de León (España), y antes de 24 horas fueron congeladas (-40°C), en el plazo de un máximo de seis semanas se realizó el resto de los análisis.

La determinación de los parámetros analíticos realizados se llevó a cabo por duplicado para cada una de las muestras obtenidas, a excepción del color y textura los cuales se realizaron por triplicado. A continuación se describen los distintos parámetros de calidad en el chorizo que fueron evaluados:

Grupos microbianos

- ✓ Mesófilos aerobios
- ✓ Psicrotrofos aerobios
- ✓ Bacterias ácido lácticas
- ✓ Enterobacterias
- ✓ Esporulados aerobios
- ✓ Micrococaceas
- ✓ Mohos y levaduras

Morfología y color

- ✓ Apariencia [diámetro, granulometría (tamaño del grano)]
- ✓ Color (L^* a^* b^*)

Análisis químicos y físico-químicos

- ✓ pH
- ✓ Actividad de Agua (a_w)
- ✓ Composición proximal (humedad, proteína, grasa y cenizas)
- ✓ Ácidos grasos
- ✓ Ácidos orgánicos (cítrico, láctico y acético)
- ✓ Contenido de colágeno (hidroxiprolina)
- ✓ Contenido en macro (potasio, sodio, fósforo) y micro elementos minerales (calcio, cobre, hierro, magnesio y zinc)
- ✓ Nitrógeno α -aminoacídico, como índice de proteólisis
- ✓ Análisis de perfil de textura (dureza, adhesividad, cohesividad, elasticidad, gomosidad y masticabilidad).

3.1.2 Segunda parte del estudio: Efecto del uso de atmósfera modificada anóxica con CO₂ (20%) y de la actividad de agua en el momento de envasado, sobre la evolución de diversos parámetros de calidad del chorizo fresco

3.1.2.1 Diseño experimental y muestreo

En esta segunda parte del experimento se estudió la evolución de las características de calidad del chorizo fresco a lo largo de su conservación a refrigeración ($5 \pm 1^\circ\text{C}$) envasados en atmósfera modificada (AM) con CO₂ (20%) y N₂ (80%), contrastando los resultados obtenidos con los de chorizos control envasados en bandeja de poliestireno expandido y recubiertos con película plástica de polietileno de baja densidad impermeable al agua y permeable al gas y conservados a la misma temperatura.

Como se puede apreciar en la Tabla 5 se realizó el experimento en dos tipos de chorizos, unos considerados como de tipo artesanal, con una formulación típica (o asimilable a la) de los chorizos elaborados por carniceros locales, y otros como de tipo industrial, con una formulación que incluye una mezcla preparada comercial de especias, condimentos y aditivos. Se elaboraron dos lotes de chorizo por cada tipo (artesanal e industrial). Más adelante se describe el proceso de elaboración de los mismos. Cada lote se elaboró en un día diferente, con carne y grasa de cerdo como materias primas cárnicas. La cantidad de chorizo obtenida por lote fue de 24 kg.

Ambos tipos de chorizos se envasaron a diferentes grados de secado de acuerdo a su a_w al momento de envasado (a_w 0,96, 0,94, 0,92). Estos valores de a_w se consiguieron después de haber mantenido los chorizos durante más o menos tiempo colgados al aire en cámara de refrigeración ($8 \pm 2^\circ\text{C}$), para posibilitar cierto grado de secado.

La evolución de las características de calidad de los chorizos durante su conservación se monitoreo en el momento del embutido y a los días 1, 14, 28 y 42 posteriores al envasado.

De acuerdo a este diseño experimental, los 12 kg de chorizo obtenidos de cada tipo (24 por lote), fueron separados en 3 grupos de aproximadamente 4 kg cada uno considerando las tres actividades de agua evaluadas (0,96, 0,94, y 0,92), dejando además 200 g de la masa del embutido a la cual también se le realizaron análisis. A su vez, cada uno de esos tres grupos fue separado en 4 subgrupos de aproximadamente 1 kg, considerando los días de muestreo durante el almacenamiento (1, 14, 28, y 42). Finalmente de cada subgrupo, 500 g de producto fueron envasados en bandeja control y 500 g en AM, anotando el peso exacto al momento del envasado.

Tabla 5. Variables utilizadas en el diseño experimental (divisiones)

Tipo de embutido	Valor de a_w antes del envasado	Envasado	Días de almacenamiento
Artesanal (2 lotes)	0,96	Control	1, 14, 28 y 42
		Atmósfera	1, 14, 28 y 42
	0,94	Control	1, 14, 28 y 42
		Atmósfera	1, 14, 28 y 42
	0,92	Control	1, 14, 28 y 42
		Atmósfera	1, 14, 28 y 42
Industrial (2 lotes)	0,96	Control	1, 14, 28 y 42
		Atmósfera	1, 14, 28 y 42
	0,94	Control	1, 14, 28 y 42
		Atmósfera	1, 14, 28 y 42
	0,92	Control	1, 14, 28 y 42
		Atmósfera	1, 14, 28 y 42

Una vez alcanzados los días de almacenamiento establecidos para cada una de las muestras, en primer lugar, y una vez abierto el envase, se registró el peso del chorizo con el fin de observar la pérdida de peso durante el tiempo de almacenamiento. Registrados los pesos la muestra fue dividida en tres partes.

Una parte de la muestra se destinó a realizar análisis microbiológicos, pH, color (interno y externo) y a_w , otra parte fue congelada (-18°C) y se mantuvo así durante 6 a 8 semanas antes de realizar los análisis sensoriales, una más fue homogeneizada y utilizada para los análisis químicos, ésta se dividió en dos paquetes (A y B), que fueron envasados al vacío y congelados (-70°C). El paquete A se empleó para el análisis de la composición proximal, (llevado a cabo en el ICAp, analizando solamente la composición de las muestras del primer día de envasado) a las pocas semanas de la congelación y el B, después de un lapso de tiempo entre 2 a 6 semanas (según el lote) fue llevada a la Universidad de León en contenedores isotérmicos (24 horas de trayecto). Las muestras fueron congeladas (-80°C) por un máximo de 4 semanas hasta la realización de los análisis químicos correspondientes.

La determinación de los parámetros microbiológicos, sensoriales, químicos y físicos se llevó a cabo por duplicado para cada una de las muestras obtenidas en el día del

embutido y en los correspondientes días de conservación, a excepción del color (triplicado). A continuación se describen los distintos análisis y parámetros de calidad en el chorizo que fueron evaluados:

Tabla 6. Parámetros microbiológicos, sensoriales, químicos y fisicoquímicos realizados en función del momento del análisis

Análisis realizados	Envasado (días de almacenamiento)				
	M	1	14	28	42
<i>Análisis químicos</i>					
Actividad de agua (a_w)	X	X	X	X	X
pH	X	X	X	X	X
Composición proximal (humedad, proteína, grasa y cenizas)		X			
Nitrógeno soluble en agua	X	X	X	X	X
Nitrógeno no proteico	X	X	X	X	X
Ácidos orgánicos (láctico y acético)	X	X	X	X	X
Ácidos grasos libres	X	X	X	X	X
Aminas biógenas	X	X	X	X	X
<i>Análisis microbiológicos</i>					
Bacterias ácido lácticas	X	X	X	X	X
Enterobacterias	X	X	X	X	X
<i>Micrococcus</i>	X	X	X	X	X
Mohos y levaduras	X	X	X	X	X
Psicrotrofos	X	X	X	X	X
<i>Otros análisis</i>					
Pérdidas de humedad (peso)		X	X	X	X
Análisis sensorial (apariencia externa, olor y gusto)		X	X	X	X
Color (CIELab) interno y externo	X	X	X	X	X

M: Masa inicial en el día del embutido

3.1.2.2 Elaboración de embutidos

La materia prima cárnica utilizada para cada lote y tipo de chorizo consistió en carne de espaldilla (70%) libre de cartílagos y tejido conectivo y grasa dorsal (30%) de cerdo, que fue adquirida en un rastro (matadero) particular (Forrajes y Carnes de Santiago, Tulantepec), ubicado en la ciudad de Tulancingo, Hgo. Se empleó carne y grasa refrigeradas con un tiempo *post mortem* inferior a 48 h.

Para la elaboración del chorizo artesanal se utilizó una formulación típica del chorizo en México utilizada por algunos carniceros a pequeña escala, y en el caso del industrial, se utilizó una mezcla preparada y distribuida por la empresa FABPSA SA. de CV. (DF, México). Las cantidades de ingredientes y aditivos utilizados en los dos tipos de chorizo elaborados se describen en la Tabla 7.

Tabla 7. Contenido de ingredientes y aditivos expresados en g/kg⁻¹ de masa inicial para cada uno de los embutidos

<i>Ingredientes</i>	Tipo de chorizo
	<i>Artisanal</i>
Sal	20
Ajo en polvo	3
Comino en polvo	2
Pimienta negra en polvo	2
Clavo en polvo	1
Orégano en polvo	1
Chile guajillo seco (hidratado)*	30
Vinagre comercial (ácido acético al 5%)	5
	<i>Industrial</i>
Condimento unidad MC-50#	62
Sal de curación (con nitritos al 6%)	5
Agua	100 ml

*La hidratación del chile guajillo (variedad de *Capsicum annuum*, http://es.wikipedia.org/wiki/Chile_guajillo) se llevó a cabo manteniendo los chiles en agua en ebullición durante 5 min. Una vez hidratados, los chiles fueron molidos con placa de acero inoxidable de 1 mm de diámetro.

Composición de la unidad MC-50: dextrosa, maltrin 100, hubersob 600, chile ancho molido, eritorbato de sodio, orégano molido, glutamato monosódico, ajo en polvo puro, comino en polvo, laurel en polvo, cebolla en polvo, cilantro molido, clavo molido, pimentón español, sal de curación, sal común, conservador, color amarillo 5, 6 y goma guar.

El proceso de elaboración consistió, en trocear 24 kg de carne magra y grasa dorsal (70-30%) para posteriormente someterla al proceso de molido, se utilizó un molino eléctrico (Torrey, M22-RW, Monterrey, NL, México) de 0,736 kw de potencia con placa de acero inoxidable de 6 mm de diámetro. La temperatura de la carne al momento del molido se encontraba entre 0-2°C. Tras el molido, se realizó una primera homogenización manual y la carne picada se dividió en dos partes iguales de 12 kg, una destinada a elaborar chorizo artesanal y otra destinada a chorizo industrial. Se adicionaron los aditivos (antes mencionados) y se procedió al mezclado manual de la pasta durante unos 5 min. La temperatura al final del amasado no sobrepasó los 10°C. La masa cárnica obtenida se mantuvo en refrigeración por aproximadamente 20 h a 4°C.

El embutido de la masa se realizó en embutidora vertical (15 l) de acero inoxidable. Se utilizó tripa natural de cerdo de calibre 35-38 mm (intestino delgado), la eventual presencia de aire en el embutido se eliminó pinchando y presionando la tripa donde se detectaron visualmente bolsas de aire. No se realizó ningún tipo de atado.

Posteriormente los embutidos se mantuvieron aproximadamente 18 h en oreo a temperatura ambiente (20 ± 2°C) en lugar seco y ventilado. Tras el oreo, los chorizos

se mantuvieron colgados en una cámara frigorífica acondicionada a una humedad relativa media del 75%, con un rango entre 60 y 85%, y una temperatura de $8 \pm 2^\circ\text{C}$. El tiempo que permanecieron colgados los chorizos fue el necesario para conseguir los valores de a_w programados (0,96, 0,94 y 0,92). La a_w de los embutidos fue monitorizada durante su mantenimiento en la cámara cada 24 horas, salvo en fines de semana (48 horas) y se determinó por duplicado (procedimiento descrito más adelante), utilizando rodajas de chorizo obtenidas de dos extremos de los chorizos después de cortar y descartar de cada extremo una primera rodaja de 3 cm.

3.1.2.3 Secado, envase y almacenamiento de las muestras

Cuando los chorizos alcanzaron los niveles de a_w de 0,96, 0,94 y 0,92, fueron envasados en bandeja de poliestireno y cubiertos con film plástico de polietileno (control) o envasados en AM. Para el envasado en AM de las muestras (unos 500 g), se utilizó una envasadora Multivac A 300/42 (Sepp Haggenmüller, Wolfertschwenden, Alemania), y bolsas pouche de dimensiones 20 x 30 cm (Flair, Flexible Packaging Corporation, Calgary, Canadá), comercializadas por la empresa FABPSA (Anexo 3).

Se utilizó una mezcla de CO_2 (20%) y N_2 (80%) distribuida por la empresa INFRA SA. de CV. (Puebla, México). El programa de envasado en AM utilizado fue el siguiente: presión de vacío 50 mbar, tiempo de mantenimiento del vacío 15 s, presión del gas 600 mbar, tiempo de sellado 1.5 s. Los chorizos envasados fueron mantenidos en refrigeración a $5 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 1, 14, 28, y 42 días en un refrigerador (Torrey; R-14, Monterrey, NL., México).

Material y equipos usados en general

- ✓ Agitadores: agitador de tubos (IKA; MS2 Minishaker, Wilmington, EEUU), (Yellow line; TTS 2, Dublín, Irlanda), y agitadores magnéticos (P-Selecta; Agimatic-N, Barcelona, España).
- ✓ Autoclave (Felisa; Fe399, San Juan de Ocotán Zapopan, Jal., México).
- ✓ Balanzas: (Precisa A Swiss Quality; 125, Dietikon, Suiza), (Sartorius; BP410 y CP1245, Goettingen, Alemania), y granatarios electrónicos (Mettler; PC 2000, Zurich, Suiza).
- ✓ Baños de agitación: (Julabo; SW22, Seelbach, Alemania) y (P-Selecta; Tectron Bio, Barcelona, España).
- ✓ Cabina de bioseguridad (Labconco; Delta series, Houston, TX., EEUU).
- ✓ Cámara de refrigeración (Chiloverg, León, España).
- ✓ Centrifuga (SIGMA; 2-15, Laborzentrifugen Laboratory Centrifuges GMBH, Osterode am Harz, Alemania).
- ✓ Congeladores: congelador (SO-LOW; U85-22, -70°C, Cincinnati, OH., EEUU). congelador (Öko-Arctis dor, -40°C, Alemania) y congelador (Torrey; CH 25, -18°C. Monterrey, NL., México).
- ✓ Contador de colonias (Leica; 3327, Buffalo, NY., EEUU).
- ✓ Desecadores (Nalgene, Bogotá, DC., Colombia).
- ✓ Destilador de Proteínas: (Büchi; K-350, Labortechnik, Flawil, Suiza, y Kjelttec System; 1002 TECATOR).
- ✓ Digestor de Proteínas (Büchi; B-424, Flawil, Suiza, y TECATOR; 1009).
- ✓ Equipo de extracción de Grasa Soxhlet automatizado (Büchi; B-811, Flawil, Suiza).
- ✓ Estufas de incubación: (Felisa; 133, Zapotlán, Jal., México), (incubador ultravioleta UVP; SI-950, Cambridge, Reino Unido) y (Riossa; 50.51, Ecatepec, Estado de México, México), ajustados a diferentes temperaturas ($37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$; $30 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ y $22 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$).

- ✓ Estufas y hornos de desecación: de aire forzado (Shel-Lab; FX14-2, Oregon, EEUU), (P-Selecta; Digitronic y P-Selecta; Kowell D1-I, Barcelona, España).
- ✓ Incubadora de baja temperatura (Felisa; Fe-145, Zapotlán, Jal., México).
- ✓ Micropipetas: automáticas de volumen variable (Eppendorf, San Sebastián de los Reyes, Madrid, España) y (LAB Mate, St. Albans, Hertfordshire, Reino Unido).
- ✓ Mufla (Felisa; Fe-361) Zapotlán, Jal., México.
- ✓ Picadoras y homogeneizadores: Procesador de alimentos (Moulinex; AR6838, DF., México), homogeneizador Sorvall (Ivan Sorvall, Inc.; Omni-mixer, Newtown, CT., EEUU, Ultraturrax (IKA; T18 Basic, Edmonton, AB., Canadá y Stomacher digital (Seward 400; London, Reino Unido).
- ✓ Rotavapor (Laborota; 4000 WB, Heidolph instruments, Schwabach, Alemania.
- ✓ Otros equipos que serán mencionados posteriormente.

3.2 Metodología analítica

3.2.1 Análisis microbiológicos

3.2.1.1 Preparación de las muestras

La preparación de las muestras y obtención de las diluciones decimales, se llevo a cabo bajo las indicaciones de la NOM 110-SSA1-(1994) en la cual se establecen los procedimientos para la preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.

Se tomaron asépticamente 10 g de chorizo de cada muestra y se diluyeron en 90 ml de agua peptonada estéril, dicha solución contenía 1 g (0,1%) de peptona y 8,5 g (0,85%) de NaCl aforada con 1 l de agua destilada. La mezcla se homogeneizó en Stomacher durante 2 minutos a 150 rpm. De esta primera dilución (1:10 p/v), se realizaron las diluciones decimales necesarias para el recuento de los diversos grupos de microorganismos que se analizaron, haciendo diluciones desde 10^{-1} a 10^{-8} .

3.2.1.2 Bacterias ácido lácticas (BAL)

El recuento de las BAL se llevó a cabo siguiendo la norma ISO 15214 (ISO, 1998).

Material / medio de cultivo

- ✓ Placas de Petri estériles de 90 mm de diámetro
- ✓ Agar MRS (de Man, Rogosa y Sharp) (CM 0361 de Oxoid, Ltd.).

Procedimiento

A partir de la serie de diluciones obtenidas y por duplicado se depositó, usando puntas estériles y con ayuda de una micropipeta, 1 ml de cada dilución en placas de Petri. A las placas que contenían el inóculo les fue añadido aproximadamente 15-20 ml del medio de cultivo MRS, el cual previamente fue diluido en agua destilada y esterilizado a 121°C durante 15 min. Éste fue adicionado a una temperatura aproximada de 45°C, se mezcló cuidadosamente y se dejó solidificar manteniendo las placas sobre una superficie horizontal (método de siembra en profundidad), y adicionando una segunda capa del medio de cultivo (doble capa). Una vez solidificadas las placas de agar MRS se introdujeron invertidas en estufa de incubación a 30°C por 72 h.

3.2.1.3 Microorganismos aerobios mesófilos viables (MAMV)

La determinación de los MAMV se realizó mediante la técnica de recuento en placa que establece la norma ISO 4833 (ISO, 2003).

Material / medio de cultivo

- ✓ Placas de Petri estériles de 90 mm de diámetro
- ✓ Agar Standard Plate Count (PCA) (CM 0463, Oxoid Ltd., Basingstoke, Hampshire, Reino Unido).

Procedimiento

Se realizó el mismo procedimiento descrito en 3.2.1.2 empleando el método de siembra en profundidad. Una vez solidificadas las placas se incubaron en posición invertida a $30 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 72 horas en estufa de incubación.

3.2.1.4 Microorganismos aerobios psicrotrofos viables (MAPV)

El análisis de los MAPV se llevó a cabo siguiendo la técnica descrita en la norma ISO 17410 (ISO, 2001).

Material / medio de cultivo

- ✓ Placas de Petri estériles de 90 mm de diámetro
- ✓ Agar Standard Plate Count (PCA) (CM 0463 de Oxoid, Ltd.).

Procedimiento

Para la determinación de los MAPV se realizó el mismo procedimiento descrito en 3.2.1.2 empleando el método de siembra en profundidad con PCA como medio de cultivo. Una vez solidificadas las placas, se introdujeron invertidas en una cámara de incubación a $7 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 7 días.

3.2.1.5 Microorganismos esporulados aerobios (MEAER)

El recuento de los MEAER se realizó de acuerdo al PNT n° 010 descrito por el Instituto Nacional del Consumo (INC., 1999).

Material / medios de cultivo

- ✓ Placas de Petri estériles de 90 mm de diámetro
- ✓ Agar Triptona de Soja (TSA, CM 0131, Oxoid, Ltd.).

Procedimiento

Una vez realizadas todas las siembras, los tubos conteniendo las diluciones de la muestra, se sometieron a calentamiento en baño maría a 80°C durante 10 minutos para luego ser enfriados rápidamente en baño de hielo, (de esta forma se destruyen las células vegetativas mientras que permanecen las esporas). Para el recuento se empleó el método de siembra en profundidad según se describe en 3.2.1.2. Una vez solidificadas las placas de agar TSA se introdujeron invertidas en estufa de incubación a $30 \pm 2^\circ\text{C}$ por 72 h.

3.2.1.6 Micrococaceas (MICC)

El análisis de los micrococos se realizó de acuerdo a lo descrito por Cordero y Zumalacárregui (2000).

Material / medio de cultivo

- ✓ Placas de Petri estériles de 90 mm de diámetro
- ✓ Agar Sal Manitol (MSA) (CM 0085 de Oxoid, Ltd.).

Procedimiento

Se siguió el mismo procedimiento establecido en 3.2.1.2 empleando el método de siembra en profundidad, las placas fueron incubadas en estufa en posición invertida por 48 ± 2 h a $30 \pm 2^\circ\text{C}$.

3.2.1.7 Enterobacterias (ENB)

Las Enterobacterias se analizaron siguiendo las directrices propuestas en la norma ISO 7402 (ISO, 1993).

Material / medio de cultivo

- ✓ Placas de Petri estériles de 90 mm de diámetro
- ✓ Agar Cristal Violeta - rojo neutro - bilis - glucosa (VRBGA; CM 0485, Oxoid Ltd.)

Procedimiento

Se realizó el mismo procedimiento descrito en 3.2.1.2 empleando el método de siembra en profundidad pero adicionando una segunda capa del medio de cultivo (doble capa). Una vez solidificadas las placas de agar VRBGA se introdujeron invertidas en estufa de incubación a $35 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 48 h. Concluido el periodo de incubación se contabilizaron las colonias rojas rodeadas de un halo de precipitación rojizo-violeta.

3.2.1.8 Mohos y levaduras (MYL)

Para el recuento de MYL, se empleó la técnica de acuerdo a las indicaciones de la NOM-111-SSA1-(1994).

Material / medio de cultivo / reactivos

- ✓ Placas de Petri estériles de 90 mm de diámetro
- ✓ Agar Patata Dextrosa (PDA; CM 0139, Oxoid, Ltd.)
- ✓ Ácido Tartárico 10% (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO., EEUU)

Procedimiento

Se realizó el mismo procedimiento descrito en 3.2.1.2, depositando 0,1 ml de cada dilución en las placas de Petri. En este caso como medio de cultivo se empleó agar patata dextrosa, al cual se le adicionó antes de ser vertido sobre las placas de Petri ácido tartárico (10%) hasta alcanzar un pH de 3,5. El agar y el ácido se mezclaron suavemente para evitar el ingreso de burbujas de aire. Posteriormente las placas previamente solidificadas, se introdujeron en posición invertida en estufa de incubación a $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$ por 7 días.

3.2.2 Análisis químicos y físico-químicos

3.2.2.1 Dimensiones y granulometría

Procedimiento

Se determinó mediante el análisis de dos diferentes medidas: diámetro del embutido y tamaño del grano, esta medida se realizó desmenuzando el embutido y colocando una regla sobre la masa a fin de medir el tamaño medio de la partícula del grano (carne y grasa) como se muestra en la Figura 8. Se tomó el grosor medio de 20 mediciones para cada tipo de partícula. Se midió el grosor en dirección paralela a la regla descartando las partículas excesivamente alargadas (más del doble de largo que de ancho).

Figura 8. Determinación del tamaño del grano en los chorizos

3.2.2.2 Pérdidas de humedad

Las pérdidas de humedad durante el secado o conservación de los chorizos se calcularon por diferencias de peso del producto a través del tiempo en los diferentes días de muestreo.

$$\% \text{ pérdida de humedad} = 100 - \frac{P_2 \times 100}{P_1}$$

Donde:

P₁= peso en gramos en el momento del embutido o envasado.

P₂= Peso en gramos a los distintos tiempos de secado o almacenamiento.

3.2.2.3 pH

La medida del pH se llevó a cabo según el método descrito por Guerrero y Arteaga (1990). La medición del pH se realizó con un pH-metro (Termo Orión; 420A, Beverly, MA., EEUU) acoplado a un electrodo de pH de la misma marca.

Reactivos

- ✓ Solución tampón de pH 7,02
- ✓ Solución tampón de pH 4,00

Procedimiento

Se pesaron aproximadamente 10 g de chorizo (muestra homogeneizada) la cual fue mezclada con 100 ml de agua destilada y se midió el pH tras 10 min de espera. Las medidas se efectuaron a temperatura ambiente ($\sim 20^{\circ}\text{C}$)

3.2.2.4 Actividad de agua (a_w)

Para medir la actividad de agua se utilizó un equipo Aqua Lab; 3TE (Decagon Devices, Inc., Pullman, WA., EEUU). En las cápsulas de plástico que vienen con el equipo se depositaron aproximadamente 5 g de muestra y se procedió a realizar la medición. Las medidas se efectuaron a temperatura ambiente ($\sim 20^{\circ}\text{C}$).

3.2.2.5 Humedad

La determinación del contenido de humedad se realizó básicamente de acuerdo al método 950.46 de la AOAC (AOAC, 1999a) mediante secado en horno de convección de aire forzado.

Material / reactivos

- ✓ Alcohol etílico al 96% (v/v)
- ✓ Arena de mar lavada de grano fino

Procedimiento

Se utilizaron cápsulas de aluminio, las cuales se dejaron 1 h a $102 \pm 2^{\circ}\text{C}$, a cada una de éstas, les fue agregada aproximadamente 15 g de arena de mar lavada de grano fino, colocando en su interior una varilla de vidrio. El conjunto (cápsula, arena y varilla) se introdujo en estufa, donde se desecó durante 1 h a $102 \pm 2^{\circ}\text{C}$. Posteriormente, las cápsulas se colocaron en un desecador donde se dejaron enfriar hasta temperatura ambiente.

Una vez frías las cápsulas y mantenidas a peso constante les fue registrado su peso para posteriormente agregarles 5 g de muestra previamente homogeneizada y se pesó nuevamente, se añadieron 5 ml de alcohol etílico al 96% y se mezcló la muestra con la arena con ayuda de la varilla de vidrio (Figura 9). Las cápsulas se colocaron en

el horno y se sometieron a desecación a $102 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 4 h. Transcurrido este tiempo, se procedió al enfriamiento en el desecador y el conjunto se pesó.

El contenido de humedad del chorizo se calculó por diferencia de pesos antes y después del tratamiento. La humedad se expresó como porcentaje en peso y se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Humedad} = \frac{P_1 - P_2}{P_1 - P_0} \times 100$$

Donde:

P_0 = Peso en gramos de la cápsula, varilla y arena.

P_1 = Peso en gramos de la cápsula, varilla, arena y muestra antes de desecar.

P_2 = Peso, en gramos, de la cápsula, varilla, arena y muestra, después de desecar.

Figura 9. Cápsulas de aluminio conteniendo muestras de chorizo con arena de mar para determinación de humedad

3.2.2.6 Nitrógeno total - proteína

La determinación de nitrógeno se realizó cuantificando el nitrógeno total según el método Kjeldahl siguiendo el procedimiento 992.15 (AOAC, 1999a). Se utilizó un digestor Büchi B-426, (Flawil, Suiza) y una unidad de destilación de la misma marca (K-350).

Reactivos

- ✓ Ácido sulfúrico al 98% (v/v).

- ✓ Na OH al 40% (p/v).
- ✓ Disolución valorada de HCl 0.1 M
- ✓ Pastillas catalizadoras "Special Kjeltabs S 3,5" (Panreac, Barcelona, España) con 3,5 g de sulfato potásico y 0,0035 g de selenio por pastilla.
- ✓ Disolución de ácido bórico al 4% con verde de bromocresol y rojo de metilo como indicadores. Se preparó disolviendo 40 g de ácido bórico en aproximadamente 600 ml de agua destilada caliente. Una vez disuelto, se añadió más agua destilada hasta un volumen de 900 ml. Se dejó enfriar a temperatura ambiente, tras lo cual se añadieron 10 ml de una disolución de verde de bromocresol (100 mg en 100 ml de alcohol etílico) y 7 ml de una disolución de rojo de metilo (100 mg en 100 ml de alcohol etílico). Se enrasó a un volumen final de 1 l con agua destilada y se mezcló.

Procedimiento

Se utilizó 1 g de muestra previamente homogeneizada la cual fue colocada en el tubo de digestión, añadiendo unas perlas de vidrio y una pastilla de catalizador. Seguidamente se añadieron 12 ml de ácido sulfúrico concentrado, se agitó suavemente por rotación y se introdujo en la unidad de digestión, a una temperatura de 420°C a la que se llegó progresivamente. La digestión se mantuvo durante 3 horas, hasta la total clarificación (Figura 10), transformándose el nitrógeno en amoníaco y quedando éste en disolución en forma de ión amonio.

Una vez realizada la digestión, se liberó el amoníaco mediante la alcalinización del medio con aproximadamente 50 ml de NaOH al 40% después de haber añadido 50 ml de agua Mili-Q. El amoníaco se arrastró en una corriente de vapor durante aproximadamente 7 minutos en la unidad de destilación, hasta alcanzar un volumen de 150 ml del destilado, que se recogió en un matraz con 40 ml del reactivo de ácido bórico al 4%. El contenido se valoró por titulación con ácido clorhídrico 0,1 M hasta el viraje del indicador, midiendo el volumen gastado con una bureta. Además de las muestras se realizaron dos blancos.

El porcentaje de nitrógeno total se determinó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Nitrógeno total} = \frac{1,4 f (V_f - V_0)}{P} \times N$$

Donde:

f = Factor del ácido clorhídrico

Vf = ml de HCl gastados en la valoración de la muestra

V0 = ml de HCl gastados en la valoración del blanco

P = Peso en g de la muestra

M = Normalidad del ácido clorhídrico

$$\% \text{ de Proteína total} = \% \text{ Nitrógeno total} \times 6.25$$

*6.25 = Factor de conversión de nitrógeno a proteína cruda en carne.

Figura 10. Bloque de digestión y destilador con muestras de chorizo utilizados en la determinación de la proteína

3.2.2.7 Nitrógeno α -aminoacídico

Para la cuantificación del nitrógeno aminoacídico se empleó el método de la ninhidrina descrito por Moore y Stein (1948).

Reactivos

- ✓ Leucina, para preparar la recta patrón
- ✓ Propanol al 50% (v/v)

- ✓ Reactivo de ninhidrina: 2 g de ninhidrina y 0,3 g de hidridantina en 75 ml de etilenglicol monometil éter exento de peróxidos; una vez disuelta la mezcla se añadieron 25 ml de tampón acético/acetato 4M a pH 5,5.

Procedimiento

A partir del extracto obtenido para ácidos orgánicos (descrito posteriormente), se tomó una alícuota de 0,5 ml, se llevó a 10 ml con agua destilada y partir de esta dilución se tomaron 0,25 ml que se colocaron en un tubo de ensayo. Se añadieron 0,75 ml del reactivo de ninhidrina, se agitó bien la mezcla y los tubos se colocaron en un baño de agua hirviendo durante 20 min.

Terminado el calentamiento, los tubos fueron enfriados en un baño de agua, se añadieron 4 ml de n-propanol al 50% y se agitaron. Dejadlos los tubos en reposo durante 10 min para favorecer el desarrollo del color, se leyó la densidad óptica a 570 nm frente a un blanco.

Obtención de la curva patrón

Para la construcción de la gráfica patrón se utilizó una disolución acuosa de leucina 0,001M de la cual se tomaron alícuotas de 0,025, 0,05, 0,15, y 0,25 ml conteniendo respectivamente 0,025, 0,05, 0,15, 0,25 μ moles de leucina. Con estos datos se obtuvo la ecuación de la recta patrón:

$$Y = 4,477X \quad r^2 = 0,941$$

Y: Valores de absorbancia.

X: Valores de concentración.

La cuantificación de nitrógeno aminoacídico se calculó mediante la siguiente fórmula:

$\text{N aminoacídico (mg/100g producto)} = \text{Concentración en la solución de medida} \times \frac{\text{Volumen final}}{\text{Peso muestra}}$
--

3.2.2.8 Nitrógeno soluble y nitrógeno no proteico

Para la separación y cuantificación del nitrógeno soluble y del nitrógeno no proteico de la muestra se usó como modelo el protocolo de Díaz et al. (1997) al que se realizaron algunas modificaciones.

Materiales / Reactivos

- ✓ Papel filtro Whatman N° 2
- ✓ Agua milli-Q
- ✓ Ácido tricloroacético al 25%.

Procedimiento

Se partió de 10 g de muestra, que se homogeneizaron con 80 ml de agua milli-Q durante 2 min en Ultra Turrax (T-18) a 9500 rpm. El homogeneizado se centrifugó a 3000 rpm durante 15 min. Seguidamente se lavó el residuo con 70 ml de agua y se volvió a centrifugar en las mismas condiciones. Se juntaron los sobrenadantes de ambas centrifugaciones y se anotó el volumen obtenido.

A partir de 25 ml de este sobrenadante se procedió a la determinación del nitrógeno soluble procediendo de la misma forma que lo descrito en el apartado de la proteína bruta o nitrógeno total (método de Kjeldhal).

Para obtener el nitrógeno no proteico, a 25 ml del sobrenadante se le agregaron 25 ml de ácido tricloroacético al 25% y se dejó reposar la mezcla durante 30 min a 4°C. Seguidamente se filtró con papel Whatman N° 2 y al filtrado se le analizó el contenido en nitrógeno según el procedimiento descrito para nitrógeno total (método de Kjeldhal). Los resultados se expresaron como porcentaje de nitrógeno soluble en agua o nitrógeno no proteico sobre nitrógeno total.

3.2.2.9 Cenizas

Para la determinación de las cenizas se siguió el Método Oficial de la AOAC (1999a), número 920.153 con algunas modificaciones según se describe a continuación.

Reactivos

- ✓ Agua milli-Q.

- ✓ Acetato de magnesio anhidro al 15% (p/v).

Procedimiento

Se introdujeron unos crisoles de porcelana (marcados previamente) en estufa a $100 \pm 2^\circ\text{C}$ durante al menos 30 min para su desecación. Se sacaron y enfriaron en un desecador durante otros 30 min. Posteriormente éstos fueron pesados registrándose el peso exacto en una balanza de precisión con cuatro decimales. En dichos crisoles fueron pesados 5 g de muestra anotando el peso exacto del incremento. Finalmente, al crisol con la muestra les fue añadido 1 ml de solución de acetato de magnesio anhidro al 15% (p/v).

El conjunto se mezcló uniformemente y se introdujo en la mufla a 100°C para ir subiendo la temperatura 50°C cada 30 min hasta llegar a 250°C . Posteriormente se subió a 550°C y se mantuvo a esa temperatura durante aproximadamente 1 hora, comprobando que tras ese tiempo las cenizas tenían un color blanco o ligeramente gris. En caso contrario, se añadieron 2 ml de agua Mili-Q y se repitió el proceso de calcinación. Finalmente, los crisoles con las cenizas fueron enfriados en desecador y posteriormente fueron pesados.

Paralelamente al análisis descrito se realizó un blanco por duplicado, incinerando un crisol con 1 ml de acetato de magnesio sin muestra, y se anotó el incremento de peso.

Las cenizas se expresaron como porcentaje en peso según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{(P_2 - P_0 - P_3)}{(P_1 - P_2)} \times 100$$

Donde:

P_0 = Peso de la cápsula

P_1 = Peso de la cápsula conteniendo la muestra

P_2 = Peso de la cápsula y el residuo después de la incineración

P_3 = Peso proveniente de la disolución de acetato de magnesio añadido (blanco) después de su incineración.

3.2.2.10 Hidroxiprolina (Hpro) - colágeno

La determinación del contenido de colágeno se realizó mediante la técnica descrita en los Métodos Oficiales de Análisis de Productos Cárnicos (Presidencia del Gobierno, 1979), a partir del contenido de Hpro se calculó el de colágeno multiplicando por un factor de 8.

Reactivos

- ✓ Solución acuosa de HCl al 50% (v/v).
- ✓ Solución concentrada de NaOH al 40% (p/v).
- ✓ Solución de NaOH al 10% (p/v).
- ✓ Alcohol isopropílico puro.
- ✓ Solución acuosa de cloramina T al 10,5% (p/v).
- ✓ Solución tampón de pH 6, que se preparó disolviendo 34 g de acetato de sodio anhidro, 36,5 g de citrato trisódico monohidratado, 5,5 g de ácido cítrico en 385 ml de alcohol isopropílico puro y enrasando a 1000 ml con agua destilada.
- ✓ Solución oxidante la cual fue preparada al momento de su empleo, se preparó tomando 1 volumen de la solución acuosa de cloramina T y 4 volúmenes de la solución tampón de pH 6.
- ✓ Solución acuosa de ácido perclórico al 17,5% (v/v).
- ✓ Solución de p-dimetilaminobenzaldehído (p-DMAB) al 5% en alcohol isopropílico.
- ✓ L-hidroxiprolina

Procedimiento de hidrólisis

Se pesaron aproximadamente 3 g de muestra previamente homogeneizada, los cuales fueron introducidos en matraces de 100 ml junto con unas partículas de carbunduro (como cuerpos de ebullición) y 50 ml de la solución de HCl al 50%. Posteriormente, los matraces fueron colocados sobre parrillas de calentamiento y montados los

refrigerantes de reflujo, calentando de forma que se mantuvo una ebullición suave durante al menos 7 h.

Terminado este proceso, los matraces fueron enfriados rápidamente bajo corriente de agua y se neutralizó el contenido agregando 28 ml de la solución concentrada (40%) de NaOH y agitando vigorosamente. Posteriormente se dejó enfriar la mezcla y el pH final del contenido de los matraces fue ajustado a un valor entre 6 y 7 con la solución diluida (10%) de NaOH. Luego se transfirió el contenido a un matraz aforado de 200 ml, se enrasó y dejó en reposo durante 1 h. Tras este tiempo el contenido fue filtrado a través de papel filtro plegado.

Preparación de la curva patrón

Se preparó una solución madre conteniendo 400 µg/ml de Hpro en agua destilada, a partir de esta solución se hicieron por duplicado diluciones que contenían 5, 10, y 20 µg/ml con agua destilada. Posteriormente, se preparó una serie de ocho tubos y se colocó en dos de ellos (tubos testigo) 1 ml de agua destilada, en otros dos 1 ml de la solución que contenía 5 µg/ml, de Hpro y lo mismo se hizo para las soluciones que contenían 10 y 20 µg/ml de Hpro.

Posteriormente se añadieron a cada tubo 2 ml de alcohol isopropílico y 1 ml de la solución oxidante recién preparada y se agitó la mezcla. Se dejó reposar durante 10 min, transcurrido el tiempo se añadió de nuevo a cada tubo 3 ml de la solución de ácido perclórico al 17,5% y 2 ml de p-DMBA al 5%. El contenido de los tubos fue homogeneizado y llevado a baño maría regulado a 60°C durante 20 min. Después de enfriarlos bajo corriente de agua, el volumen fue ajustado hasta 12 ml con isopropanol. El contenido se agitó y se leyó la densidad óptica de cada tubo a 560 nm, (el cero fue ajustado con agua destilada y se tomó el valor del tubo testigo para seguir la curva). Se realizó la correspondiente curva patrón colocando en las ordenadas la observancia y en las abscisas las concentraciones (µg/ml de Hpro) y ajustando los pares de valores mediante regresión lineal.

Determinación espectrofotométrica de la Hpro.

Para la determinación de la Hpro de las muestras se procedió de la misma forma que para la curva patrón, pero en lugar de 1 ml de las soluciones patrón se tomó 1 ml de

cada uno de los filtrados obtenidos (muestras) y la lectura en el espectrofotómetro se interpoló en la curva patrón para obtener la concentración de Hpro.

El contenido en Hpro se expresó en términos de g/100 g de producto y la cantidad de colágeno se obtuvo multiplicando por ocho el contenido en Hpro.

$$\% \text{ colágeno} = \% \text{ Hpro} \times 8$$

3.2.2.11 Aminas biógenas

La determinación de las aminas biógenas se llevo a cabo según el método descrito por Eerola et al. (1993) mediante cromatografía líquida de alta definición.

Reactivos

- ✓ Ácido perclórico 0,4 M
- ✓ Hidróxido de sodio 2 M
- ✓ Solución saturada de bicarbonato de sodio
- ✓ Solución de cloruro de dansilo (Sigma-Aldrich) en acetona: (10mg/ml)
- ✓ Acetonitrilo
- ✓ Acetato de amonio 0,1 M (fase móvil) filtrado a través de filtros de 0,45 µm
- ✓ Hidróxido de amonio al 25%

Extracción

Se partió de 20 ml del extracto obtenido para los ácidos orgánicos (descrito posteriormente), los cuales fueron depositados en matraz aforado y adicionados con 500 µl de 1,7 diaminoheptano (1 mg/ml), utilizado como estándar interno, y 1,1 ml de ácido perclórico. El volumen fue enrazado a 25 ml con agua mili-Q. Previa agitación, el volumen se procedió a la centrifugación de la mezcla a 3000 rpm durante 5 min, filtrando con papel Whatman No. 1.

Preparación de patrones

Fueron pesadas y disueltas cada una de las siguientes aminas (Sigma-Aldrich) por separado en 25 ml de agua: di-hidrocloruro de putrescina (45 mg), hidrocloruro de

cadaverina (45 mg), di-hidrocloruro de histamina (40 mg), cloruro de tiramina (30 mg), difosfato de espermidina (60 mg), y di-fosfato de espermina (65 mg). Posteriormente, en matraz aforado (100 ml) se añadió una cantidad apropiada de las 9 diluciones anteriormente preparadas para obtener una concentración de 100 µg/ml de cada amina biógena y se completó a 100 con agua mili-Q (solución de aminas). Para la curva de calibración de las aminas, se prepararon diluciones tomando distintas cantidades de la solución de aminas (0, 0,5, 1, 2, y 4 ml) y a cada una de ellas se le agregaron 500 µl del estándar interno, 1,1 ml de ácido perclórico y se completó a 50 ml con agua mili-Q.

Derivatización

Se colocaron 1 ml de cada una de las soluciones obtenidas de las muestras y de las diluciones de los patrones preparados anteriormente en tubos con rosca y se añadieron 200 µl de la solución de hidróxido de sodio 2 N, 300 µl de bicarbonato de sodio saturado (para alcalinizar el medio), 2 ml de la solución de cloruro de dansilo (recién preparada) y se agitó. Posteriormente los tubos fueron colocados en baño maría a 40°C por 45 min. Una vez fríos, se agregaron 100 µl de hidróxido de amonio al 25%, para eliminar el exceso de cloruro de dansilo. Después de 30 min, de reposo en oscuridad, se adicionó 1,4 ml de acetonitrilo y se centrifugó la mezcla a 2500 rpm durante 5 min. El sobrenadante se hizo pasar por un filtro de 0,45 µm de poro hacia un vial para cromatografía.

Desarrollo cromatográfico

Se inyectaron 20 µl de las muestras filtradas y de los patrones en un cromatógrafo Alliance (Waters 2695) equipado con un detector "Diode Array" (Waters 2996, Waters Corporation, Milford, MA., EEUU), con una columna (Waters Spherisorb® ODS2, Wexford, Irlanda) de 5 µm, 4 x 125 mm.

Las condiciones del análisis cromatográfico fueron:

- Fase móvil A: acetato de amonio 0,1M
- Fase móvil B: acetonitrilo
- Gradiente de elución: comienza con 50% de acetonitrilo y termina con un 90%.

- Duración de la carrera: 19 min.
- Velocidad de flujo: 1ml /min.
- Temperatura de la columna: 40°C
- Detección: UV 254 nm con monitorización desde 250 a 550 nm como referencia.

Identificación

Para la identificación de las aminas biógenas se inyectaron patrones (preparados previamente), y los tiempos de retención obtenidos fueron comparados con los tiempos de retención de los picos de las muestras. Se estudió el espectro de lo eluido en el rango antes mencionado para comprobar la pureza del compuesto.

Cuantificación

Se usó el método del estándar interno. El contenido de las distintas aminas identificadas fue expresado en mg/kg de chorizo.

3.2.2.12 Grasa

Para la determinación de grasa se utilizó el sistema de extracción de grasa Soxhlet automatizado (Büchi, B-811, Flawil, Suiza) siguiendo la metodología descrita en la Norma 991.36 (AOAC, 1999a).

Reactivos

- ✓ Éter de petróleo 40-60°C

Procedimiento

Se partió de muestras secas obtenidas tras la determinación de humedad que fueron introducidas en cartuchos de celulosa, tapadas con algodón y colocadas en el equipo de extracción (Figura 11). Se colocaron los vasos de vidrio previamente llevados a peso constante los cuales contenían aproximadamente 80 ml de éter de petróleo). Una vez programado el equipo (extracción 3.45 h, lavado 5 min, secado 5 min), se inició el proceso de extracción de grasa.

Una vez terminado el proceso, se retiraron los vasos con la grasa y se introdujeron 30 min en estufa a $100 \pm 2^\circ\text{C}$, se llevaron al desecador hasta alcanzar la temperatura

ambiente y peso constante. El contenido de grasa se expresó como porcentaje en peso según la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Grasa} = \frac{P_1 - P_0}{P_2} \times 100$$

Donde:

P_0 = Peso en gramos del vaso vacío

P_1 = Peso en gramos del vaso con grasa

P_2 = Peso en gramos de la muestra (obtenida de humedad)

Figura 11. Equipo automatizado Soxhlet utilizado en la determinación de grasa

3.2.2.13 Ácidos grasos totales

La determinación de los ácidos grasos totales se realizó mediante el método de transesterificación *in situ* y análisis de los metil esteres de los ácidos grasos por cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas.

Reactivos

- ✓ Ácido clorhídrico 10% (v/v)
- ✓ Metanol
- ✓ Tolueno
- ✓ Carbonato de potasio (K_2CO_3)
- ✓ Sulfato de sodio (Na_2SO_4).

Procedimiento

Un total de 0,2 g de muestra previamente homogeneizada fueron pesados y colocados en tubos Eppendorf. Estos fueron congelados y posteriormente liofilizados. Se trasvasó el contenido de los tubos (liofilizado) a tubos de ensayo (Pirex) con rosca. Posteriormente para la metilación de los ácidos grasos (Carrapiso et al. (2000), se agregó 1 ml de tolueno y 3 ml de una solución de HCl en metanol previamente preparada (1 volumen de cloruro de acetilo en 10 volúmenes de metanol). Inmediatamente se colocó cinta teflón rodeando la rosca de los tubos, estos fueron cerrados herméticamente y agitados, posteriormente llevados a un baño de agua a una temperatura de 70°C durante 45 min, a la mitad del tiempo se volvieron a agitar. Transcurrido el tiempo, los tubos fueron enfriados mediante chorro de agua, y se les agregó 5 ml de K₂CO₃ y se procedió a su centrifugación (400 g por 3 min).

Posteriormente la fase orgánica (tolueno), conteniendo la grasa, de cada tubo fue trasvasada a otra serie de tubos que contenían Na₂SO₄ anhidro (desecante, aproximadamente 0,1 g) con ayuda de una pipeta Pasteur y los tubos fueron agitados y centrifugados nuevamente bajo las mismas condiciones. Los sobrenadantes fueron transferidos a los correspondientes viales para su análisis cromatográfico.

Separación cromatográfica e identificación

La separación de los ácidos grasos se llevó a cabo empleando un cromatógrafo de gases (HP 6890 Series GC system, Ramsey, MN., EEUU), acoplado a un detector selectivo de masas (HP 5973 Inert MSD Mass Selective Detector) equipado con un inyector automático (HP 7683 series inyector). Los ácidos grasos metil éster fueron separados con una columna capilar (Omegawax 250 Fused Silica; Supelco, Madrid, España), de 30 m de longitud x 0,250 mm de diámetro interno y grosor de la película de 0,25 µm. Las condiciones de trabajo utilizadas fueron las siguientes:

- Gas portador: He.
- Volumen de inyección: 1 µL
- Inyección: Modo split
- Relación del split: 60:1

- Velocidad de flujo inicial: 1 ml/min
- Temperatura de transferencia en el detector: 300°C
- Temperatura del inyector 200°C

Programación de temperatura del horno:

Rampa	°C/min	T ^a (°C)	Tiempo (min) de mantenimiento	Tiempo (min) transcurrido
Inicial	---	50	1,00	1,00
1	10,00	150	1,00	12,00
2	12,00	180	0,00	14,50
3	2,00	188	6,00	24,50
4	2,00	220	2,00	42,50
5	20,00	260	7,00	51,50

Identificación

La identificación de los ácidos grasos se llevó a cabo por comparación de los tiempos de retención con los patrones externos (Sigma-Aldrich) y posterior comprobación con los espectros de masas de los picos con los ácidos grasos de la base de datos HP Willey 275. L Mass Spectral Library (HP, revisión D 01.00, 1998) proporcionada por el fabricante del equipo.

En el caso de los picos con tiempos de retención diferentes a los patrones, se llevo a cabo su identificación tentativa mediante la comparación de su espectro con los espectros que figuran en la base de datos antes mencionada (a través de los cuales se obtuvo la longitud de la cadena y el número de insaturaciones), interpretación personal de los espectros y teniendo en cuenta además el orden de elusión, según el patrón consultado en la bibliografía disponible. Este fue el caso de los ácidos grasos tentativamente identificados como isómeros metil-ramificados y algún ácido graso insaturado, especialmente los de cadena impar.

Cuantificación

La cuantificación se realizó a partir de los factores respuesta obtenidos por regresión lineal de las áreas de los picos de los cromatogramas de los patrones, que fueron inyectados a tres concentraciones diferentes por duplicado. Los resultados se dieron en % de cada ácido graso sobre el total de ácidos grasos. En aquellos casos en los que

no se dispuso de patrones metil-ésteres, para la cuantificación se tomó como factor respuesta el del isómero correspondiente.

3.2.2.14 Ácidos grasos libres

El contenido en ácidos grasos libres de las muestras se determinó previa extracción de la grasa y de ésta los ácidos grasos libres y posterior análisis cromatográfico, según las indicaciones de Soriano et al. (2006).

Reactivos

- ✓ Metanol
- ✓ Cloroformo
- ✓ Papel filtro Whatman No. 1
- ✓ Cloruro de potasio 0,88% (m/v)
- ✓ Dilución acuosa de metanol 1:1 (v/v)
- ✓ Mini columnas para extracción en fase sólida (Discovery, DSC-NH₂, 3ml, 500 mg: Supelco).
- ✓ Hexano con 0,02% de BHT (m/v)
- ✓ Ácido pentadecanoico (200 mg/10 ml de hexano preparado)
- ✓ Dietil-éter con ácido acético glacial al 2% (v/v)
- ✓ Trifloruro de boro en metanol al 10%
- ✓ Ácido sulfúrico 3 mM

Extracción de la grasa

En tubos de centrifuga, se pesaron 5 g de cada muestra y se homogeneizaron con 7 ml de metanol en Ultraturrax por 3 min a 9,500 rpm. Después se añadieron 14 ml de cloroformo, y la mezcla se homogeneizó por 1 min más. Posteriormente, la mezcla fue centrifugada a 4000 rpm durante 5 min. El sobrenadante así obtenido se filtró a través de papel filtro Whatman No.1. Al residuo sólido resultante se le añadieron 7 ml de metanol y 14 ml de cloroformo y se homogeneizó la mezcla mediante agitación con varilla de vidrio. Después se filtró la parte líquida resultante utilizando el mismo filtro y hacia el mismo embudo de decantación que en la primera extracción. El

conjunto de los filtrados, se lavó con 16 ml de cloruro de potasio y 16 ml de metanol acuoso (Figura 12). Se separó la fase orgánica y los solventes se evaporaron a sequedad bajo vacío en un rotavapor a 40°C. La grasa así obtenida, fue depositada en viales y congelada.

Figura 12. Embudos de decantación usados durante el proceso de extracción de grasa.

Extracción de los ácidos grasos libres

Los ácidos grasos fueron separados de los lípidos neutros y polares por extracción en fase sólida usando mini columnas (Discovery DSC-NH₂, 500 mg Supelco).

Prevía descongelación de la grasa extraída de las muestras en estufa (60°C, 30 min), una parte alícuota de aproximadamente 100 µL (peso exacto registrado) de grasa extraíble fue disuelta en 4 ml de hexano con 0,02% de BHT (m/v). Se añadieron 50 µL de una solución de ácido pentadecanoico (estándar interno) y la mezcla se agitó.

La filtración se realizó con las mini columnas agregando 1,5 ml más de hexano preparado a cada mini columna, éste primer filtrado fue desechado. El retenido fue eluido con 5 ml de éter di-etílico con 2% (v/v) de ácido acético glacial. El disolvente fue evaporado bajo vacío en una centrifuga Speed Vac (Savant; SC 110^a, Farmingdale, NY., EEUU) acoplada a una trampa de vapor de la misma marca (RVT 400).

Derivatización de los ácidos grasos libres

Los ácidos grasos libres de las muestras (contenidos en el residuo de los tubos tras la evaporación del disolvente) fueron derivatizados con 1 ml de trifloruro de boro en metanol al 10% por 20 min a 50°C. Posteriormente, los ésteres metílicos de los ácidos grasos fueron extraídos con 2 ml de hexano y colocados en un vial para ser inyectados dentro de un cromatógrafo de gases acoplado a un detector de masas.

El proceso cromatográfico de separación, así como la identificación y cuantificación de los ácidos grasos libres se realizó de la misma manera que se describió para los ácidos grasos totales.

3.2.2.15 Ácidos orgánicos

El contenido en ácidos orgánicos se determinó de acuerdo al método descrito por Bruna et al. (2003) con ciertas modificaciones.

Reactivos

- ✓ Acetato de sodio
- ✓ Ácido cítrico
- ✓ Ácido sulfúrico 3 mM.
- ✓ Ácido sulfúrico 4,5 mM.
- ✓ Lactato de sodio

Procedimiento

Extracción de los ácidos orgánicos

Se pesaron 10 g de cada muestra en los correspondientes vasos de precipitado a los cuales se les agregó 50 ml de H₂SO₄ 4,5 mM. Posteriormente la muestra se homogeneizó en Sorval durante 1 min, trasvasando el homogeneizado a un matraz y manteniéndolo en refrigeración durante 1 h a 5°C. Posteriormente la muestra fue filtrada a través de papel filtro Whatman 54, y el filtrado fue depositado en tubos de plástico y congelado (-40°C) hasta la obtención de todas las muestras.

Desarrollo cromatográfico en HPLC

Previamente a la inyección, las soluciones fueron filtradas a través de un filtro de 0,45 µm de diámetro de poro. Para la identificación de los ácidos orgánicos se utilizó un cromatógrafo (Alliance-Waters 2690), equipado con un detector de refractometría (Waters 410), una columna de separación de intercambio iónico Bio Rad-Aminex (HPX-87H) de longitud 300 mm x 7,8 mm, protegida con una columna Micro-Guard H+ (Bio-Rad Laboratorios, Hércules, CA., EEUU) de 3 cm x 4,6 mm. Se empleó un detector “Diode Array” (Waters 996).

Las condiciones del análisis cromatográfico fueron:

- Volumen de inyección 30 µl.
- Fase móvil: ácido sulfúrico 3 mM.
- Velocidad de flujo: 0,5 ml/min los primeros 30 min, se subió el flujo a 0,8 ml/min durante los 10 min siguientes hasta completar los 40 min, posteriormente el flujo se redujo a 0,5 ml/min durante los últimos 5 min.
- Temperatura de la columna: 65°C.
- Duración 45 min.
- Detección UV 210 nm.

Identificación

Para la cuantificación de los ácidos orgánicos se realizó una curva de calibración para cada ácido identificado con cantidades crecientes del mismo, ajustando los valores con una regresión lineal e interpolando el valor del área obtenida para cada ácido, en la curva patrón respectiva, para obtener la concentración final de dicho ácido. El contenido de los ácidos orgánicos se expresó en mg/100 g de producto. Los patrones empleados en la identificación fueron los ácidos cítrico, acético y láctico.

3.2.2.16 Contenido de minerales

El contenido en elementos minerales (K, Na, P, Ca, Cu, Fe, Mg y Zn), se realizó a partir de la muestra digerida con ácido nítrico concentrado (digestión húmeda), siguiendo el método 986.09 propuesto por la AOAC (AOAC, 1999b), incluyendo algunas modificaciones, mediante espectroscopía de emisión atómica acoplada

inductivamente (ICP-AES), utilizando un espectrofotómetro Perkin Elmer (Optima 2000 DV) Emission Spectrometry.

Reactivos

- ✓ Ácido nítrico concentrado (65%)

Procedimiento

Preparación del digerido

A 0,4 g de muestra previamente homogeneizada y colocada en tubos de ensayo, les fue agregado 6 ml de ácido nítrico concentrado, los tubos fueron tapados y mantenidos 16 h a temperatura ambiente. Posteriormente, fueron introducidos en baño de agua (90°C) durante 4 h y se dejaron enfriar a temperatura ambiente.

Se prepararon dos diluciones, una para minerales mayoritarios (K, Na y P) y otra para minoritarios (Ca, Cu, Fe, Mg y Zn). En el primer caso, se tomó 1 ml de muestra digerida y se trasvasó a tubo de plástico al que se le agregó 8 ml de agua milli-Q, más 1 ml de estándar interno (solución de escandio) al momento del análisis. Para el caso de los minoritarios, del digerido se tomaron 3 ml y se añadieron 6 ml de agua milli-Q más 1 ml de solución de escandio al momento del análisis. Se prepararon además 4 tubos con el blanco de cada dilución.

Finalmente todos los tubos fueron agitados y llevados al Laboratorio de Técnicas Instrumentales (LTI) de la Universidad de León para su análisis espectrométrico (Perkin-Elmer; Optima 2000 DV equipment, Bodenseewerk, Uberlingen, Alemania)

Operando bajo las siguientes condiciones:

- Potencia de radiofrecuencia (RF): 1400 W.
- Flujo del gas del plasma: 15 l/min.
- Flujo del gas auxiliar: 0,2 l/min.
- Flujo de nebulización: 0,75 l/min.
- Bomba peristáltica: 1 ml/min.

Calibración del espectrómetro

El espectrómetro fue calibrado para la determinación de Cu, Mn, Zn, Fe, Ca, y Mg a 224.7, 257.61, 213.9, 238.2, 392.4 y 279.6 nm respectivamente con una solución multi-elemento de 10 ppm en ácido nítrico/agua (1/1, v/v), mientras que para Na, P y K a 589.6, 213.6 y 766.5 nm respectivamente, la calibración se realizó con soluciones 10 ppm de cada uno de ellos en ácido nítrico/agua (1/9, v/v). Los efectos de la viscosidad fueron corregidos utilizando Sc como patrón interno el cual fue introducido en el plasma por medio de un canal adicional de la bomba peristáltica.

La curva de calibración se obtuvo para cada elemento a partir de las señales de emisión de dos réplicas de la solución multi-elemento forzando a la recta a que pasara por el origen. Los valores de r^2 fueron superiores en todos los casos a 0,999.

3.2.2.17 Color

La determinación del color de los chorizos, se realizó utilizando un espectro fotocolorímetro de reflectancia CM-508-d marca Minolta (Osaka, Japón). Las mediciones se realizaron considerando un espacio tridimensional en los ejes L^* (luminosidad), a^* (índice de rojos y verdes) y b^* (índice de amarillos y azules). Las determinación se realizaron operando el instrumento configurado a un ángulo del observador de 2° y un iluminante D65. El color fue determinado tanto en el exterior como en el interior del embutido.

Material

- ✓ Cajas de Petri de 90 mm de diámetro
- ✓ Película plástica

Procedimiento

La determinación del color externo del chorizo, se realizó colocando una película plástica sobre el embutido, posteriormente se oprimió con el colorímetro creando con ello una superficie plana. A cada muestra, le fue tomada la medición en tres puntos diferentes.

Para la determinación del color interno, se tomaron entre 50 y 100 g de muestra previamente homogeneizada y colocada en una caja de Petri de 90 mm de diámetro. La masa se compactó y fue cubierta con una película plástica transparente (Figura 13), como en el caso anterior se realizaron las mediciones en tres puntos diferentes.

Figura 13. Colorímetro Minolta y cajas de Petri conteniendo muestras de chorizo homogeneizado cubiertas con película plástica para la determinación del color.

3.2.2.18 Análisis de perfil de textura (TPA)

La determinación del TPA se efectuó mediante un método mecánico de compresión propuesto por (Szczeniak, 1962), adaptado por Bourne (1978), utilizando un analizador de textura *Texture Analyser* modelo TA-HDi (Texture Technologies, Scarsdale/ NY Stable Micro System, Surrey, England; Figura 14).

Procedimiento

La preparación de las muestras para el análisis consistió en cortar rodajas de 1,5 cm de grosor. A partir de estas rodajas se formaron cubos de 1,5 cm de lado, eliminando la parte más exterior del embutido. Es decir, los cubos se obtuvieron de la parte más central de la rodaja. Los resultados de este análisis fueron la media de tres repeticiones realizadas por muestra. Se utilizó una sonda cilíndrica Perspex de 25 mm de diámetro x 30 mm de altura y una celda de carga de 5 kg. Los parámetros del ensayo fueron los siguientes: velocidad de pre-ensayo de 2 mm/s, velocidad de ensayo de 1 mm/s, velocidad post-ensayo 2 mm/s por una distancia de 15 mm. La distancia de penetración fue del 50% de la altura (7.5 mm). Con los datos obtenidos

se determinó: dureza, adhesividad, cohesividad, elasticidad, gomosidad y masticabilidad.

Dureza: corresponde a la fuerza máxima ejercida por la sonda cilíndrica en su recorrido en profundidad de la muestra.

Adhesividad: Se define como la fuerza de área negativa del primer ciclo. Representa el trabajo requerido por las fuerzas atractivas entre la superficie del alimento y la superficie de la sonda.

Elasticidad: Se relaciona con la altura que el alimento recupera durante el tiempo entre el primer y el segundo ciclo. Se calcula como el ratio entre los tiempos de segundo y primer ciclo.

Cohesividad: Definida como el ratio entre las áreas de segundo y primer ciclo. Medida de la acción mecánica bajo la cual la muestra se desintegra.

Gomosidad: (Dureza x cohesividad) Característica de productos semisólidos con bajo grado de dureza y alto grado de cohesividad.

Masticabilidad: (Gomosidad x Elasticidad) Es la energía requerida para masticar un alimento.

Figura 14. Determinación del análisis de perfil de textura (TPA)

3.2.3 Análisis sensorial

3.2.3.1 Prueba hedónica de grado de satisfacción

El análisis sensorial se realizó mediante una prueba de la medición del grado de satisfacción utilizando una escala hedónica verbal estructurada. Esta prueba permite evaluar la preferencia o grado de satisfacción de los jueces hacia un producto en estudio (Anzaldúa, 1994). En dicha prueba fueron evaluados los parámetros de apariencia externa, olor y gusto.

El grupo de jueces catadores estuvo integrado por 5 mujeres y 5 hombres seleccionados entre los trabajadores (académicos y administrativos) del ICAp de la UAEH, por ser consumidores habituales de chorizo y mostrar buenas aptitudes para el análisis sensorial (reconocimiento de sabores, memoria de olores, interés y responsabilidad) en entrevistas personales y pruebas preliminares de reconocimiento de sustancias sápidas y aromáticas. Los jueces seleccionados fueron entrenados en cuatro sesiones de 30 min en el procedimiento de evaluación sensorial hedónica de chorizo (valoración de los atributos de apariencia, sabor y olor en los chorizos).

Para determinar el nivel de agrado se utilizó una escala estructurada de 5 puntos, siendo las alternativas de respuesta las siguientes: "Me gusta mucho" (5 puntos), "me gusta poco" (4 puntos), "me es indiferente" (3 puntos) "me disgusta un poco" (2 puntos) y "me disgusta mucho" (1 punto). En el Anexo 4 se muestra la ficha utilizada para la evaluación de las muestras.

Los análisis fueron llevados a cabo en el laboratorio de análisis sensorial del ICAp, dicho laboratorio cuenta con cabinas acondicionadas para la realización de las pruebas. Para llevar a cabo el análisis se utilizó luz natural.

La evaluación se realizó sobre las muestras obtenidas en los diferentes tiempos del muestreo (1, 14, 28 y 42 días), a las diferentes actividades de agua (0,96, 0,94, y 0,92), en los dos tipos de chorizo elaborados (artesanal o industrial) y envasados en bandeja (control) o ATM. En cada sesión de cata cada uno de los jueces evaluó seis muestras. Se permitió, si se deseaba, la deglución de las muestras. Entre muestra y

muestra se pidió a los jueces que se limpiaran el paladar con agua y pan tostado sin sal ni azúcar.

Previa descongelación, los chorizos fueron cortados en rodajas de 0,5 cm de grosor, que fueron cocinadas en horno eléctrico (CTO500 Black & Decker, Cuajimalpa, DF., México), a una temperatura de 80°C durante 5 min, cuando estas alcanzaron una temperatura interna de $68 \pm 2^\circ\text{C}$. Las muestras cocinadas fueron colocadas en pequeños vasos de plástico con tapa (previamente codificados) y ofrecidas inmediatamente a los jueces para su evaluación.

Figura 15. Muestras de chorizo durante el proceso previo a la evaluación sensorial

3.2.4 Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo con el software Statistica for Windows (versión 6.0), Statsoft Inc. (Tulsa, OK., EEUU). Para la caracterización de los chorizos de los distintos mercados, en la primera parte del estudio, se empleó una estadística descriptiva básica, determinando el valor medio y la desviación estándar para cada parámetro evaluado, así como un análisis de varianza (ANOVA) de una vía para identificar las diferencias entre los distintos tipos de chorizos ($P < 0,05$). También, en caso de estimarlo conveniente se realizó un análisis de regresión lineal simple entre variables.

En la segunda parte del experimento se realizó un análisis de varianza factorial. En este análisis de varianza se incluyeron en principio los cuatro factores estudiados (*envasado*: control y ATM; *tiempo*: 1, 14, 28 y 42 días; a_w : 0,96, 0,94, y 0,92 y *tipo*: artesanal e industrial). En caso de que alguno de los siguientes factores: envasado, a_w

y/o tipo de chorizo no mostrara efecto significativo sobre las características estudiadas se repitió el análisis de varianza eliminando aquellos factores sin efecto. Después del análisis de varianza se realizó una comparación pareada entre las medias de cada observación utilizando la prueba de Duncan, media significativa entre las medias comparadas ($P < 0,05$).

4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Caracterización del chorizo en el Estado de Hidalgo

4.1.1 Características microbiológicas

En la Tabla 8 se muestran los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos realizados en cada una de las muestras de los cuatro tipos de chorizos evaluados (carnicerías, mercados rurales, centros comerciales y centrales de abasto), además en la Tabla 9 se observan los valores medios para cada tipo de chorizo y las diferencias estadísticas encontradas. Los grupos microbianos predominantes en los chorizos fueron las BAL y los microorganismos aerobios mesófilos viables (MAMV) con recuentos medios entre 7 y 9 Log UFC/g. También cabe destacar el elevado contenido en microorganismos esporulados aerobios (MEAER) entre 6 y 8 Log UFC/g.

Los recuentos de BAL y MAMV fueron bastante parecidos entre ellos lo que significa que las BAL fueron el grupo microbiano predominante. La predominancia de BAL en chorizos elaborados en México ha sido previamente observada por Kuri et al. (1995). Las BAL son el grupo microbiano predominante en los embutidos secos fermentados (Papadima et al., 1999; González y Díez, 2002; Ambrosiadis et al., 2004; Ruiz-Capillas y Jiménez-Colmenero, 2004b; Drosinos et al., 2005; Rubio et al., 2007; Fonseca, 2009). Los niveles de BAL encontrados en el chorizo mexicano fueron equivalentes a los descritos en esos embutidos. Por este motivo, se puede decir que en el chorizo mexicano, aún cuando en el proceso normal de elaboración no esté descrito, ha ocurrido un proceso de fermentación espontánea. Esta observación también se recoge en los trabajos de Kuri et al. (1995) y Escartin et al. (1999) sobre chorizos mexicanos.

Los tipos de chorizo que presentaron los mayores recuentos de BAL (8,6 y 9 Log UFC/g) fueron los de centrales de abasto, carnicerías y mercados rurales, y los de menores recuentos (7,44 Log UFC/g) los chorizos de centros comerciales ($P<0,001$). La diferencia se puede atribuir a que la mayor parte de los chorizos muestreados en centros comerciales fueron sometidos a un secado importante y posterior envasado al vacío para su comercialización. Son varios los autores que observaron un descenso

de BAL en chorizos envasados al vacío a lo largo del tiempo de almacenamiento (Fonseca, 2009; Ruiz Capillas y Jiménez Colmenero, 2010). Finalmente, la diferencia también se puede atribuir al mayor contenido de sal observado en los chorizos de centros comerciales que en el resto (valores aproximadamente del 4% sobre peso fresco, o 6% sobre materia seca; ver Tabla 13 a continuación). Aunque las BAL son bastante tolerantes a la sal, hasta valores en torno al 3%, un contenido excesivo de sal podría inhibir su desarrollo (Vosgen, 1995).

Los recuentos de los microorganismos aerobios psicrotrofos viables (MAPV) presentaron una diferencia con respecto a los MAMV (y por tanto también respecto a las BAL) de entre 0,5 Log UFC/g (chorizos de carnicerías, centros comerciales y centrales de abasto) y 2 Log UFC/g (chorizos de mercados rurales). Asumiendo que las BAL son los microorganismos predominantes, se puede pensar que gran parte de las BAL presentes en los chorizos de carnicerías, centros comerciales y centrales de abasto son psicrotrofas (capaces de crecer a bajas temperaturas) y por el contrario, en los chorizos de medios rurales la mayor parte no es capaz de crecer a bajas temperaturas. Esta diferencia entre unos y otro se puede atribuir al uso de frío industrial y la selección que éste produciría en las cepas de BAL de los embutidos. Así, en los chorizos del primer grupo se utiliza frío industrial para almacenar la carne (materia prima) y los chorizos, mientras que en los chorizos de mercados rurales no se emplea el frío (los animales se sacrifican normalmente en el ámbito doméstico, la carne no se refrigera y los chorizos tampoco).

Comparando la cantidad de MAPV en los distintos tipos de chorizo, en los chorizos de centrales de abasto y carnicerías se encontraron los valores más elevados, con 7,89 y 7,76 Log UFC/g respectivamente. Por el contrario los de menores recuentos fueron los chorizos de mercados rurales con un valor medio de 6,12 Log UFC/g, que presentaron diferencias significativas con los otros dos tipos de chorizos antes mencionados ($P < 0,05$). Esta diferencia refuerza la justificación anterior del posible efecto del uso de frío industrial sobre la selección de bacterias con resistencia al frío (capaces o no de crecer a temperatura de refrigeración). Los chorizos de centros comerciales presentaron valores de MAPV comparativamente intermedios. Para

justificar esta observación hay que tener en cuenta que la microbiota dominante (BAL) fue menor en estos chorizos que en el resto.

Tabla 8. Recuentos microbiológicos (Log UFC/g) obtenidos en los distintos tipos de chorizos estudiados

Tipos de chorizo	BAL	MAMV	MAPV	MEAER	MICC	ENB	MYL
Carnicerías	8,06	8,51	5,28	4,26	3,65	6,66	3,00
	8,96	8,96	8,03	7,14	4,23	6,14	3,15
	8,75	8,57	5,95	7,19	5,17	3,40	5,32
	8,91	8,85	7,97	5,33	6,13	6,11	3,97
	8,79	8,66	8,35	5,30	6,36	6,49	4,13
	9,04	7,90	8,17	4,22	5,05	5,06	3,34
	8,83	8,92	8,21	5,78	5,03	5,28	2,39
	9,01	9,05	8,54	9,17	6,79	7,34	2,87
	8,84	8,65	8,41	4,64	4,66	4,85	4,39
	9,16	9,17	8,69	5,74	6,96	4,36	4,35
Mercados rurales	9,33	9,22	8,71	4,54	4,49	4,94	6,30
	9,24	9,21	8,85	7,48	4,11	4,73	3,08
	8,87	7,76	2,81	6,76	6,52	3,90	6,78
	8,83	7,65	3,43	6,54	4,78	3,64	6,59
	9,12	8,69	7,44	8,72	4,97	8,33	7,20
	8,54	7,09	7,63	7,89	4,63	5,77	6,50
	8,87	8,65	5,53	8,17	5,93	7,00	7,50
	9,21	8,94	5,56	8,72	5,59	4,91	6,51
	8,89	8,68	5,59	8,47	5,88	6,69	8,48
	9,17	9,03	5,61	7,66	5,51	4,87	8,47
Centros comerciales	8,06	8,51	5,28	4,26	5,95	6,67	3,00
	9,63	9,55	9,46	8,73	4,35	5,83	7,79
	6,59	5,52	5,58	5,36	3,56	5,80	4,35
	8,87	8,54	7,63	8,21	3,81	5,79	5,07
	7,17	7,16	6,72	7,18	5,86	3,59	4,44
	8,95	8,97	8,88	8,76	3,84	3,61	4,54
	5,64	5,86	5,52	4,47	4,58	2,74	5,20
	6,43	5,52	5,97	5,52	3,22	2,53	4,95
	6,38	6,12	6,13	6,27	3,09	3,20	4,97
	6,65	5,97	5,82	5,86	4,42	2,92	5,28
Centrales de abasto	9,15	8,45	8,39	7,38	5,19	2,54	4,61
	9,19	9,01	8,61	5,03	4,54	4,40	3,07
	8,47	8,07	8,52	8,42	3,71	7,95	8,22
	8,74	8,46	8,60	8,43	3,61	4,78	6,74
	8,72	8,67	8,77	8,87	3,78	5,77	6,65
	8,25	8,60	8,47	8,17	4,96	4,81	6,05
	8,35	8,63	7,44	8,39	4,74	2,60	5,89
	8,29	8,54	8,63	8,31	4,80	4,52	5,72
	8,61	8,51	5,80	8,74	4,98	4,80	6,55
	8,73	8,77	5,65	8,79	4,38	5,49	6,37

BAL: Bacterias ácido lácticas; MAMV: Microorganismos aerobios mesófilos viables; MAPV: Microorganismos aerobios psicrotrofos viables; MEAER: Microorganismos esporulados aerobios; MICC: *Micrococcaceae*; ENB: *Enterobacteriaceae* y MYL: Mohos y levaduras.

Tabla 9. Valores medios y desviación estándar de los recuentos de diversos grupos microbianos (Log UFC/g) en los tipos de chorizo evaluados

Grupo microbiano	Carnicerías (n=10)	Mercados rurales (n=10)	Centros comerciales (n=10)	Centrales de abasto (n=10)	P
BAL	8,84 ± 0,30 ^a	9,01 ± 0,24 ^a	7,44 ± 1,35 ^b	8,65 ± 0,33 ^a	***
MAMV	8,73 ± 0,36 ^a	8,49 ± 0,73 ^a	7,17 ± 1,57 ^b	8,57 ± 0,24 ^a	**
MAPV	7,76 ± 1,16 ^a	6,12 ± 2,04 ^b	6,70 ± 1,47 ^{ab}	7,89 ± 1,20 ^a	*
MEAER	5,88 ± 1,55 ^c	7,50 ± 1,28 ^{ab}	6,46 ± 1,68 ^{bc}	8,05 ± 1,14 ^a	**
MICC	5,40 ± 1,11 ^a	5,24 ± 0,76 ^{ab}	4,26 ± 0,99 ^c	4,47 ± 0,58 ^{bc}	*
ENB	5,57 ± 1,19	5,48 ± 1,47	4,27 ± 1,57	4,77 ± 1,55	NS
MYL	3,69 ± 0,89 ^c	6,74 ± 1,51 ^a	4,96 ± 1,20 ^b	5,99 ± 1,37 ^{ab}	***

n: Número de muestras.

BAL: Bacterias ácido lácticas; MAMV: Microorganismos aerobios mesófilos viables; MAPV: Microorganismos aerobios psicrotrofos viables; MEAER: Microorganismos esporulados aerobios; MICC: *Micrococcaceae*; ENB: *Enterobacteriaceae* y MYL: Mohos y levaduras.P: Nivel de significancia en el análisis de varianza * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; NS: No existen diferencias significativas.^{a,b}: Medias de las filas con letras diferentes presentan diferencias significativas ($P < 0,05$; Prueba de Duncan).

La presencia de MEAER en embutidos fermentados (al inicio y/o al final de la fermentación) ha sido objeto de estudio. En los estudios de Drosinos et al. (2005) y Baruzzi et al. (2006), sobre embutidos griegos e italianos respectivamente, este grupo microbiano se ha detectado en la masa del embutido en cantidades entre 2-4 unidades logarítmicas por g y sus recuentos mostraron poca variación con una tendencia hacia el descenso durante la fermentación. Los valores encontrados en el chorizo mexicano se pueden considerar elevados al compararlos con esos estudios aunque fueron similares a los observados por Bacha et al. (2010) en un embutido etíope. De acuerdo a Carlin (2011), unos recuentos elevados de MEAER podrían ser atribuidos a una contaminación excesiva de las materias primas por uno o varios de los siguientes factores: i) malas prácticas de higiene por parte de los operarios, ii) malas prácticas de limpieza y desinfección del equipo utilizado en el procesado, iii) material de envasado contaminado y iv) uso de especias y condimentos contaminados. En relación a este último punto, se dice que las especias son la principal fuente de esporas (generalmente del género *Bacillus*) en las masas de los embutidos (Lücke, 1998). En este sentido se han descrito cantidades variables de MEAER en las especias utilizadas para la elaboración de embutidos que generalmente exceden las 2-3 unidades logarítmicas por g, situándose normalmente entre 4 a 7 unidades logarítmicas y superando en ocasiones estos valores (De Boer et al., 1985; Comi et al., 2005; Carlin, 2011). Los elevados recuentos de MEAER en el chorizo mexicano (en torno a 7 unidades logarítmicas por g) podrían atribuirse a una

elevada presencia de MEAER en las especias, aunque también cabe la posibilidad de contaminación por esporas procedentes del ambiente (suelo, superficies de equipos y útiles de trabajo, polvo del aire, etc.).

Las muestras de chorizo que presentaron los recuentos más altos de MEAER (8 Log UFC/g) fueron las obtenidas de centrales de abasto, mientras que el valor más bajo se encontró en muestras obtenidas de carnicerías con poco menos de 6 Log UFC/g ($P<0,01$), observándose valores intermedios entre los otros dos tipos de chorizos. Estas diferencias pueden estar relacionadas con las prácticas higiénicas de elaboración y con la contaminación de los ingredientes utilizados como soja texturizada, despojos y/o recortes de carne que suelen presentar una gran manipulación, todos ellos utilizados para disminuir los costes de fabricación principalmente en chorizos de centrales de abasto (chorizos más económicos).

Los recuentos de micrococaceas presentaron valores promedio entre 4,3 y 5,4 Log UFC/g de chorizo. Éstos recuentos encontrados en el chorizo mexicano están dentro o cercanos al rango (5-6 Log UFC/g) descrito por diversos autores en embutidos fermentados tras los primeros días de fermentación (Lücke, 1998; González y Díez, 2002; Martín et al., 2007; Spaziani et al., 2009). Los recuentos de *Micrococcaceae* en estos embutidos aumentan su cantidad (entre 1 y 2 unidades logarítmicas por g) durante los primeros días de fermentación y después se mantienen estables. Este grupo microbiano tiene un interés tecnológico en estos embutidos por su acción reductora de nitratos y su actividad proteolítica y lipolítica - estas actividades se relacionan con la generación de compuestos sápidos y volátiles - (Lücke, 1998).

Se observaron diferencias en los recuentos de *Micrococcaceae* entre tipos de chorizo ($P<0,05$). Fueron los chorizos de carnicerías y mercados rurales los que mostraron los mayores recuentos, seguidos por los de centrales de abasto y finalmente los de centros comerciales. Esta fue una tendencia similar a la anteriormente descrita para las BAL. Las diferencias observadas entre los chorizos de carnicerías y de mercados rurales con los de los centros comerciales pueden deberse a diferencias en la velocidad de descenso y valor final del pH, ya que los micrococos son sensibles a pHs bajos (Samelis et al., 1994; Sanz et al., 1997a; Lizaso et al., 1999), a la presencia de

compuestos antimicrobianos, a la temperatura de almacenamiento, a la cantidad de micrococáceas en las materias primas, etc. No se puede, no obstante, relacionar de forma clara y precisa las diferencias encontradas con los anteriores factores por falta de datos sobre la historia de los chorizos muestreados. Sin embargo, uno de los factores responsables de los bajos niveles de los chorizos de centros comerciales es el uso frecuente de conservantes en su formulación (hecho ya comentado).

Los recuentos de *Enterobacteriaceae* presentaron valores promedio entre 4 y 6 Log UFC/g de chorizo y no se observó diferencia estadística entre tipos de chorizos. Esos recuentos fueron inferiores a los encontrados por Kuri et al. (1995) en un trabajo previo sobre chorizos mexicanos (un promedio de 7 Log UFC/g). Esta diferencia se puede atribuir a tres factores principalmente: i) a la posibilidad de unas mejores prácticas higiénicas en la elaboración de los chorizos mexicanos del presente trabajo, ii) al bajo pH encontrado en estos chorizos (entre 5,01 y 5,36), posiblemente menor al de los otros chorizos, asociado a una fermentación láctica; iii) a un posible mayor tiempo desde el embutido al muestreo ya que se ha observado que con el almacenamiento los recuentos de enterobacterias en los embutidos frescos tienden a descender (Ruíz-Capillas y Jiménez-Colmenero, 2010). Todos estos factores son solo posibilidades, ya que no hay datos sobre las condiciones higiénicas, pH y tiempo de almacenamiento de los chorizos muestreados por Kuri et al. (1995) ni en los del presente trabajo. No obstante lo dicho, los recuentos de enterobacterias encontrados en este trabajo no se pueden considerar bajos o indicadores de buena calidad higiénica. En otros estudios sobre embutidos frescos se describen como normales los valores de 3 Log UFC/g (Tremonte, 2005).

Finalmente, los mohos y levaduras de los chorizos presentaron valores medios entre 4 y 7 Log UFC/g. Se observaron diferencias ($P < 0,001$) entre chorizos en los recuentos de mohos y levaduras, que presentaron su valor más bajo en las muestras de carnicerías, con 3,69 Log UFC/g, con respecto a las otras muestras. Ese valor fue seguido por el de los chorizos de centros comerciales y, finalmente, por los de centrales de abasto y mercados rurales que fueron los de mayor cantidad en este grupo microbiano (6,74 Log UFC/g). Los factores que pueden influenciar sobre los recuentos de estos microorganismos son varios como por ejemplo la contaminación

de la carne y otras materias primas, la aplicación de sustancias antifúngicas (por ejemplo el sorbato de potasio), el uso de vacío en el procesado o envasado, la temperatura de almacenamiento (Feiner, 2006). En este sentido, es probable que en los chorizos de carnicerías se haga uso de alguna sustancia antifúngica, aunque estas sustancias (como se señaló anteriormente) son empleadas con mayor frecuencia en chorizos de centros comerciales.

4.1.2 Composición química

4.1.2.1 Composición proximal

En la Tabla 10 se muestran los resultados obtenidos de los distintos componentes mayoritarios del chorizo. Así también en la Tabla 11 se muestran los valores medios y la desviación estándar de los resultados obtenidos en los cuatro tipos de chorizos, expresados como g por 100 g de materia fresca y materia seca. Además se ha calculado la relación existente entre el contenido de humedad y proteína.

Dentro de cada tipo de chorizo hubo una variabilidad considerable en los distintos componentes analizados (los coeficientes de variación están aproximadamente entre el 10 y el 40%). Los chorizos con mayor variabilidad fueron los de mercados rurales y el componente que presentó mayor variabilidad fue el porcentaje de proteína sobre materia seca. La menor variabilidad se presentó en el grupo de los chorizos de centrales de abasto y centros comerciales. La variabilidad observada puede atribuirse a diferencias en el grado de secado o al tipo y las cantidades de carne y grasa utilizados en la formulación.

Tabla 10. Valores de la composición proximal (g/100g) sobre materia fresca en los cuatro tipos de chorizos analizados

Tipos de chorizo	Humedad	Grasa	Proteína	Cenizas	Humedad / Proteína
Carnicerías	26,69	50,43	14,17	2,85	1,88
	41,18	37,01	15,00	2,42	2,75
	40,03	41,51	12,02	2,50	3,33
	45,45	29,27	20,11	3,45	2,26
	54,95	24,63	17,84	2,27	3,08
	44,20	33,94	15,67	2,45	2,82
	40,84	42,02	12,11	2,78	3,37
	57,91	18,20	20,30	2,43	2,85
	31,06	42,75	19,18	2,75	1,62
	46,63	28,43	16,20	4,17	2,88
Mercados rurales	39,23	37,46	18,81	3,29	2,09
	45,13	25,46	21,65	4,18	2,08
	50,05	30,20	18,18	2,11	2,75
	68,86	8,52	21,67	1,82	3,18
	48,09	23,84	21,33	3,06	2,25
	14,31	62,21	17,74	3,34	0,81
	42,07	30,31	21,74	2,80	1,94
	44,59	26,05	24,59	1,90	1,81
	38,60	29,65	23,99	4,64	1,61
	35,90	45,21	11,98	2,27	3,00
Centros comerciales	38,65	28,76	19,60	3,82	1,97
	34,20	42,06	15,03	3,77	2,28
	29,71	36,08	18,90	5,34	1,57
	36,28	25,90	23,04	5,87	1,57
	36,52	34,13	21,46	4,21	1,70
	34,01	39,62	20,60	3,83	1,65
	38,49	24,43	20,50	6,26	1,88
	48,82	24,37	15,48	4,25	3,15
	18,87	47,72	23,89	5,68	0,79
	49,14	30,03	16,69	3,37	2,94
Centrales de abasto	48,14	25,31	15,52	4,24	3,10
	39,74	40,89	12,33	3,09	3,22
	35,12	45,81	13,00	2,72	2,70
	40,40	35,90	14,93	3,77	2,71
	40,13	35,28	14,96	3,61	2,68
	38,15	42,96	10,49	2,33	3,64
	31,74	49,61	11,42	3,37	2,78
	31,98	50,13	10,58	3,51	3,02
	31,60	48,17	12,37	2,75	2,55
	50,24	27,76	15,77	2,70	3,19

Respecto a la humedad y el grado de secado, la mayoría de los chorizos de carnicerías y mercados rurales se pueden incluir en la categoría de embutidos semisecos por tener un porcentaje de humedad entre el 40 y 50% y una relación

humedad proteína entre 2,3 y 3,7 (Adams, 1986). Los chorizos de centrales de abasto también se pueden considerar semisecos ya que, a pesar de tener una humedad ligeramente inferior al 40%, presentaron una relación humedad/proteína elevada (similar a 3), lo que se justifica por su alto contenido en grasa. De acuerdo a ese autor, las pérdidas de peso para este tipo de embutidos se estiman entre el 10 y 20%. Sin embargo, la mayor parte de los chorizos de centros comerciales presentaron una humedad inferior al 40% y una relación humedad proteína menor a 2,3 por lo que se podrían considerar como embutidos secos. Se estima que en estos productos las pérdidas de humedad durante el secado son superiores al 20% (Adams, 1986). Las diferencias en el grado de secado entre tipos de chorizo se reflejan en la diferencias significativas encontradas para la relación humedad/proteína ($P<0,01$; valores inferiores en chorizos de centros comerciales y superiores en los de centrales de abasto).

Tabla 11. Valores medios y desviación estándar de la composición proximal (%) de los chorizos analizados

Composición Proximal	Carnicerías n=10	Mercados rurales n=10	Centros comerciales n=10	Centrales de abasto n=10	P
Humedad	42,89 ± 9,49	42,68 ± 13,57	36,47 ± 8,75	38,72 ± 6,54	NS
<i>g/100g MF</i>					
Grasa	34,86 ± 9,70	31,89 ± 14,24	33,31 ± 8,01	40,18 ± 8,88	NS
Proteína	16,26 ± 3,05 ^b	20,17 ± 3,67 ^a	19,52 ± 3,02 ^a	13,14 ± 2,02 ^c	***
Cenizas	2,81 ± 0,59 ^b	2,94 ± 0,96 ^b	4,64 ± 1,04 ^a	3,21 ± 0,59 ^b	***
<i>g/100g MS</i>					
Grasa	60,07 ± 8,55 ^{ab}	53,25 ± 13,46 ^b	52,18 ± 8,38 ^b	64,85 ± 8,37 ^a	*
Proteína	29,63 ± 9,44 ^{ab}	37,79 ± 14,05 ^a	30,87 ± 3,81 ^a	21,95 ± 5,69 ^b	**
Cenizas	5,02 ± 1,27 ^b	5,22 ± 1,53 ^b	7,33 ± 1,49 ^a	5,32 ± 1,30 ^b	**
<i>Cocientes</i>					
Hum/Prot	2,68 ± 0,59 ^{ab}	2,15 ± 0,70 ^{bc}	1,95 ± 0,69 ^c	2,96 ± 0,33 ^a	**

n: Número de muestras.

MF: Materia fresca; MS: Materia seca; Hum/Prot: Relación entre humedad y proteína.

P: Nivel de significancia en el análisis de varianza * $P<0,05$; ** $P<0,01$; *** $P<0,001$; NS: No existen diferencias significativas.

^{a,b}: Medias de las filas con letras diferentes presentan diferencias significativas ($P<0,05$; Prueba de Duncan).

Según Prieto y Carballo (1997), otro parámetro utilizado para evaluar el grado de secado de un embutido es el cociente entre peso de la humedad sobre el peso de embutido desengrasado (H/ED). El H/ED de la carne fresca se estima en 0,77 y el encontrado en los chorizos fue de 0,66 (carnicerías), 0,63 (mercados rurales), 0,55

(centros comerciales), 0,65 (centrales de abasto). Según estos datos, el chorizo de centros comerciales es el que mayor grado de secado experimenta.

Debido a que el chorizo en México se comercializa con diversos grados de secado (como se comentó anteriormente, en centros comerciales la mayor parte de los chorizos que se comercializan son secos y en centrales abasto, mercados del medio rural y carnicerías la mayoría son semisecos) sin establecerse diferencias comerciales entre ellos, se propone establecer claramente en el mercado las categorías comerciales de chorizo seco para los primeros y fresco para los segundos. Cabe mencionar, en este sentido, que la problemática de esta situación pasa por considerar que el chorizo fresco necesita cadena de frío y sin embargo, en la realidad, como se pudo apreciar en los puntos de venta en la zona de muestreo, gran parte del tiempo (o todo) de almacenamiento y exposición para venta del chorizo transcurre sin refrigeración. Además, el secado del chorizo se realiza en muchos casos (principalmente en carnicerías, medio rural) sin control riguroso de temperatura, por lo cual existe peligro microbiológico (*S. aureus*) asociado a su consumo. Si la temperatura sube de 15°C durante un tiempo suficientemente prolongado antes de alcanzarse las condiciones de pH y a_w limitantes del crecimiento de *S. aureus* (pH <5,3 o a_w inferior a 0,85-0,90) este puede crecer y producir toxina (Feiner, 2006). En este sentido, la temperatura promedio en el interior de una carnicería en el centro del Estado de Hidalgo es de 20°C.

El porcentaje de grasa sobre materia fresca no presentó diferencias significativas entre tipos de chorizos aunque los chorizos de centrales de abasto fueron los de mayor contenido graso. Este tipo de chorizos presentó el mayor porcentaje en grasa sobre materia seca, diferenciándose significativamente ($P<0,05$) de los chorizos de mercados rurales y centros comerciales, con el menor contenido en grasa. La proporción de grasa utilizada como materia prima en la elaboración del chorizo puede estimarse a partir de la cantidad de grasa química del chorizo (expresada en tantos por uno), multiplicando por su H/ED y dividiendo por 0,77 (el H/ED promedio de la carne fresca de cerdo). Realizando este cálculo se estima que el porcentaje de los tejidos grasos utilizados en la formulación de los chorizos fueron: 30% (carnicerías), 26% (mercados rurales), 24% (centros comerciales) y 34% (centrales

de abasto). Estas cantidades estimadas de grasa en la formulación no se consideran extremas, sino que están dentro de los rangos normales (Papadima et al., 1999; Gimeno et al., 2000; Summo et al., 2006). En la calidad de los chorizos, la grasa es importante debido a que está involucrada directamente con los componentes del sabor, sensación de jugosidad y la oxidación de los ácidos grasos, no siendo adecuado ni un excesivamente alto ni bajo contenido en grasa.

Por su parte, los porcentajes de proteína de los distintos tipos de chorizos presentaron una relación inversa con los de la grasa. Los chorizos con mayor valor de proteína sobre materia seca fueron los de mercados rurales y los de menor valor fueron los de centrales de abasto. Tanto los porcentajes de proteína como los de grasa dan una idea clara de que los productores rurales hacen el chorizo con mayor relación carne/grasa y los elaboradores que comercializan en centrales de abasto lo hacen con la menor relación carne/grasa. De hecho, en conversaciones y entrevistas con estos últimos declaran que utilizan principalmente recortes de carne y grasa como materia prima.

El contenido de proteína en la calidad de los chorizos es importante, debido a que una mayor cantidad de ésta permite unas mejores propiedades funcionales de ligado de la grasa, sin dejar de mencionar la importancia que tiene sobre el aspecto nutritivo.

El contenido en cenizas en los chorizos analizados varió entre el 4,6% sobre materia fresca y 7,3% sobre materia seca de los chorizos de centros comerciales y el aproximadamente 3% sobre materia fresca y 5% sobre materia seca de los otros tipos, observándose diferencias significativas. Estas diferencias se pueden atribuir a la mayor adición de sales, principalmente NaCl en los chorizos de centros comerciales.

Finalmente, cabe mencionar que los hidratos de carbono y lactato se podrían estimar por diferencia, restando a 100 los porcentajes del resto de los componentes mayoritarios. Realizando este cálculo se obtiene como observación más destacable que en los chorizos de carnicerías y mercados rurales el resultado es de 2-3% y en los de centros comerciales y centrales de abasto de 5-6%. Por este motivo cabe la sospecha fundamentada en los comentarios procedentes de personas vinculadas al

sector, de la práctica de agregar hidrocoloides (gomas, almidones, dextrinas) en estos últimos tipos de chorizos.

Los resultados obtenidos en los chorizos mexicanos considerados como semisecos (o frescos) están en general dentro de los rangos encontrados en otros estudios o normativas de chorizos, salchichas o longanizas latinoamericanos, como es el caso de algunos chorizos y salchichas peruanos (Reyes et al., 2009; Ramos et al., 2011) o mexicanos (Austria et al., 2006). Sin embargo, hay que señalar una vez más el comparativamente bajo porcentaje de humedad encontrado en un número considerable de los chorizos analizados, considerados como secos (aquellos elaborados en centros comerciales).

4.1.2.2 Contenido de NaCl, ácidos láctico, acético y cítrico, valores de a_w y pH

En la Tabla 12 se muestran los contenidos de sal, así como la relación existente entre sal y humedad, los ácidos láctico, acético y cítrico. Igualmente se muestran los valores de a_w , y pH. En la Tabla 13 se encuentran los valores medios y la desviación estándar de los análisis de las propiedades anteriormente mencionadas.

En cuanto al contenido de sal se observaron diferencias significativas. El mayor contenido (Tabla 13; $P < 0,001$) lo tuvieron los chorizos de centros comerciales con un 3,88% sobre MF y 6,10 sobre MS. No existieron diferencias entre los demás tipos de chorizos, los cuales tuvieron alrededor de un 2,1-2,6% (MF) y 3,7-4,4% (MS). Este comportamiento concuerda con el encontrado para el contenido en cenizas. Es por tanto un hecho que los elaboradores de chorizos catalogados como “de centros comerciales” utilizan más sal en la formulación que el resto de elaboradores. La sal, es un ingrediente que favorece la solubilización de las proteínas miofibrilares y mejora la estabilidad microbiológica (Feiner, 2006). Por otra parte, los consumidores, por cuestiones nutricionales demandan productos que no tengan elevados niveles de sal (Ruusunen y Puolanne, 2005; Desmond, 2006).

La justificación para determinar el contenido en ácidos láctico y acético en el chorizo se basa en que estos son los metabolitos más característicos de la fermentación láctica de los embutidos (Montel et al., 1993; Mateo et al., 1996). De esta forma, a partir de sus contenidos, se puede inferir en cierta medida la extensión de la fermentación

láctica en los chorizos analizados. No obstante, en relación al ácido acético, su presencia en el chorizo puede deberse también a la inclusión de vinagre en la formulación (información obtenida de algunos de los elaboradores entrevistados). En este sentido, con objeto de saber en qué medida se usa limón en la formulación, también se determinó el contenido de ácido cítrico. En este contexto, el contenido de ácido láctico en los chorizos no presentó diferencias significativas entre los distintos tipos aunque el valor promedio fue más elevado en los chorizos de los mercados rurales.

En los chorizos fermentados europeos se han descrito unos valores medios en el rango de 1600-2500 mg de lactato por 100 g de materia seca (Mateo et al., 1996; Demeyer et al., 2000). Solo los chorizos de mercados rurales se sitúan dentro del rango por lo que cabe pensar que en la mayor parte de estos hubo una fermentación considerable (comparable a la de los embutidos fermentados europeos), mientras que en los otros tipos de chorizo la fermentación fue en general de menor intensidad ya que el contenido en lactato fue menor.

La cantidad de ácido acético en los embutidos fermentados, que es producido como metabolito secundario de la fermentación heterofermentativa de los azúcares, suele estar comprendida entre el 5 y el 10% de la cantidad de ácido láctico (Mateo et al., 1996; Demeyer et al., 2000). Los chorizos de carnicerías y los de centrales de abasto cumplen con esta premisa y son los de menor contenido en ácido acético. Por el contrario, en los chorizos de mercados rurales y centros comerciales, el contenido de ácido acético fue del 20-30% respecto al contenido de ácido láctico. Esta cifra induce a decir que en estos tipos de chorizo es frecuente la adición de vinagre como fuente de ácido acético en la formulación.

El contenido en ácido cítrico fue muy variable dentro de cada tipo de chorizo. Los valores más elevados se observaron en los chorizos de los centros comerciales y de centrales de abasto. Tanto la gran variabilidad como la diferencia en la cantidad de ácido cítrico entre tipos de chorizo podrían atribuirse a la posible adición de jugo de limón en la masa de algunos de los chorizos muestreados, principalmente de los tipos con mayores niveles.

Tabla 12. Valores del porcentaje de sal, relación entre sal y humedad, ácidos orgánicos, actividad de agua y pH sobre materia fresca de los chorizos analizados

Tipos de chorizo	Sal %	S / H	Ácidos (mg/100g)			a _w	pH
			Láctico	Acético	Cítrico		
Carnicerías	2,75	0,103	1309,60	91,43	18,45	0.913	4,76
	2,14	0,052	613,71	45,07	19,65	0.954	5,18
	1,90	0,047	625,43	13,76	-	0.963	4,76
	2,43	0,054	969,89	38,35	30,27	0.963	5,10
	1,43	0,026	530,90	23,62	4,32	0.984	5,35
	1,76	0,040	763,16	75,09	8,15	0.955	4,98
	2,42	0,059	487,46	49,95	2,59	0.960	4,99
	1,53	0,026	611,72	-	-	0.979	5,50
	1,96	0,063	1175,06	-	-	0.943	4,72
	3,15	0,067	882,05	22,32	-	0.957	5,24
	2,42	0,062	1207,03	104,57	4,23	0.941	5,12
Mercados rurales	3,34	0,074	1011,71	40,27	7,91	0.954	4,94
	1,45	0,029	655,10	112,94	5,45	0.978	5,02
	0,59	0,018	603,53	96,84	7,01	0.989	5,59
	2,21	0,046	850,69	148,79	6,26	0.974	5,08
	3,51	0,245	1428,70	-	88,67	0.730	4,74
	2,68	0,064	840,25	557,17	20,24	0.953	5,06
	1,70	0,038	801,86	341,82	7,80	0.976	5,06
	2,26	0,058	933,34	908,84	4,56	0.935	4,81
	1,86	0,052	1054,75	240,10	-	0.951	4,71
	3,10	0,080	811,27	24,79	11,95	0.954	5,51
Centros comerciales	2,94	0,086	982,37	62,92	27,53	0.917	5,06
	4,85	0,163	324,15	18,64	73,50	0.874	5,53
	4,26	0,117	1497,30	532,06	55,28	0.882	4,86
	3,01	0,082	926,01	38,24	80,75	0.940	4,87
	3,22	0,095	1412,06	57,33	-	0.904	5,03
	6,25	0,162	180,46	21,55	245,46	0.902	6,35
	3,08	0,063	222,38	475,94	41,88	0.962	5,30
	5,30	0,281	1557,59	137,22	11,05	0.697	4,99
	2,80	0,057	420,70	-	5,73	0.965	6,06
	3,42	0,071	1252,83	-	39,71	0.951	4,67
Centrales de abasto	2,61	0,066	1081,50	45,95	10,18	0.931	4,60
	1,95	0,055	827,55	33,46	98,18	0.955	5,24
	3,65	0,090	939,24	-	75,69	0.949	5,16
	3,10	0,077	652,54	71,54	61,45	0.944	5,15
	1,76	0,046	533,49	131,57	15,69	0.973	5,02
	2,66	0,084	319,81	-	33,81	0.929	5,49
	3,40	0,106	298,68	7,80	43,07	0.933	6,12
	2,24	0,071	997,98	22,72	33,58	0.940	4,55
	1,80	0,036	784,27	36,41	3,86	0.971	5,03

S/H: Relación entre sal y humedad; a_w: Actividad de agua.

-: No detectado, inferior al límite de detección 0,1.

Tabla 13. Valores medios y desviación estándar del contenido de sal, ácidos orgánicos, actividad de agua, relación entre sal y humedad, pH y ácidos orgánicos sobre materia fresca y materia seca en los cuatros tipos de chorizos analizados

Parámetros	Carnicerías n=10	Mercados rurales n=10	Centros comerciales n=10	Centrales de abasto n=10	P
<i>MF</i>					
Sal	2,15 ± 0,52 ^b	2,20 ± 0,83 ^b	3,88 ± 1,21 ^a	2,66 ± 0,71 ^b	***
Ácido láctico	796,9 ± 280,5	938,7 ± 249,4	833,4 ± 533,4	768,8 ± 317,8	NS
Ácido acético	36,0 ± 30,4 ^b	255,1 ± 282,2 ^a	136,9 ± 197,6 ^{ab}	35,0 ± 41,3 ^b	*
Ácido cítrico	8,3 ± 10,7 ^b	15,2 ± 26,3 ^b	55,3 ± 72,6 ^a	41,5 ± 29,8 ^{ab}	*
<i>MS</i>					
Sal	3,78 ± 0,89 ^b	3,75 ± 1,16 ^b	6,10 ± 1,67 ^a	4,39 ± 1,30 ^b	***
Ácido láctico	1383,1 ± 347,2	1644,9 ± 222,7	1270,0 ± 740,5	1295,7 ± 608,8	NS
Ácido acético	60,8 ± 46,8 ^b	450,3 ± 456,4 ^a	227,9 ± 348,8 ^{ab}	57,8 ± 67,7 ^b	*
Ácido cítrico	14,3 ± 18,6 ^b	22,7 ± 29,9 ^b	88,6 ± 117,7 ^a	67,0 ± 47,7 ^{ab}	*
<i>Sal/H, a_w, y pH</i>					
Sal/H	0,054 ± 0,022 ^b	0,068 ± 0,065 ^b	0,119 ± 0,068 ^a	0,070 ± 0,020 ^b	*
a _w	0,957 ± 0,02 ^a	0,938 ± 0,08 ^{ab}	0,899 ± 0,08 ^b	0,948 ± 0,02 ^{ab}	*
pH	5,06 ± 0,27	5,01 ± 0,25	5,36 ± 0,51	5,10 ± 0,47	NS

MF: Materia fresca; MS: Materia seca; Sal/H: Relación entre sal y humedad; a_w: Actividad de agua.

Nivel de significancia: *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001; NS: No existen diferencias significativas.

a,b: Medias de las filas con letras diferentes presentan diferencias significativas (P<0,05; Prueba de Duncan).

En relación a la a_w, se observaron diferencias significativas entre los tipos de chorizo analizados (Tabla 13; P<0,05). Los chorizos que mayor a_w tuvieron fueron los de carnicerías (0,96) y los de a_w menor los de centros comerciales (0,90). Los chorizos de mercados rurales y centrales de abasto tuvieron valores semejantes a los de chorizos de carnicerías. El valor bajo de los chorizos de centros comerciales se puede atribuir al relativamente alto contenido en sal y bajo en humedad. El valor de 0,90 es el límite superior de a_w de los productos de humedad intermedia (Leistner y Rödel, 1976). Como era de esperar la a_w estuvo altamente correlacionada con el cociente Sal/H (r=0,96; P<0,001; a_w= 1,0158 - 1,03 x S/H), que presentó un patrón de diferencias entre tipos de chorizo similar a la a_w.

El pH en los embutidos es importante debido a que valores superiores a 6,0 pueden ocasionar el desarrollo de bacterias alterantes del producto durante su secado o conservación y pHs bajos (menores a 4,5) pueden ser responsables de sabores ácidos y desagradables al consumidor (Reuter, 1981; Frey, 1995). Los valores de pH de los distintos tipos de chorizos estuvieron comprendidos entre 5,0 y 5,4 sin detectarse diferencias significativas entre tipos. Estos valores permiten clasificar a la mayoría de los chorizos analizados como embutidos de alta acidificación (pH<5,3; Incze, 1992).

Los bajos valores de pH se pueden atribuir al menos parcialmente al aporte de azúcares fermentables por parte del chile utilizado en la formulación y a su fermentación. De forma paralela, en el caso de los chorizos españoles el pimentón aporta cantidades apreciables de azúcares, entre 2 y 3 g por kilo (Aguirrezábal et al., 1998), cantidades que de acuerdo a Vösgen (1995), podrían producir descensos en el pH de 0,2 a 0,3. No obstante, con los valores de pH de los chorizos muestreados cabría esperar en un principio una mayor cantidad de ácido láctico en los chorizos. El efecto sobre el pH de la adición eventual de vinagre o limón y del alto contenido en grasa (que se traduce en una menor capacidad tampón de la masa cárnica) del chorizo podría contribuir a explicar esta aparente contradicción. De hecho se observó mediante correlación lineal entre pH y cantidad de ácido láctico un valor r de -0,68 ($P < 0,001$), valor que permite considerar la importancia de las mencionadas variables, además de la cantidad de ácido láctico, en el valor del pH del chorizo.

La masa cárnica recién embutida siempre que no se usen acidulantes tiene un pH alrededor de 6,0 y una a_w elevada en torno a 0,96, lo que se traduce en unas condiciones bastante idóneas para el crecimiento microbiano (Flores y Bermell, 1995). La reducción de la a_w por desecación y el descenso del pH por fermentación son responsables de que los chorizos adquieran su capacidad de conservación a temperatura ambiente, toda vez que las bacterias responsables de la descomposición son incapaces de multiplicarse con bajos valores de pH y a_w (Frey, 1995 y CFIA, 2007). De acuerdo con Leistner (1978) y Feiner (2006), los embutidos cuando alcanzan una a_w igual o inferior a 0,90 o un pH de 5,0 o menor son estables a temperatura ambiente. También aquellos embutidos con a_w superiores aunque dentro del rango entre 0,90 y 0,95, son estables siempre que el pH sea menor a 5,3. La mayor parte (tres cuartas partes aproximadamente) de los chorizos analizados se pueden considerar como microbiológicamente estables a temperatura ambiente. Esto es debido a que cerca de la mitad de los chorizos muestreados presentaron valores de pH iguales o inferiores a 5,0 y otro número importante de muestras tuvieron valores de pH menor a 5,3 y una a_w entre 0,90 y 0,95. El resto no serán estables y deberían conservarse en refrigeración. No obstante, no se puede decir si durante el proceso de oreo y almacenamiento para la venta pueda haber existido riesgo o no de crecimiento de

microorganismos patógenos, pues no se conoce el pH inicial ni la evolución de éste, ni de la a_w , ni las temperaturas a la que los chorizos hayan sido mantenidos. El consumo de chorizo al no ser controlado su proceso de fermentación ni respetada la cadena de frío puede representar un riesgo para la salud (aunque el consumo sea después de cocinar el chorizo) debido principalmente a la presencia potencial de toxina estafilocócica que es termorresistente.

4.1.2.3 Colágeno y nitrógeno aminoacídico

En la Tabla 14 se muestran los valores obtenidos del contenido de colágeno y nitrógeno α -aminoacídico (calculados como g de leucina) en los chorizos analizados, expresados tanto sobre materia fresca (MF) como sobre proteína total (PT). En la Tabla 15 se muestran los valores medios y desviaciones estándar para cada tipo de chorizo de las características antes mencionadas.

El contenido en colágeno sobre proteína total es un indicador de la cantidad de tendones o incluso cortezas que hayan sido incorporadas a la masa cárnica del chorizo. Los chorizos de centrales de abasto presentaron el mayor contenido en colágeno sobre proteína total, aunque las diferencias con los otros tipos de chorizo no fueron significativas (hubo una gran dispersión en los valores obtenidos en los chorizos de este tipo).

La presencia de alto contenido de colágeno en el chorizo repercute negativamente en la dureza del mismo (“trozos duros” al masticar) y valor nutritivo (proteína con menor valor biológico). El contenido medio en colágeno de los chorizos de centrales de abasto se sitúa en un valor intermedio entre los contenidos de colágeno máximos requeridos para los chorizos de calidad extra (menos de 4,8% sobre materia seca o 16% sobre proteína) y los chorizos de primera (menos de 5,6% sobre materia seca o 21% de colágeno sobre proteína) – legislación española (Presidencia del Gobierno, 1980). El contenido medio en colágeno de los otros tipos de chorizo estuvo por debajo del límite máximo establecido para los chorizos extra. Por lo tanto, en todos los tipos de chorizo, la cantidad de colágeno fue moderada y no cabe la sospecha del uso frecuente y/o abundante de ingredientes cárnicos, precocidos o no, ricos en colágeno como corteza de cerdo, tendones, piel de vacuno, etc., en la formulación del chorizo.

Sin embargo, una de las muestras de chorizos de centro comercial y una de las de centrales de abastos presentaron un contenido en colágeno superior al 39% sobre proteína total, lo que permite sospechar la adición de materias primas ricas en colágeno en esos dos chorizos.

El valor del nitrógeno α -amínico se puede entender como indicador del contenido en aminoácidos libres. En algunos estudios, su presencia se ha asociado positivamente a la intensidad de los procesos proteolíticos que tienen lugar en la primera fase del secado de los embutidos crudos curados (DeMasi, 1990; García de Fernando y Fox, 1991; Mateo y Zumalacárregui, 1996a). No obstante, el contenido de aminoácidos libres en los chorizos no solo depende de la proteólisis, sino también de la cantidad de aminoácidos libres en la masa inicial del embutido y del balance entre la formación de aminoácidos por proteólisis y su consumo o degradación a lo largo del secado y maduración. De esta forma, en otros estudios, no se ha detectado un claro incremento del contenido en nitrógeno α -amínico a lo largo de la maduración de los embutidos (Sanz et al., 1997a), lo que se atribuye a un balance neto equilibrado entre formación y degradación de aminoácidos. Por este motivo, el contenido en nitrógeno α -amínico de los embutidos no parece ser un buen indicador de la extensión de la proteólisis.

Se observaron diferencias significativas entre tipos de chorizo para el contenido en nitrógeno α -aminoacídico expresado sobre materia fresca, siendo los chorizos de centros comerciales los que presentaron mayores valores y los de centrales de abasto y carnicerías los de menor valor. No obstante, debido a las diferencias en el contenido proteico, descritas anteriormente, el contenido en nitrógeno α -aminoacídico sobre proteína total no fue significativamente diferente entre tipos de chorizo. De acuerdo con este estudio, los valores encontrados en el chorizo mexicano (1,5-1,7 g de leucina/100 g de proteína) estuvieron dentro del rango (1,3 y 3,0 g de leucina/100 g de proteína) descrito para chorizos con tiempos de maduración entre 1 y 7 días (Mateo et al., 1996).

Tabla 14. Valores de colágeno y nitrógeno α -amínico (expresado como leucina) en los cuatro tipos de chorizos evaluados

Tipos de chorizo	Colágeno		Nitrógeno α -amínico	
	g/100 g MF	g/100 g PT	g leu/100 g MF	g leu/100 g PT
Carnicerías	1,43	10,07	0,19	1,35
	3,61	24,06	0,32	2,11
	1,56	12,94	0,22	1,80
	2,54	12,65	0,22	1,07
	1,59	8,91	0,29	1,60
	2,44	15,56	0,26	1,66
	2,14	17,64	0,18	1,46
	0,71	3,51	0,30	1,46
	4,52	23,56	0,31	1,60
	1,82	11,21	0,19	1,15
Mercados rurales	1,87	9,92	0,33	1,76
	1,19	5,49	0,30	1,38
	2,80	15,42	0,24	1,33
	1,12	5,18	0,40	1,83
	1,15	5,39	0,26	1,23
	3,26	18,36	0,44	2,46
	3,23	14,84	0,29	1,33
	2,55	10,37	0,25	1,01
	3,60	15,00	0,37	1,56
	1,76	14,67	0,17	1,42
Centros comerciales	1,91	9,77	0,22	1,14
	5,89	39,21	0,24	1,61
	1,80	9,57	0,26	1,35
	2,33	10,15	0,40	1,73
	2,71	12,64	0,40	1,84
	2,91	14,16	0,46	2,23
	2,81	13,71	0,36	1,77
	1,36	8,82	0,28	1,80
	2,54	10,64	0,61	2,56
	1,75	10,51	0,20	1,19
Centrales de abasto	1,65	10,66	0,22	1,44
	1,92	15,63	0,23	1,90
	1,75	13,49	0,17	1,28
	2,61	17,51	0,35	2,34
	2,42	16,19	0,30	2,01
	1,30	12,47	0,12	1,16
	1,72	15,09	0,14	1,24
	6,31	59,69	0,25	2,34
	2,51	20,34	0,25	2,05
	2,67	16,95	0,23	1,45

MF: Materia fresca; PT: Proteína total

Tabla 15. Valores medios y desviación estándar del porcentaje de colágeno y nitrógeno α -amínico (expresado como leucina) en los chorizos analizados

Parámetros	Carnicerías n=10	Mercados rurales n=10	Centros comerciales n=10	Centrales de abasto n=10	P
<i>Colágeno</i>					
g/100 g MF	2,23 $\pm$ 1,12	2,25 $\pm$ 0,95	2,60 $\pm$ 1,26	2,49 $\pm$ 1,42	NS
g/100 g PT	14,01 $\pm$ 6,41	11,46 $\pm$ 4,87	13,92 $\pm$ 9,07	19,80 $\pm$ 14,28	NS
<i>N aminoacídico</i>					
g leu/100 g MF	0,25 $\pm$ 0,05 ^b	0,31 $\pm$ 0,08 ^{ab}	0,34 $\pm$ 0,13 ^a	0,23 $\pm$ 0,07 ^b	*
g leu/100 g PT	1,53 $\pm$ 0,30	1,53 $\pm$ 0,41	1,72 $\pm$ 0,44	1,72 $\pm$ 0,46	NS

n: Número de muestras.

MF: Materia fresca; PT: Proteína total.

P: Nivel de significancia: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; NS: No existen diferencias significativas.^{a,b}: Medias de las filas con letras diferentes presentan diferencias significativas ($P < 0,05$; Prueba de Duncan).

4.1.2.4 Elementos minerales

A continuación en la Tabla 16 se muestran los resultados de los contenidos de diversos elementos minerales analizados en los distintos tipos de chorizo y en la Tabla 17 los valores medios y la desviación estándar para estos elementos minerales sobre materia fresca, materia seca y materia seca desengrasada.

Desde un punto de vista nutricional, el contenido en elementos minerales expresado sobre materia fresca proporciona una visión clara del aporte a la dieta que puede representar el consumo de chorizo. Por otra parte, los resultados expresados sobre materia seca y materia seca desengrasada pueden indicar diferencias entre tipos de chorizo debidas a la cantidad y tipo de ingredientes cárnicos y no cárnicos utilizados en la formulación. Se ha incluido también el dato del contenido en fósforo expresado como g de P_2O_5 por 100 g de chorizo ya que este valor se usa en la normativa relativa a cantidades máximas de P en productos cárnicos. La Tabla 17 muestra que hubo diferencias entre tipos de chorizos en los contenidos de elementos minerales sea cual fuere la forma de expresión de los resultados.

En relación al contenido en elementos minerales mayoritarios (Na, K y P) expresados tanto sobre materia fresca como seca o seca desengrasada, los chorizos comercializados en centros comerciales y centrales de abasto fueron los que mayores niveles de Na y P presentaron. Este hecho se puede justificar al menos parcialmente por el uso de una mayor cantidad de sal (NaCl) y la posible adición de fosfatos, que además de P normalmente contienen Na en su formulación (hecho constatado en el

laboratorio y mostrado en las fichas técnicas comerciales de los fosfatos utilizados en la industria cárnica).

El P es un elemento presente en las proteínas musculares en una proporción bastante constante y por lo tanto su cantidad podría estar relacionada directamente con la cantidad de carne magra utilizada en la formulación del chorizo. Sin embargo, por otra parte, la eventual adición de fosfatos como aditivo o el uso de proteínas no cárnica, con diferentes niveles de P a la proteína cárnica, podría interferir sobre la relación P *vs* carne magra.

Si se compara la cantidad de P (g) por 100 g proteína cárnica en carne fresca de cerdo, que está en torno a 0,9 (USDA, 2010), con la cantidad de P por 100 g de proteína cárnica en los chorizos mexicanos, que fue de (datos no mostrados en tablas) 1,1 (carnicerías), 0,9 (mercados rurales), 1,6 (centros comerciales) y 1,7 (centrales de abasto), se puede decir que en los chorizos de centros comerciales y centrales de abasto hay valores de P superiores a los aportados por la carne. Esto puede atribuirse, como se dijo anteriormente, al uso de fosfatos en la formulación y/o al uso de soja texturizada, con un contenido en P de 1,5 g por 100 g de proteína (USDA, 2010), que es mayor al de la proteína cárnica. La adición de fosfatos se justifica por producir un aumento en la capacidad de retención de agua, por su efecto antioxidante y mejora de la aptitud de la masa en el embutido: mayor plasticidad, menor resistencia al flujo y mejor ligado (Feiner, 2006). La soja texturizada es un ingrediente que se puede incorporar en la elaboración de chorizo en cantidades de hasta un 2,5% con el fin de aumentar el rendimiento sin que se produzcan cambios en las características de sabor, aroma, jugosidad, oxidación y estabilidad microbiológica (Porcella et al., 2001).

La legislación en la Unión Europea respecto a la adición de fosfatos en productos cárnicos indica que no se debe agregar una cantidad superior a 0,5 g (expresados como P_2O_5) por 100 g de masa cárnica. Analizando la posibilidad de que en los chorizos de centros comerciales y centrales de abasto, con los mayores niveles de fosfatos, se haya sobrepasado la cantidad permitida en dicha legislación, se observa que no se supera el límite establecido (0,5% de adición).

Tabla 16. Contenido en elementos minerales expresados como mg/100g y cantidad de fósforo expresada como % de P₂O₅ de las cuatro variedades de chorizos evaluados

Tipos de chorizos	Na	K	P	Ca	Mg	Zn	Fe	Cu	% P ₂ O ₅
Carnicerías	1083,13	507,30	215,56	98,74	55,95	3,27	2,80	0,30	0,49
	843,86	345,37	133,17	19,06	19,65	2,88	2,68	-	0,31
	746,83	229,59	98,80	16,29	18,88	2,26	1,71	-	0,23
	957,32	413,11	177,56	35,07	28,50	4,35	2,84	-	0,41
	562,44	264,59	162,52	20,05	18,00	2,97	1,56	-	0,37
	693,75	330,60	155,17	32,24	21,83	2,56	2,32	-	0,36
	951,77	228,51	115,30	34,32	26,61	2,74	2,73	-	0,26
	603,09	653,00	216,74	67,78	35,78	4,88	2,82	-	0,50
	770,30	393,57	169,14	45,59	26,04	3,20	3,37	-	0,39
	1238,04	393,73	402,56	36,04	28,67	2,76	2,64	-	0,92
Mercados rurales	952,43	519,63	207,45	52,17	45,46	4,07	3,42	0,11	0,48
	1316,42	334,35	180,73	22,11	29,52	4,24	2,08	-	0,41
	569,30	245,52	125,39	16,59	16,81	3,25	3,01	-	0,29
	230,42	426,65	196,51	13,65	28,66	2,46	2,42	-	0,45
	870,47	432,39	211,04	18,72	30,60	4,67	6,65	-	0,48
	1382,87	591,07	222,05	67,48	57,86	3,23	3,39	0,24	0,51
	1054,36	449,45	194,51	31,84	33,78	4,15	3,73	-	0,45
	670,61	481,51	253,08	24,79	56,80	2,20	4,87	-	0,58
	888,78	329,90	168,36	25,31	25,96	3,53	3,76	-	0,39
	733,44	333,78	147,93	58,14	41,57	2,66	2,20	-	0,34
Centros comerciales	1221,75	458,50	273,32	20,13	29,68	4,05	1,99	0,13	0,63
	1156,06	436,31	267,12	45,42	41,21	3,32	2,40	-	0,61
	1908,87	645,49	416,99	104,65	47,11	3,12	2,40	-	0,96
	1677,43	640,84	343,36	73,77	50,38	2,32	2,70	0,11	0,79
	1185,85	507,30	212,67	69,95	60,20	2,65	2,76	-	0,49
	1267,92	436,51	311,11	25,59	32,84	3,60	2,32	-	0,71
	2459,14	659,98	426,55	74,54	47,85	1,50	2,20	-	0,98
	1213,57	423,92	355,12	164,96	32,72	3,10	2,28	-	0,81
	2087,47	614,71	411,03	25,99	41,85	3,82	2,85	-	0,94
	1100,51	364,94	168,29	19,64	24,75	2,02	1,53	-	0,39
Centrales de abasto	1347,10	458,31	232,89	103,12	70,69	2,94	3,72	0,28	0,53
	1025,87	337,89	135,08	52,00	37,62	1,99	2,49	-	0,31
	766,26	380,60	174,76	68,69	49,91	2,52	2,51	0,15	0,40
	1438,06	406,60	462,18	58,10	50,93	3,07	3,02	0,33	1,06
	1218,89	349,25	355,21	51,81	40,29	2,29	2,49	0,10	0,81
	693,73	332,55	109,51	43,97	41,19	1,79	2,74	-	0,25
	1046,13	230,91	162,39	37,55	27,77	1,80	2,03	-	0,37
	1337,06	324,22	170,32	60,61	39,91	2,18	2,50	-	0,39
	883,50	403,59	174,75	75,20	56,11	2,20	2,46	0,12	0,40
	709,65	390,45	192,63	34,81	36,77	2,50	2,07	-	0,44

:- Valor por debajo del límite de detección (0,1 mg/100 g)

Por otra parte, el contenido en Ca fue superior en chorizos de centros comerciales y centrales de abasto que en los de carnicerías y mercados rurales. Este hecho, junto a las elevadas desviaciones estándar observadas lleva a sugerir que en algunos

chorizos de centros comerciales o de centrales de abasto se puede llegar a utilizar algún ingrediente rico en calcio. Una posible explicación es el empleo de carne deshuesada mecánicamente, que tiene un elevado contenido en Ca. De acuerdo a Newman (1981), el contenido de calcio en este tipo de carne está entre 400 y 1800 mg por 100 g. Otras posibilidades a las que puede atribuirse el alto contenido de calcio en esas muestras pueden ser la utilización de sales minerales de calcio (silicato de calcio) o proteínas de soja (con cantidades de Ca de 363 mg por 100 g de proteína; USDA, 2010).

En relación al contenido en Mg, éste presentó diferencias significativas entre tipos de chorizo, encontrándose mayores cantidades en los chorizos de centrales de abasto y menores en los de carnicerías. Tal vez los niveles altos en chorizos de mercados de abasto se deban al uso de carne deshuesada mecánicamente para su elaboración – este tipo de carne tiene un elevado contenido en Mg con respecto al músculo (Newman, 1981).

El contenido en Zn fue mayor en chorizos de carnicerías y mercados rurales que en los de centros comerciales y centrales de abasto. Su cantidad expresada sobre materia seca estuvo bastante correlacionada con el contenido en proteína sobre materia seca ($r = 0,68$), por lo que se infiere que la cantidad de este elemento mineral en el chorizo depende en una proporción considerable de la cantidad de carne magra empleada en la formulación. No obstante, considerando los distintos tipos de chorizo de forma independiente, los de centros comerciales mostraron un bajo coeficiente de correlación entre Zn y proteína sobre materia seca (menor a 0,3), lo que sugiere la presencia de proteínas no cárnicas en la mezcla, como por ejemplo el aislado o proteína texturizada de soja.

El contenido en Fe fue mayor en los chorizos de mercados rurales y menor en los de centros comerciales, con valores intermedios en los otros dos tipos. No se puede dar una interpretación segura y única a este hecho. No obstante, tal vez podría estar relacionado con que el chorizo de mercados rurales tuviera más contenido en carne magra o también que el material del equipamiento de elaboración de los chorizos (picadora, embutidoras) en el medio rural fuese de fundición (hierro fundido), que

desprende Fe hacia la carne, mientras que para hacer chorizos de centros comerciales se emplea principalmente acero inoxidable que presenta bajos niveles de migración de Fe.

Tabla 17. Valores medios y desviación estándar del contenido de elementos minerales expresados como mg/100g de materia fresca, materia seca o materia seca desengrasada y cantidad de fósforo expresada como % de P_2O_5 en las cuatro variedades de chorizos evaluados

	Carnicerías n=10	Mercados rurales n=10	Centros comerciales n=10	Centrales de abastos n=10	P
<i>MF</i>					
Na	845 ± 214 ^b	867 ± 343 ^b	1528 ± 477 ^a	1047 ± 279 ^b	***
K	376 ± 131 ^b	414 ± 104 ^b	519 ± 111 ^a	361 ± 62 ^b	**
P	185 ± 86 ^b	191 ± 37,0 ^b	319 ± 88 ^a	217 ± 109 ^b	**
Ca	40,5 ± 25,4 ^{ab}	33,1 ± 19,1 ^b	62,5 ± 46,2 ^a	58,6 ± 20,2 ^{ab}	*
Mg	28,0 ± 11,2 ^b	36,7 ± 13,4 ^{ab}	40,9 ± 10,9 ^a	45,1 ± 12,1 ^a	*
Zn	3,19 ± 0,82 ^a	3,44 ± 0,87 ^a	2,95 ± 0,82 ^{ab}	2,33 ± 0,44 ^b	*
Fe	2,55 ± 0,55 ^b	3,55 ± 1,38 ^a	2,34 ± 0,39 ^b	2,60 ± 0,48 ^b	**
Cu	-	-	-	0,10 ± 0,13 ^a	*
%P ₂ O ₅	0,42 ± 0,20 ^b	0,44 ± 0,08 ^b	0,73 ± 0,20 ^a	0,50 ± 0,25 ^b	**
<i>MS</i>					
Na	1488 ± 349 ^b	1476 ± 456 ^b	2399 ± 657 ^a	1727 ± 512 ^b	***
K	685 ± 330	755 ± 259	817 ± 141	602 ± 153	NS
P	336 ± 177 ^b	352 ± 121 ^{ab}	501 ± 131 ^a	362 ± 193 ^{ab}	*
Ca	71,4 ± 43,1	55,0 ± 22,0	103,0 ± 88,3	97,0 ± 39,5	NS
Mg	49,4 ± 18,1 ^b	64,9 ± 20,9 ^{ab}	64,4 ± 15,7 ^{ab}	75,0 ± 25,1 ^a	*
Zn	5,83 ± 2,36 ^a	6,26 ± 1,81 ^a	4,65 ± 1,21 ^{ab}	3,88 ± 1,05 ^b	*
Fe	4,52 ± 1,06 ^a	6,47 ± 2,81 ^a	3,70 ± 0,49 ^b	4,32 ± 1,14 ^b	**
Cu	-	-	-	0,17 ± 0,22 ^a	*
<i>MSD</i>					
Na	3839 ± 995 ^b	3424 ± 1328 ^b	5017 ± 926 ^a	4976 ± 1247 ^a	**
K	1668 ± 476	1663 ± 468	1716 ± 143	1718 ± 233	NS
P	815 ± 309 ^{ab}	759 ± 136 ^b	1051 ± 210 ^a	1003 ± 400 ^{ab}	*
Ca	180 ± 107 ^{ab}	138 ± 96 ^b	208 ± 163 ^{ab}	278 ± 81 ^a	*
Mg	126 ± 48 ^b	148 ± 60 ^b	136 ± 32 ^b	214 ± 45 ^a	***
Zn	14,3 ± 3,0 ^a	13,7 ± 3,1 ^a	10,1 ± 3,2 ^b	11,0 ± 1,4 ^b	**
Fe	11,5 ± 2,2 ^a	13,9 ± 4,4 ^a	7,9 ± 1,4 ^b	12,4 ± 1,7 ^a	***
Cu	-	-	-	0,4 ± 0,5	-

n: Número de muestras.

MF: Materia fresca, MS: Materia seca, MSD: Materia seca desengrasada.

P: Nivel de significancia: *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001; NS: No existen diferencias significativas.

^{a,b}: Medias de las filas con letras diferentes presentan diferencias significativas (P<0,05; Prueba de Duncan).

-: Valor por debajo del límite de detección (0,1 mg/100 g).

4.1.2.5 Ácidos grasos

En la Tabla 18 se observa el contenido del porcentaje en peso de los principales ácidos grasos en los cuatro tipos de chorizos analizados sobre ácidos grasos totales, y en la Tabla 19 los resultados medios y la desviación estándar de los porcentajes de ácidos grasos detectados para cada tipo. Además, en la Tabla 20 se recogen diversas sumatorias de ácidos grasos según el grado de saturación en los chorizos analizados y en la Tabla 21 los valores medios y la desviación estándar de dichas sumatorias y las sumatorias de ácidos grasos de cadena impar y ramificada según el tipo de chorizo.

Con independencia del tipo de chorizo, los ácidos grasos mayoritarios en orden de abundancia fueron C18:1, C16:0, C18:2, C18:0, C16:1, C14:0 y C18:3, siendo los niveles de C18:0 y C18:2 muy similares (Tabla 19). Este orden de abundancia y los porcentajes obtenidos en estos ácidos grasos concuerdan en gran medida con los valores de la carne de cerdo blanco recogidos en la base de datos USDA (2010) o en los trabajos de Wood et al. (2003 y 2008).

Las diferencias significativas más reseñables entre tipos de chorizo se establecen entre chorizos de carnicerías y el resto. Los chorizos de carnicerías tuvieron más porcentaje de C14:0, C18:0 y C16:1 que el resto, así como un menor porcentaje de C18:2. Además, observando los resultados de las sumatorias (Tabla 21) los chorizos de carnicerías presentaron mayor saturación, menor poliinsaturación y más ácidos grasos ramificados y de cadena impar que el resto. Las causas de estas diferencias se podrían buscar en la alimentación o edad de los cerdos utilizados para elaborar los chorizos (Wood et al., 2008). Sin embargo, la explicación más convincente y probablemente la más contundente de esas diferencias se basa en la inclusión en la formulación de los chorizos de un porcentaje indeterminado, no controlado, ni estandarizado, de recortes de carne de rumiante, principalmente vacuno, por bastantes de los carniceros cuyos chorizos fueron muestreados (comunicación personal, Roberto González). Recortes que proceden del despiece y de la preparación de las piezas durante la exposición y venta.

Tabla 18. Contenido de los principales ácidos grasos (%) en los chorizos analizados de cada tipo

Ácidos grasos	Carnicerías									
C14:0	1,54	2,03	1,36	2,67	2,02	2,35	1,56	1,37	2,69	1,45
C16:0	22,88	19,76	17,94	20,83	20,33	19,76	20,47	21,24	21,28	20,79
C16:1	2,56	3,55	3,25	5,19	4,00	3,44	3,09	3,09	3,89	2,71
C18:0	12,43	14,65	10,84	15,00	13,27	16,94	13,59	12,96	16,51	11,93
C18:1	42,70	41,30	45,35	41,95	43,83	40,36	43,57	44,33	40,48	41,06
C18:2	13,60	11,59	15,31	5,07	9,67	9,67	11,70	11,31	7,86	16,78
C18:3	0,90	0,79	1,02	0,75	0,71	0,75	0,77	0,86	0,54	0,93
Ácidos grasos	Mercados rurales									
C14:0	1,31	1,72	1,51	1,58	1,50	1,58	1,73	1,34	1,44	1,45
C16:0	19,18	21,40	20,41	22,35	22,49	19,76	19,81	20,39	22,10	20,02
C16:1	2,88	3,75	3,54	2,74	3,60	3,00	2,43	2,71	2,56	3,31
C18:0	11,56	12,85	11,61	12,12	11,55	11,72	14,94	13,49	14,90	11,92
C18:1	42,93	41,94	44,16	39,11	46,66	43,37	37,87	44,56	40,30	44,72
C18:2	15,96	11,59	13,34	15,70	9,81	15,26	16,38	11,62	13,47	12,85
C18:3	0,86	0,97	0,68	0,98	0,65	0,79	0,93	0,81	0,88	0,79
Ácidos grasos	Centros comerciales									
C14:0	1,41	1,63	1,60	1,73	1,57	1,50	1,62	1,43	1,41	1,41
C16:0	22,05	20,86	19,83	21,17	19,92	19,95	20,40	19,88	20,44	20,63
C16:1	2,93	3,05	2,99	2,72	3,32	2,79	3,36	2,73	2,86	3,04
C18:0	12,38	13,29	11,12	12,53	11,20	12,29	10,53	11,26	11,43	11,17
C18:1	42,75	40,85	42,10	40,14	44,35	41,15	42,23	42,46	42,65	43,12
C18:2	13,29	14,79	16,75	15,83	13,78	16,73	16,35	16,85	15,99	15,43
C18:3	0,74	0,91	0,83	0,88	0,78	0,81	1,00	0,83	0,90	0,79
Ácidos grasos	Centrales de abasto									
C14:0	1,64	1,53	1,50	1,43	1,49	1,36	1,33	1,34	1,54	1,44
C16:0	20,33	19,54	19,38	20,66	20,45	20,33	21,57	20,42	19,89	20,21
C16:1	2,85	3,13	2,82	2,63	2,85	2,29	1,98	2,30	2,78	3,08
C18:0	11,92	11,24	11,20	12,03	12,76	14,91	16,49	15,36	12,66	11,02
C18:1	42,59	44,68	42,41	40,28	42,07	41,86	39,92	41,27	42,88	44,35
C18:2	14,95	14,39	16,90	17,22	14,91	13,78	13,37	13,92	14,58	14,64
C18:3	0,94	0,82	1,02	0,96	0,85	0,74	0,72	0,80	0,88	0,76

La grasa de carne de vacuno es más saturada, tiene más C14:0 y C18:0 que la de cerdo, y tiene un característico contenido de ácidos grasos ramificados y de cadena impar, procedentes del metabolismo microbiano ruminal (Raes et al., 2004; Wood et al., 2008). Las cantidades de ácidos grasos ramificados y de cadena impar encontradas en grasa de vacuno están entre 1-3% y 2-6%, respectivamente (Raes et al., 2004; Aldai et al., 2007). Teniendo en cuenta estas cantidades y las diferencias

entre los valores encontrados en los chorizos de carnicerías y los otros chorizos, es posible que la grasa de vacuno presente en el chorizo típico de carnicerías se sitúe dentro del rango del 20-50% de la grasa total. También hay indicios de que alguno de los chorizos de mercados rurales puedan llevar algo de grasa de vacuno (algunas muestras presentaron un contenido considerable de ácidos grasos ramificados). Sin embargo, los de centros comerciales y centrales de abasto no presentan apenas ácidos grasos ramificados por lo que no llevarían grasa de vacuno.

Tabla 19. Valores medios y desviación estándar del contenido (%) en ácidos grasos de los cuatro tipos de chorizos evaluados

Ácidos grasos	Carnicerías n=10	Mercados rurales n=10	Centros comerciales n=10	Centrales de abasto n=10	P
C10:0	0,08 ± 0,02 ^b	0,09 ± 0,02 ^{ab}	0,11 ± 0,01 ^a	0,11 ± 0,04 ^a	*
C12:0	0,12 ± 0,03	0,12 ± 0,06	0,14 ± 0,09	0,11 ± 0,03	NS
C14:r	0,03 ± 0,04 ^a	0,01 ± 0,01 ^b	0,00 ± 0,00 ^b	0,01 ± 0,02 ^b	**
C14:0	1,90 ± 0,52 ^a	1,52 ± 0,14 ^b	1,53 ± 0,12 ^b	1,46 ± 0,10 ^b	**
C15:r	0,19 ± 0,21 ^a	0,04 ± 0,07 ^b	0,00 ± 0,00 ^b	0,00 ± 0,00 ^b	**
C15:1	0,25 ± 0,31 ^a	0,05 ± 0,05 ^b	0,01 ± 0,02 ^b	0,01 ± 0,01 ^b	**
C15:0	0,25 ± 0,24 ^a	0,09 ± 0,07 ^b	0,05 ± 0,01 ^b	0,05 ± 0,01 ^b	**
C16:r	0,12 ± 0,13 ^a	0,02 ± 0,04 ^b	0,00 ± 0,00 ^b	0,00 ± 0,00 ^b	***
C16:0	20,53 ± 1,28	20,79 ± 1,20	20,51 ± 0,71	20,28 ± 0,61	NS
C17:r	0,20 ± 0,21 ^a	0,07 ± 0,05 ^b	0,02 ± 0,03 ^b	0,04 ± 0,02 ^b	**
C16:1	3,48 ± 0,76 ^a	3,05 ± 0,47 ^{ab}	2,98 ± 0,22 ^b	2,67 ± 0,37 ^b	**
C17:0	0,82 ± 0,40 ^a	0,56 ± 0,20 ^b	0,43 ± 0,09 ^b	0,48 ± 0,10 ^b	**
C18:r	0,07 ± 0,08 ^a	0,01 ± 0,02 ^b	0,00 ± 0,00 ^b	0,00 ± 0,00 ^b	***
C17:1	0,56 ± 0,18 ^a	0,44 ± 0,13 ^b	0,36 ± 0,06 ^b	0,37 ± 0,04 ^b	**
C18:0	13,81 ± 1,96 ^a	12,67 ± 1,34 ^{ab}	11,72 ± 0,85 ^b	12,96 ± 1,94 ^{ab}	*
C18:1	42,49 ± 1,73	42,56 ± 2,75	42,18 ± 1,21	42,23 ± 1,54	NS
C18:2	11,26 ± 3,46 ^b	13,60 ± 2,20 ^a	15,58 ± 1,26 ^a	14,87 ± 1,26 ^a	***
C19:1	0,03 ± 0,06	0,04 ± 0,08	0,04 ± 0,06	0,07 ± 0,06	NS
C20:0	0,37 ± 0,06	0,36 ± 0,16	0,44 ± 0,09	0,44 ± 0,10	NS
C18:3	0,80 ± 0,13	0,83 ± 0,11	0,85 ± 0,08	0,85 ± 0,10	NS
C20:1	1,01 ± 0,11 ^b	1,07 ± 0,16 ^{ab}	1,04 ± 0,07 ^{ab}	1,15 ± 0,11 ^a	*
CLA c18:2	0,11 ± 0,07 ^a	0,05 ± 0,04 ^b	0,05 ± 0,04 ^b	0,05 ± 0,04 ^b	*
C20:2	0,56 ± 0,17 ^b	0,66 ± 0,10 ^a	0,72 ± 0,06 ^a	0,74 ± 0,04 ^a	**
C20:3	0,24 ± 0,07	0,28 ± 0,15	0,25 ± 0,01	0,24 ± 0,02	NS
C20:4	0,49 ± 0,24 ^b	0,78 ± 0,41 ^a	0,74 ± 0,08 ^{ab}	0,58 ± 0,25 ^{ab}	*
C24:0	0,05 ± 0,02	0,05 ± 0,03	0,06 ± 0,01	0,05 ± 0,01	NS
C22:4	0,14 ± 0,04 ^b	0,17 ± 0,05 ^{ab}	0,19 ± 0,01 ^a	0,18 ± 0,04 ^{ab}	*

n= Número de muestras

P: Nivel de significancia: *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001; NS: No existen diferencias significativas.

^{a,b}: Medias de las columnas con letras diferentes presentan diferencias significativas (P<0,05; Prueba de Duncan).

Tabla 20. Grado de saturación (%) de las cuatro categorías de chorizos analizados

Tipos de chorizo	Saturados	Mono-insaturados	Poli-insaturados
Carnicerías	37,80	46,49	15,71
	38,34	47,64	14,01
	31,16	50,34	18,51
	41,23	51,84	6,93
	37,33	50,54	12,13
	41,48	46,74	11,78
	37,17	48,67	14,16
	36,81	49,00	14,19
	42,67	47,77	9,56
	35,49	45,43	19,08
Mercados rurales	33,18	47,56	19,25
	37,66	48,00	14,33
	34,65	49,54	15,81
	36,88	42,97	20,15
	36,54	51,76	11,70
	34,25	47,99	17,76
	38,39	42,38	19,23
	36,74	49,20	14,07
	39,62	44,38	16,00
	34,63	49,96	15,41
Centros comerciales	37,00	47,24	15,76
	37,05	45,44	17,50
	33,71	46,65	19,64
	37,03	44,13	18,85
	33,92	49,57	16,52
	35,01	45,46	19,54
	33,82	46,97	19,21
	33,77	46,52	19,71
	34,46	46,83	18,72
	34,23	47,53	18,23
Centrales de abasto	35,06	46,94	18,01
	33,32	49,51	17,17
	33,31	46,97	19,72
	35,25	44,30	20,45
	35,81	46,49	17,70
	38,06	45,92	16,03
	40,84	43,62	15,54
	38,71	45,41	15,88
	35,36	47,37	17,27
	33,74	49,00	17,26

El perfil de ácidos grasos tiene importancia en la calidad de la carne y de los productos cárnicos, como por ejemplo en la susceptibilidad a la oxidación, aroma formado durante el cocinado, valor nutritivo, temperatura de fusión, etc. (Wood et

al., 2003; 2008). No obstante, las diferencias encontradas entre chorizos de carnicerías y el resto de tipos son moderadas y no parecen suficientes como para pensar que causen una clara variación en la calidad aromática de los chorizos o tengan una repercusión importante en la calidad nutritiva. En concreto, la diferencia en el contenido en C18:2 entre los chorizos de carnicerías y los otros tipos de chorizos, siendo la más acusada, es menor a 5 unidades porcentuales, y según se recoge en la revisión de Wood et al. (2003) no parece suficiente como para tener efecto en el aroma de un producto elaborado con carne de cerdo, máxime teniendo en cuenta su alto nivel de especiado.

Tabla 21. Saturación de los ácidos grasos (%) por tipo de chorizo.

	Carnicerías n=10	Mercados rurales n=10	Centros comerciales n=10	Centrales de abasto n=10	P
Saturados	37,95 ± 3,34 ^a	36,25 ± 2,03 ^{ab}	35,00 ± 1,45 ^b	35,94 ± 2,50 ^{ab}	*
Mono-insaturados	48,45 ± 2,02	47,37 ± 3,13	46,63 ± 1,45	46,55 ± 1,86	NS
Poli-insaturados	13,61 ± 3,74 ^b	16,37 ± 2,69 ^a	18,37 ± 1,37 ^a	17,50 ± 1,59 ^a	**
Ramificados	0,61 ± 0,65 ^a	0,15 ± 0,19 ^b	0,02 ± 0,03 ^b	0,04 ± 0,03 ^b	**
Impares	2,31 ± 1,46 ^a	1,29 ± 0,51 ^b	0,92 ± 0,21 ^b	1,04 ± 0,15 ^b	**

n= Número de muestras.

P: Nivel de significancia: * $P<0,05$; ** $P<0,01$; *** $P<0,001$; NS: No existen diferencias significativas.

^{a,b}: Medias de las filas con letras diferentes presentan diferencias significativas ($P<0,05$; Prueba de Duncan).

4.1.3 Características de apariencia

Los distintos parámetros de apariencia estudiados: diámetro, tamaño de grano y color en el exterior (sobre la superficie) e interior (de la masa) evaluados en los chorizos se muestran en la Tabla 22 y Tabla 23. En general, el diámetro medio en los cuatro tipos de chorizos estudiados estuvo comprendido en el rango entre 2,48 y 3,17 cm. La variación en el diámetro de los embutidos puede depender de tres factores principales: el diámetro de la tripa, la presión de llenado y la reducción de diámetro durante el secado. El menor diámetro registrado fue el de los chorizos de mercados rurales ($P<0,01$; Tabla 23), lo que puede deberse a que son embutidos manualmente o con ayuda de un molino de carne manual, lo que repercute en una menor presión de llenado. En este tipo de embutidos, es común el uso de tripas de los animales que el mismo productor sacrifica (información obtenida en entrevistas a los productores),

que podrían tener un diámetro menor que las que se comercializan ya preparadas. En el caso de los chorizos de carnicerías, centros comerciales y centrales de abasto regularmente se utilizan tripas previamente calibradas. El diámetro del embutido influye en la velocidad de secado del mismo ya que determina la superficie del embutido por unidad de peso. De esta forma, a menor grosor, mayor superficie por unidad de peso y mayor velocidad de deshidratación (Prieto y Carballo, 1997).

En relación al tamaño de grano, éste estuvo comprendido entre 5,30 y 6,30 mm, sin observarse diferencias significativas entre los cuatro tipos de chorizos analizados. Este dato es indicativo del tamaño de placa que se usa para el molido de la carne y la grasa, modificado en su caso por factores posteriores como son: i) la reducción en el tamaño de las partículas de grasa justificada por una fusión de la misma asociada a elevadas temperaturas, o ii) a la reducción del tamaño del grano de carne asociado a la desecación. No hay muchos datos al respecto en la bibliografía para poder comparar estos resultados. En chorizos españoles de distintas marcas comerciales, Herrero et al. (2006) clasifica los chorizos en función del tamaño de grano en tres categorías: los de grano ≤ 5 mm (como el chorizo de Pamplona), los de grano entre 5 y 10 mm (que es el caso de los chorizos mexicanos estudiados en el presente trabajo) y los chorizos con grano superior a 10 mm.

El tamaño del grano en los chorizos es importante ya que influye en la velocidad de secado (a menor tamaño menor es la velocidad de secado; Stiebing y Rödel, 1988; Feiner, 2006). El tamaño de grano puede considerarse como un factor responsable de la calidad sensorial sobre todo porque influye en la apariencia del producto crudo y el efecto de desmoronamiento del chorizo al momento de cocinarse. El uso de carnes de menor calidad (despojos, carne con mucha grasa y/o tendones) o el uso de ingredientes no cárnicos como la soja texturizada se acompaña de un tamaño de grano comparativamente pequeño respecto al grano normal, debido a que moliendo más la carne se reduce el efecto visual asociado a la presencia de esos ingredientes (en cierta manera con menores tamaños de grano se enmascara su presencia).

Tabla 22. Características de apariencia de los chorizos en el Estado de Hidalgo

Tipos de chorizo	Dimensión		Color Interno			Color externo		
	Ø*	TG#	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Carnicerías	3,23	6,00	50,20	26,69	30,33	42,01	27,18	28,40
	2,70	6,00	39,68	21,61	15,33	34,76	18,47	10,97
	3,50	4,00	42,17	23,28	17,34	36,68	19,85	11,89
	2,60	6,00	41,75	19,33	16,02	35,48	10,18	4,85
	2,80	6,00	48,32	15,72	16,92	40,26	15,48	10,69
	3,00	5,00	44,75	18,35	16,58	33,18	14,24	8,52
	3,00	4,00	45,82	21,30	18,90	36,46	16,69	10,26
	2,80	6,00	42,19	17,26	15,72	36,34	10,64	6,34
	2,90	4,00	37,82	17,06	14,18	35,14	7,07	3,96
	3,40	9,00	41,44	18,34	16,56	36,79	16,64	10,85
	2,30	6,00	37,84	17,66	13,77	36,84	8,90	7,26
Mercados rurales	2,80	5,00	37,69	17,32	14,48	28,42	10,33	6,75
	2,50	4,00	43,99	15,57	16,05	37,42	10,16	9,50
	2,60	9,00	35,14	20,08	13,47	30,73	13,83	5,39
	2,40	7,50	49,16	14,40	22,47	42,89	9,62	6,35
	2,40	6,50	37,13	20,31	20,12	42,27	10,73	8,89
	2,50	4,50	38,40	17,61	14,04	33,95	9,18	5,58
	2,80	9,00	41,68	15,18	15,67	35,54	8,01	5,78
	2,00	7,00	32,65	16,16	9,68	35,28	14,09	5,11
	2,50	2,00	46,67	24,18	18,33	44,58	17,81	12,40
	3,20	9,00	43,76	22,42	22,56	35,34	23,25	20,02
Centros comerciales	2,80	5,50	46,07	26,65	22,59	42,72	22,15	11,06
	2,70	8,50	29,78	18,42	9,55	35,12	12,00	5,54
	3,00	7,50	36,99	18,64	11,17	36,91	11,79	5,76
	2,80	5,00	37,58	22,79	15,57	36,58	11,51	4,92
	5,00	8,00	39,27	20,71	13,44	34,09	8,35	3,30
	3,00	3,50	31,59	15,82	10,91	34,56	10,80	6,02
	3,50	7,50	38,93	25,71	15,24	33,35	19,38	9,40
	2,80	4,50	39,01	17,02	10,80	36,15	11,19	5,58
	2,90	4,00	45,12	25,54	20,10	41,75	24,01	15,19
	3,20	5,00	41,02	24,52	14,24	37,87	23,43	11,72
Centrales de abasto	2,70	5,00	45,30	16,77	15,89	38,58	15,42	10,64
	2,50	5,50	46,42	23,51	24,17	50,45	18,99	14,59
	2,60	4,50	55,80	26,12	26,61	50,76	24,35	21,71
	3,30	8,50	57,31	25,29	24,05	49,25	26,27	22,40
	3,00	4,50	43,53	24,92	14,21	36,64	22,58	9,79
	3,00	5,00	45,47	23,62	16,48	40,51	17,51	8,27
	2,50	5,00	46,11	16,56	17,34	42,98	12,52	9,58
	2,50	4,00	45,67	24,43	17,81	40,69	18,30	10,93
	3,40	6,00	45,08	23,54	19,68	43,71	18,94	10,13
	3,20	5,00	41,02	24,52	14,24	37,87	23,43	11,72

Ø*: Diámetro en cm; TG#: Tamaño del grano en mm.; L*: Luminosidad, a*: Rojo-verde, b*: Amarillo-azul.

En cuanto al color interno, el de la masa, teniendo en cuenta los valores medios encontrados en los distintos tipos de chorizo (Tabla 23), el parámetro de luminosidad (L^*) estuvo entre 38 y 47, el componente a^* (eje rojo-verde) entre 18 y 23 y el componente b^* (eje amarillo-azul) entre 15 y 19. Por su parte, en el color externo los valores obtenidos de L^* fueron de 36 a 43, a^* entre 11 y 20 y finalmente b^* entre 7 y 13. En general, el color interno presentó más luminosidad que en el color externo. Este hecho es el esperado ya que la luminosidad depende de la humedad y el interior de los chorizos contiene mayor humedad que el exterior. También en el color interno los valores de a^* y b^* son mayores que en el externo, lo que puede estar asociado a una oxidación de los pigmentos en superficie, que están en contacto con el oxígeno atmosférico. En diversos estudios sobre chorizo español (Ansorena et al., 1997, Gimeno et al., 2000, Gómez et al., 2001) en los que se ha estudiado el color bien sea del chorizo recién embutido o bien en el transcurso de su elaboración, se han observado valores de los parámetros de color interno, para L^* entre 30 y 50, a^* desde 14 hasta 26 y b^* desde 9 a 19. Los valores medios de los parámetros de color interno encontrados en los chorizos mexicanos estarían dentro de estos rangos.

Comparando el color entre tipos de chorizo, se observaron diferencias significativas en los parámetros estudiados ($P < 0,05$). Los chorizos de centrales de abasto presentaron unos valores comparativamente elevados de luminosidad, índice de rojos y amarillos,, mientras que los chorizos de mercados rurales mostraron bajos valores de a^* .

Estas diferencias pueden ser debidas a diversos factores. Por una parte están aquellos relativos a la composición mayoritaria del embutido como la cantidad de humedad o grasa, que tienen una influencia directa y marcada sobre la luminosidad. También se puede atribuir a la naturaleza y cantidad de chile (pimiento) deshidratado, o en su caso pimentón (Gómez et al., 2001; Revilla y Vivar, 2005), usado en la formulación. En el chorizo mexicano se emplean frutos de *Capsicum* spp., de distintas variedades, como ingrediente, en cantidades aproximadas de 30 a 50 g por kg, principalmente de chile guajillo, según figura en diversos manuales y recetas utilizadas por pequeños elaboradores y en centros docentes, algunos de ellos publicados en libros de literatura nacional (Guerrero y Arteaga, 1990; Guerrero et al., 2002).

Tabla 23. Valores medios y desviación estándar de las características de apariencia de los chorizos

Atributos de apariencia		Carnicerías (n=10)	Mercados rurales (n=10)	Centros comerciales (n=10)	Centrales de abasto (n=10)	P
Color Interno	Ø*	2,99 ± 0,30 ^a	2,48 ± 0,23 ^b	3,17 ± 0,68 ^a	2,87 ± 0,35 ^a	**
	TG [#]	5,60 ± 1,51	6,05 ± 2,23	6,30 ± 2,02	5,30 ± 1,25	NS
	L*	43,42 ± 3,83 ^{ab}	40,03 ± 5,22 ^b	38,81 ± 5,33 ^b	47,17 ± 5,20 ^a	**
	a*	19,89 ± 3,33 ^{ab}	17,85 ± 2,95 ^b	21,37 ± 3,85 ^a	22,93 ± 3,40 ^a	*
	b*	17,79 ± 4,58	15,81 ± 3,67	15,19 ± 4,97	19,05 ± 4,43	NS
Color externo	L*	36,71 ± 2,61 ^b	36,79 ± 5,24 ^b	36,66 ± 3,15 ^b	43,14 ± 5,30 ^a	**
	a*	15,64 ± 5,69 ^{ab}	11,27 ± 3,04 ^b	15,44 ± 6,01 ^{ab}	19,83 ± 4,27 ^a	**
	b*	10,67 ± 6,82	7,30 ± 2,32	8,68 ± 5,33	12,98 ± 5,06	NS

n: Número de muestras.

Ø*: Diámetro en cm; TG#: Tamaño del grano en mm; L*: Luminosidad; a*: Rojo-verde; b*: Amarillo-azul.

P: Nivel de significancia en el análisis de varianza *P<0,05; **P<0,01; ***P<0,001; NS: No existen diferencias significativas.

^{a,b}: Medias de las filas con letras diferentes presentan diferencias significativas (P<0,05; Prueba de Duncan).

Igualmente, el color puede verse modificado por el uso de diversos colorantes comúnmente agregados al chorizo mexicano comercializado en centrales de abasto y centros comerciales como es el caso del rojo fresa, rojo cereza, o tonos naranja, los cuales son distribuidos por algunas empresas que comercializan aditivos para la industria cárnica (comunicación personal, Ing. Brenda Ericka Maya, personal técnico de FABPSA). Otro factor con efecto sobre el color es la adición o no de nitratos y nitritos, que ocasiona la formación de nitrosomioglobina (Santamaría, 1992; Frey, 1995; Benezet et al., 1997; Pérez-Dubé y Andújar-Robles, 2000) y que son empleados principalmente en los chorizos de centro comercial y centrales de abasto, mientras que estos no son aditivos de uso común en los chorizos que se elaboran y comercializan en mercados rurales o carnicerías de ciudades (comunicaciones personales de distintos carniceros y productores rurales).

4.1.4 Análisis de perfil de textura (TPA)

En la Tabla 24 y Tabla 25, se muestran los resultados obtenidos en el análisis de perfil de textura (TPA) en los distintos tipos de chorizos analizados. En la textura del chorizo debe influir decisivamente la materia prima cárnica (la cantidad de carne, grasa, tejido conjuntivo), la eventual presencia de ligantes (almidones, dextrinas, proteínas no cárnicas) o fosfatos, el diámetro del embutido y el grado de secado. Por otra parte, la acidificación de la masa también parece influir en la firmeza debido a

una coagulación por acidez (formación de gel) de las proteínas miofibrilares extraídas durante el amasado al acercarse el pH al punto isoeléctrico de las mismas (Flores y Bermell, 1995). Según Baumgartner (1980), la consistencia se incrementa a medida que el pH desciende por debajo de 5,4. El papel de la textura en la calidad de los chorizos no es del todo claro y depende de la variedad de chorizo de que se trate (Gimeno et al., 2000).

Analizando los datos del presente estudio, la gran variabilidad (desviación estándar) en dureza y masticabilidad observada dentro de cada tipo de chorizo se podría atribuir a variaciones en los factores anteriormente mencionados, siendo probable que la humedad (o grado de secado) sea uno de los más implicados. En este sentido, en la bibliografía se han encontrado datos de la evolución de la dureza de los chorizos durante su secado, observándose valores desde 3-10 N a los 2 días posteriores al embutido y hasta 30-50 N a los 20-25 días siguientes (González-Fernández et al., 2006; Revilla y Vivar, 2005). En el presente estudio se observa una correlación significativa ($P < 0,05$) y negativa ($r = -0,52$) entre humedad y dureza de los chorizos. El resto de las características de composición proximal y el pH, o no presentaron correlaciones significativas, o sus valores de r fueron considerablemente menores (datos no mostrados en tablas).

La dureza y consecuentemente la masticabilidad (ya que ésta se calcula a partir de la dureza) fueron los parámetros sobre los que se observaron diferencias significativas entre tipos de chorizo. Los chorizos de centros comerciales fueron los más duros ($P < 0,05$). Este tipo de chorizos presentó el doble de dureza respecto a los chorizos de mercados rurales y 4 veces más que a los chorizos de centrales de abasto y carnicerías respectivamente. Esta diferencia está relacionada con el menor contenido en humedad de los chorizos de centros comerciales.

La adhesividad, cohesividad y elasticidad no presentaron diferencias entre tratamientos. La relación entre la humedad, elasticidad y cohesividad de los chorizos a largo de su secado no parece ser clara ni acusada (González-Fernández et al., 2006; Revilla y Vivar, 2005), ya que en estos estudios no se observó un claro aumento en la elasticidad y cohesividad a medida que los chorizos se secaron.

Tabla 24. Análisis de perfil de textura (TPA) en los chorizos analizados

Tipos de chorizos	Dureza (N)	Adhesividad (N/s)	Cohesividad	Elasticidad	Masticabilidad (N)
Carnicerías	5,30	-0,45	0,64	0,19	0,62
	2,56	-0,33	0,48	0,36	0,45
	2,02	-0,33	0,34	0,25	0,18
	4,31	-0,24	0,44	0,37	0,73
	1,53	-0,37	0,57	0,39	0,34
	2,18	-0,59	0,46	0,37	0,37
	2,87	-0,81	0,58	0,42	0,70
	2,21	-0,06	0,55	0,46	0,56
	5,49	-0,74	0,42	0,30	0,68
	6,33	-0,32	0,95	0,25	1,49
Mercados rurales	3,82	-0,65	0,57	0,27	0,60
	6,39	-0,39	0,46	0,40	1,16
	2,27	-0,39	0,54	0,45	0,56
	1,40	-0,32	0,24	0,89	0,29
	3,85	-0,29	0,54	0,43	0,88
	31,34	-0,59	0,43	0,28	3,78
	7,00	-0,17	0,84	0,17	0,96
	5,22	-0,23	0,73	0,32	1,22
	21,99	-0,13	0,12	0,05	0,80
	3,62	-0,14	0,39	0,33	0,47
Centros comerciales	8,20	-0,20	0,52	0,45	2,06
	11,36	-1,44	0,15	0,17	0,82
	21,42	-0,44	0,52	0,46	5,16
	11,66	-0,14	0,31	0,10	0,20
	29,14	-0,29	0,53	0,61	9,42
	12,90	-0,51	0,58	0,61	4,58
	6,97	-0,17	0,56	0,15	0,40
	10,73	-0,29	0,65	0,64	4,34
	29,14	-0,44	0,46	0,45	1,07
	24,65	-0,18	0,46	0,55	6,29
Centrales de abasto	3,39	-0,29	0,51	0,34	0,58
	1,15	-0,58	0,55	0,35	0,22
	7,66	-0,62	0,67	0,21	1,07
	0,89	-0,09	0,44	0,27	0,10
	0,74	-0,03	0,12	0,54	0,12
	1,25	-0,92	0,39	0,59	0,22
	10,34	-1,99	0,58	0,47	2,81
	5,03	-1,57	0,66	0,40	1,34
	6,29	-0,34	0,85	0,21	1,14
	6,46	-0,38	0,61	0,57	2,24

N: Newtons

Por último, se observó una diferencia altamente significativa ($P<0,001$) entre tipos de chorizo para el parámetro masticabilidad. Los chorizos de centro comercial presentaron los valores más elevados (3,61 N) en comparación con los demás (0,88 N en promedio). Ésta característica está relacionada con la dureza y aunque el chorizo en México se consume una vez frito (no crudo) se ha decidido incluirla como resultado en las tablas, para tener una comparación de referencia con los valores de embutidos crudos curados. En la literatura consultada (Gimeno et al., 2000; y Revilla y Vivar, 2005; González-Fernández et al., 2006; Fonseca, 2009; Olivares et al., 2010) se encontraron valores entre 10 y 80 N para diversos embutidos crudos curados; mientras que en esta investigación se obtuvieron valores (Tabla 24) que van desde 0,10 en chorizos de centrales de abastos, hasta 9,42 en chorizos de centro comercial. En este sentido la masticabilidad en el chorizo mexicano es inferior a la de un embutido crudo-curado, lo que puede ser debido a un menor tiempo de secado (y una menor dureza) en el primer tipo de embutido.

Tabla 25. Valores medios y desviación estándar en los parámetros de textura en los chorizos analizados

Parámetro	Carnicerías n=10	Mercados rurales n=10	Centros comerciales n=10	Centrales de abasto n=10	P
Dureza (N)	3,48 ± 1,72 ^b	8,69 ± 9,87 ^b	16,62 ± 8,60 ^a	4,32 ± 3,36 ^b	***
Adhesividad (N/s)	-0,42 ± 0,23	-0,33 ± 0,18	-0,37 ± 0,30	-0,68 ± 0,64	NS
Cohesividad	0,54 ± 0,17	0,55 ± 0,18	0,60 ± 0,15	0,54 ± 0,20	NS
Elasticidad	0,34 ± 0,09	0,36 ± 0,22	0,42 ± 0,21	0,41 ± 0,18	NS
Masticabilidad (N)	0,60 ± 0,36 ^b	1,07 ± 1,00 ^b	3,61 ± 2,87 ^a	0,98 ± 0,94 ^b	***

Nivel de significancia: * $P<0,05$; ** $P<0,01$; *** $P<0,001$; NS: No existen diferencias significativas.

Medias de las filas con letras diferentes presentan diferencias significativas ($P<0,05$; Prueba de Duncan).

4.2 Evolución de diversas características de calidad del chorizo fresco, efecto de la atmósfera modificada con CO₂ y la actividad de agua en el envasado

4.2.1 Grupos microbianos

Los niveles de significación para las distintas variables estudiadas (tipo de atmósfera, tiempo de almacenamiento, a_w de envasado y tipo de chorizo) y sus interacciones dobles obtenidos mediante análisis de varianza a partir de los recuentos de cada uno de los grupos microbianos determinados en la masa de los chorizos almacenados a refrigeración se muestran en la Tabla 26.

La atmósfera (aire *vs* AM con CO₂) no afectó significativamente ($P>0,05$) a los recuentos microbianos de la masa de los chorizos y no se observaron interacciones significativas entre atmósfera y el resto de variables estudiadas. De esta observación se puede deducir que las condiciones determinantes del crecimiento microbiano en la masa del chorizo (pH, Eh, a_w , nutrientes, etc.) tienen que ser similares para ambos tipos de envasado. En este sentido, la difusión del O₂ o el CO₂ hacia el interior de la masa sería limitada e insuficiente como para marcar diferencias en los recuentos de los grupos microbianos estudiados entre ambos tipos de envasado.

Se sabe que el CO₂ tiene un efecto bacteriostático y que dicho efecto depende de factores como la concentración de CO₂ en la atmósfera, la fase de crecimiento del microorganismo, la carga microbiana inicial y la temperatura de almacenamiento (Reddy et al., 1992). El efecto inhibidor del CO₂ en los microorganismos alterantes se ha estudiado principalmente en la superficie de la carne y los productos cárnicos (Borch et al., 1996). Se ha constatado que son escasos los estudios en los que se ha estudiado el efecto bacteriostático del CO₂ en el interior (en la masa de los embutidos).

Como se ha indicado anteriormente, en el presente estudio no se ha detectado que la presencia de CO₂ en la atmósfera ejerciera efecto bacteriostático alguno en la masa de los embutidos. Por el contrario, Martínez et al. (2006) y Ruiz-Capillas y Jiménez-Colmenero (2010) observaron efecto inhibidor del CO₂ en el crecimiento microbiano

durante el almacenamiento de unos embutidos frescos. Las diferencias entre estudios pueden deberse a aspectos de composición, tamaño, tiempo de secado previo al envasado de los embutidos.

Martínez et al. (2006) estudiaron la vida útil de salchichas frescas y observaron efecto inhibidor del CO₂ y de las condiciones de anoxia en el crecimiento microbiano de los microorganismos psicrotrofos con respecto a embutidos control expuestos al aire (con film permeable al O₂). La discrepancia con lo observado en el presente estudio se puede justificar por el menor diámetro (17 mm) de las salchichas de aquél estudio frente al diámetro (35-38 mm) de los chorizos de este estudio, ya que es esperable una mayor concentración de CO₂ y menor de O₂ en la masa de los embutidos más finos. Las diferencias también podrían ser debidas, a diferencias en el tipo de microorganismo dominante. En el chorizo las BAL fueron las bacterias dominantes y este grupo puede tolerar bastante bien la presencia de CO₂ (Lambert et al., 1991). En el estudio de la salchicha no se determinó qué grupo microbiano fue el preponderante. En cualquier caso, como diferencia adicional entre estudios (que condiciona el tipo de microorganismo), la salchicha se envasó inmediatamente después del embutido y los chorizos después de un corto periodo de secado.

Ruiz-Capillas y Jiménez-Colmenero (2010) observaron un aumento de más de 3-4 Log UFC/g en los recuentos de microorganismos totales y BAL en embutidos frescos almacenados en aire durante 28 días (desde el día de envasado) y, sin embargo, en los almacenados en AM con CO₂ (20%) y N₂ (80%) no se observó aumento en dichos recuentos. En ese trabajo tampoco se aportan datos sobre la naturaleza de los embutidos estudiados (composición, tamaño, etc.) que permitan establecer causas para explicar las discrepancias con lo observado en el presente estudio (donde se observó aumento en los niveles de BAL con independencia de la atmósfera de envasado).

Las otras variables estudiadas (tiempo, a_w y tipo de chorizo) mostraron efectos significativos ($P < 0,05$) sobre el crecimiento de varios grupos microbianos (Tabla 26). A continuación se comentarán y discutirán los resultados para cada grupo microbiano por separado.

Tabla 26. Resultados (nivel de significación en la comparación de medias) del análisis de varianza de los recuentos de los grupos microbianos evaluados en base a los distintos factores estudiados y las interacciones dobles entre los mismos

	atm	t	a _w	ch	atm x t	atm x a _w	atm x ch	t x a _w	t x ch	a _w x ch
<i>Micrococcaceae</i>	NS	NS	NS	***	NS	NS	NS	*	NS	*
<i>Enterobacteriaceae</i>	NS	***	***	NS	NS	NS	NS	NS	*	***
Bacterias ácido lácticas	NS	***	***	NS	NS	NS	NS	***	NS	NS
Psicrotrofos	NS	***	NS	***	NS	NS	NS	NS	***	***
Mohos y levaduras	NS	***	**	NS	NS	NS	NS	**	NS	*

Nivel de significación: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; NS: No existen diferencias significativas.

atm: tipo de atmósfera (control: aire y atmósfera modificada: mezcla de CO₂ al 20% y N₂ al 80%), t: tiempo de almacenamiento (1, 14, 28 y 42 días), a_w: actividad de agua en el envasado (0,96, 0,94 y 0,92), ch: tipo de chorizo (artesanal e industrial), atm x t: interacción entre atmósfera y tiempo de almacenamiento, atm x a_w: interacción entre atmósfera y actividad de agua, atm x ch: interacción entre atmósfera y tipo de chorizo, t x a_w: interacción entre tiempo de almacenamiento y actividad de agua, t x ch: interacción entre tiempo de almacenamiento y tipo de chorizo, a_w x ch: interacción entre actividad de agua y tipo de chorizo.

4.2.1.1 *Micrococcaceae*

En la Tabla 27 se puede observar la evolución de los recuentos de *Micrococcaceae* en los chorizos elaborados artesanal e industrialmente envasados a los distintos valores de a_w. Se muestran los valores medios obtenidos conjuntamente de las muestras de ambos tipos de envasado ya que no hubo diferencias significativas relativas a la variable atmósfera (Tabla 26). En general, los recuentos de este grupo microbiano fueron más elevados en el chorizo industrial que en el artesanal ($P < 0,001$).

Teniendo en cuenta solo los valores del día 1 (día de envasado), se observa que en el chorizo artesanal a menor a_w (más tiempo de secado) los recuentos de micrococaceas fueron menores, mientras que en el industrial estos se mantuvieron prácticamente constantes durante el secado.

En el momento de envasado de los chorizos con a_w de 0,96, los recuentos de micrococaceas fueron similares en ambos tipos de chorizo. Después, en el artesanal los recuentos descendieron tras 14 días de almacenamiento para luego mantenerse, y en el industrial se mantuvieron constantes a lo largo de todo el almacenamiento.

Los recuentos de micrococaceas en los chorizos estudiados fueron similares a los observados por otros autores para embutidos fermentados (Sanz et al., 1997a). La disminución de estos microorganismos en el chorizo artesanal durante el oreo y almacenamiento se puede atribuir al bajo pH de este tipo de chorizo (Tabla 35) unido a la sensibilidad de las micrococaceas a los ambientes ácidos (Samelis et al., 1994;

Lizaso et al., 1999). Esto también explicaría que en el chorizo industrial (con mayor pH que el artesanal) los recuentos de micrococáceas no descendieran ni durante el secado ni a lo largo del almacenamiento.

Tabla 27. Evolución de los recuentos de micrococos (Log UFC/g) presentes en los chorizos artesanal e industrial envasados a distintas a_w (0,96, 0,94 y 0,92)^{*, #} durante su almacenamiento a refrigeración (hasta 42 días)

Días	0,96		0,94		0,92	
	Artesanal (n=4) [§]	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)
1	5,0 ± 0,1 ¹	5,1 ± 0,2	4,2 ± 0,3	4,9 ± 0,1	3,7 ± 0,2 ^{b2}	4,5 ± 0,4 ^a
14	4,1 ± 0,2 ^{b2}	5,2 ± 0,7 ^a	4,6 ± 0,5	4,8 ± 0,2	4,4 ± 0,6 ^{1,2}	4,5 ± 0,2
28	3,9 ± 0,2 ^{b2}	5,1 ± 0,7 ^a	4,2 ± 0,4	4,6 ± 0,2	5,3 ± 1,0 ¹	4,7 ± 0,2
42	4,1 ± 0,3 ^{b2}	5,4 ± 0,9 ^a	4,5 ± 0,0	4,9 ± 0,3	4,9 ± 0,8 ¹	4,9 ± 0,4

* La masa inicial al momento del embutido, presentó unos recuentos de micrococos (Log UFC/g) de 5,1 en el chorizo artesanal y de 4,3 en el industrial.

Condiciones de secado: 8 ± 2°C, 60-85% HR. 1 día de secado para chorizos de a_w 0,96, de 5 a 7 días para los de 0,94 y de 10 a 14 para los de 0,92.

§ En cada columna se muestran los valores medios obtenidos de los chorizos envasados en aire y en atmósfera modificada al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera.

^{a, b}: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

^{1,2}: Medias dentro de cada columna con superíndice diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

4.2.1.2 *Enterobacteriaceae*

En la Tabla 28 se puede observar la evolución de los recuentos de enterobacterias en los chorizos elaborados artesanal e industrialmente envasados a distintos valores de a_w . Se muestran las medias obtenidas conjuntamente con las muestras envasadas en ambos tipos de atmósfera (por no haber diferencias significativas asociadas a la atmósfera).

El tiempo de almacenamiento a refrigeración de los chorizos mostró un claro efecto reductor de los recuentos de enterobacterias ($P < 0,001$; Tabla 26), a todos los valores de a_w estudiados. En casi todos los casos hubo una reducción más marcada en los primeros 14 días. También disminuyeron los recuentos de estas bacterias al disminuir la a_w de envasado.

Tabla 28. Evolución de los recuentos de enterobacterias (Log UFC/g) en los chorizos artesanal e industrial envasados a distintas a_w (0,96, 0,94 y 0,92)^{*}, # durante su almacenamiento a refrigeración (hasta 42 días)

Días	0,96		0,94		0,92	
	Artesanal (n=4) [§]	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)
1	4,0 ± 0,3 ¹	3,9 ± 0,7 ¹	2,8 ± 0,7 ¹	3,9 ± 0,7 ¹	0,6 ± 0,7 ^b	2,6 ± 0,2 ^{a1}
14	2,6 ± 0,7 ^{a2}	0,8 ± 1,0 ^{b2}	1,8 ± 0,4 ^{1,2}	1,4 ± 1,6 ²	0,2 ± 0,5	1,0 ± 1,2 ²
28	1,9 ± 0,3 ^{a2}	0,4 ± 0,8 ^{b2}	1,4 ± 0,4 ²	0,2 ± 0,5 ²	0,2 ± 0,5	0,9 ± 1,1 ²
42	1,7 ± 0,3 ²	1,0 ± 1,3 ²	0,7 ± 0,9 ²	1,0 ± 1,3 ²	< LD	0,3 ± 0,6 ²

* La masa inicial al momento del embutido presentó unos recuentos de enterobacterias (Log UFC/g) de 4,9 en el chorizo artesanal y de 4,4 en el industrial.

Condiciones de secado: 8 ± 2°C, 60-85% HR. 1 día de secado para chorizos de a_w 0,96, de 5 a 7 días para los de 0,94 y de 10 a 14 para los de 0,92.

§ En cada columna se muestran los valores medios obtenidos de los chorizos envasados en aire y en atmósfera modificada al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera.

^{a, b}: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

^{1,2}: Medias dentro de cada columna con superíndice diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

< LD: Recuentos obtenidos para las dos muestras analizadas inferiores al límite de detección (1 Log UFC/g), cuando una de las muestras estuvo por debajo del límite de detección y la otra no, se calculó el promedio asignando el valor de cero a aquella por debajo del límite de detección.

Comparando la reducción de enterobacterias ocurrido durante el secado con el ocurrido en los primeros 14 días de almacenamiento a refrigeración, fue más potente el efecto reductor del secado que el del almacenamiento. Durante el secado la reducción estuvo comprendida entre 2 y 4 unidades logarítmicas (en función del tiempo de secado y tipo de chorizo), mientras que durante el almacenamiento (primeros 14 días) ésta estuvo entre 0,5 y 2,5 unidades logarítmicas. La disminución de los niveles de enterobacterias observada puede ser atribuida principalmente a la eventual presencia de nitritos, un bajo pH con el consiguiente desarrollo de las BAL, un descenso en la a_w (secado) y las bajas temperaturas de almacenamiento, como lo indican Lizaso et al. (1999) y González-Fernández et al. (2006), quienes llegaron a observar la eliminación total de las enterobacterias al final del proceso de maduración de los embutidos crudos curados. Al igual que en el presente estudio, Ruiz-Capillas y Jiménez-Colmenero (2010) observaron un decremento en las enterobacterias durante el almacenamiento de embutidos frescos tanto almacenados al aire como en AM con CO₂. No obstante el decremento fue menos acusado lo que se puede relacionar con el mayor pH (aproximadamente 6,2) y mayor a_w de los embutidos del estudio mencionado.

4.2.1.3 Bacterias ácido lácticas

En la Tabla 29 se puede observar la evolución de los recuentos de BAL en los chorizos elaborados artesanal e industrialmente envasados a distintos valores de a_w . Se muestran los valores medios obtenidos conjuntamente de las muestras envasadas en ambos tipos de atmósfera por no haber diferencias significativas asociadas a ésta.

Los valores encontrados (8-9 Log UFC/g) son similares a los que presentan los embutidos fermentados (Sanz, et al., 1997b; Marco et al., 2006). Esos recuentos fueron alcanzados ya en el momento del envasado (durante el corto secado) en los chorizos con a_w de 0,94 y 0,92. Sin embargo, en los chorizos de a_w 0,96 (con un secado prácticamente inexistente) los recuentos indicados se alcanzaron durante el almacenamiento a refrigeración. De estos resultados se deduce que las BAL fueron capaces de crecer en los chorizos frescos de a_w 0,96 durante su almacenamiento a refrigeración, llegando a alcanzarse (antes de dos semanas) una concentración de BAL semejante a la que se alcanzó durante los días de secado de los chorizos envasados a a_w de 0,94 ó 0,92.

Tabla 29. Evolución de los recuentos de bacterias ácido lácticas (Log UFC/g) presentes en los chorizos artesanal e industrial envasados a distintas a_w (0,96, 0,94 y 0,92)^{a, #} durante su almacenamiento a refrigeración (hasta 42 días)

Días	0,96		0,94		0,92	
	Artesanal (n=4) ^s	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)
1	6,0 ± 0,1 ²	6,0 ± 1,4 ²	8,1 ± 0,4	8,4 ± 0,1	8,4 ± 0,1	8,2 ± 0,5
14	8,5 ± 0,3 ¹	8,0 ± 0,2 ¹	8,4 ± 0,1	8,5 ± 0,4	8,3 ± 0,1	8,4 ± 0,2
28	8,2 ± 0,3 ¹	8,3 ± 0,2 ¹	8,6 ± 0,3	8,6 ± 0,3	8,4 ± 0,1	8,3 ± 0,4
42	8,5 ± 0,2 ¹	8,4 ± 0,2 ¹	8,4 ± 0,1	8,3 ± 0,4	8,4 ± 0,1	8,4 ± 0,5

* La masa inicial al momento del embutido, presentó unos recuentos de bacterias ácido lácticas (Log UFC/g) de 6,1 en el chorizo artesanal y de 5,4 en el industrial.

Condiciones de secado: 8 ± 2°C, 60-85% HR. 1 día de secado para chorizos de a_w 0,96, de 5 a 7 días para los de 0,94 y de 10 a 14 para los de 0,92.

^s En cada columna se muestran los valores medios obtenidos de los chorizos envasados en aire y en atmósfera modificada al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera.

^{a, b}: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

^{1,2}: Medias dentro de cada columna con superíndice diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

4.2.1.4 Psicrotrofos

En la Tabla 30 se muestran los cambios en los recuentos de los psicrotrofos en los chorizos elaborados artesanal e industrialmente envasados a distintos valores de a_w . Se muestran los valores medios obtenidos conjuntamente de los chorizos envasados en ambos tipos de atmósfera por no haber diferencias significativas asociadas a ésta.

Los recuentos de psicrotrofos experimentaron un incremento significativo ($P < 0,001$) durante el almacenamiento a refrigeración. Este incremento tuvo lugar entre el día de envasado y las dos primeras semanas de almacenamiento a refrigeración. Pasado ese tiempo se alcanzaron valores máximos (8 Log UFC/g) que fueron similares a los recuentos encontrados para las BAL. Esto indica que la mayor parte de los psicrotrofos de los chorizos con más de 14 días de refrigeración fueron BAL capaces de crecer a bajas temperaturas.

Comparando los recuentos de BAL y los de psicrotrofos se deduce que durante los primeros 14 días de almacenamiento a refrigeración de los chorizos se produjeron cambios en la tolerancia al frío de las BAL (de menos a más). Esto se explica porque, durante esos primeros días, o bien hubo una adaptación al frío de las BAL presentes en el día del envasado, o bien un desarrollo (crecimiento) selectivo de aquellas cepas de BAL resistentes al frío hasta alcanzar valores similares a los recuentos iniciales.

Como diferencia principal entre los tipos de chorizo estudiados, en el día del envasado, en el chorizo industrial con a_w 0,94 y 0,92, los psicrotrofos (presumiblemente BAL capaces de crecer en frío) fueron más numerosos que en el artesanal ($P < 0,001$) con las mismas a_w s. Esto lleva a pensar que hubo diferencias en las características de las BAL (tolerancia al frío) entre ambos tipos de chorizos.

Tabla 30. Evolución de los recuentos de bacterias psicrotrofas (Log UFC/g) presentes en los chorizos artesanal e industrial envasados a distintas a_w (0,96, 0,94 y 0,92)^{*, #} durante su almacenamiento a refrigeración (hasta 42 días)

Días	0,96		0,94		0,92	
	Artesanal (n=4) [§]	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)
1	5,5 ± 0,6 ²	5,8 ± 1,3 ²	4,3 ± 0,5 ^{b2}	7,5 ± 0,6 ^{a2}	5,0 ± 1,1 ^{b2}	7,2 ± 0,3 ^{a2}
14	8,2 ± 0,4 ¹	7,1 ± 1,1 ¹	8,2 ± 0,2 ¹	8,5 ± 0,3 ¹	7,9 ± 0,5 ¹	8,2 ± 0,3 ¹
28	8,1 ± 0,3 ¹	8,1 ± 0,2 ¹	8,1 ± 0,6 ¹	8,3 ± 0,2 ¹	8,0 ± 0,3 ¹	8,4 ± 0,3 ¹
42	8,1 ± 0,2 ¹	8,2 ± 0,3 ¹	7,9 ± 0,4 ¹	8,2 ± 0,3 ^{1,2}	7,8 ± 0,4 ¹	8,2 ± 0,3 ¹

* La masa inicial al momento del embutido, presentó recuentos de psicrotrofos (Log UFC/g) de 6,0 en el chorizo artesanal y de 5,6 en el industrial

Condiciones de secado: 8 ± 2°C, 60-85% HR. 1 día de secado para chorizos de a_w 0,96, de 5 a 7 días para los de 0,94 y de 10 a 14 para los de 0,92.

§ En cada columna se muestran los valores medios obtenidos de los chorizos envasados en aire y en atmósfera modificada al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera.

^{a, b}: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

^{1,2}: Medias dentro de cada columna con superíndice diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

4.2.1.5 Mohos y levaduras

En la Tabla 31 se muestra la evolución en los recuentos de los mohos y levaduras de los chorizos elaborados artesanal e industrialmente envasados a distintos valores de a_w . Se muestran los valores medios obtenidos conjuntamente de los chorizos envasados en ambos tipos de atmósfera por no haber diferencias significativas entre ellos.

En el momento de envasado los mohos y levaduras presentaron recuentos entre 5 y 8 Log UFC/g, aumentando los recuentos con el descenso de la a_w (tiempo de secado). Así pues hubo un aumento en estos microorganismos a lo largo de los pocos días de secado, atribuible posiblemente más al incremento de levaduras, que al de mohos, dado el bajo potencial redox o disponibilidad de oxígeno que tienen los embutidos en su masa.

Por el contrario, a lo largo del almacenamiento en los chorizos con a_w 0,92 y 0,94 se observó un descenso de los recuentos de mohos y levaduras de varias unidades logarítmicas (2-4) con independencia del tipo de atmósfera y para los dos tipos de chorizo. Este descenso, sin embargo, no se observó en los chorizos con menor grado de secado (los de a_w 0,96). La tendencia observada en el descenso de los recuentos de mohos y levaduras en los chorizos podría deberse a dos factores principalmente, 1) temperatura de almacenamiento de los chorizos estudiados ($5 \pm 1^\circ\text{C}$), temperatura

que dista mucho de la óptima de crecimiento (por encima de los 20°C; Flores y Toldrá, 2011) y 2) la a_w también por debajo del óptimo, ya que únicamente se observaron descenso significativos a a_w de 0,94 y 0,92.

Otro factor con efecto potencial en el crecimiento de mohos y levaduras es la presencia de antifúngicos en el preparado utilizado en el chorizo industrial, que podría explicar los menores recuentos de mohos y levaduras ($P<0,05$) en este tipo de chorizo.

Tabla 31. Evolución de los recuentos de mohos y levaduras (Log UFC/g) presentes en los chorizos artesanal e industrial envasados a distintas a_w (0,96, 0,94 y 0,92)*, # durante su almacenamiento a refrigeración (hasta 42 días)

Días	0,96		0,94		0,92	
	Artesanal (n=4) [§]	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)
1	5,1 ± 0,7	4,8 ± 1,0	6,8 ± 1,0 ¹	7,1 ± 1,4 ^{1,2}	6,8 ± 1,8	7,8 ± 1,0 ¹
14	7,2 ± 1,5 ^a	4,8 ± 2,1 ^b	8,2 ± 1,3 ¹	8,3 ± 0,3 ¹	5,0 ± 1,6	6,2 ± 1,7 ^{1,2}
28	7,1 ± 1,0 ^a	4,1 ± 2,3 ^b	6,8 ± 1,4 ¹	5,8 ± 1,3 ²	6,8 ± 1,4 ^a	3,8 ± 0,5 ^{b2,3}
42	6,0 ± 1,9	4,0 ± 1,9	3,7 ± 0,8 ²	4,7 ± 1,7 ²	4,3 ± 1,8	2,9 ± 1,6 ³

* La masa inicial al momento del embutido, presentó unos recuentos de mohos y levaduras (Log UFC/g) de 5,4 en el chorizo artesanal y de 4,4 en el industrial.

Condiciones de secado: 8 ± 2°C, 60-85% HR. 1 día de secado para chorizos de a_w 0,96, de 5 a 7 días para los de 0,94 y de 10 a 14 para los de 0,92.

§ En cada columna se muestran los valores medios obtenidos de los chorizos envasados en aire y en atmósfera modificada al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera.

^{a, b}: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P<0,05$) en la prueba de Duncan.

^{1,2}: Medias dentro de cada columna con superíndice diferente presentaron diferencias significativas ($P<0,05$) en la prueba de Duncan.

4.2.2 Composición proximal, pérdidas de peso y características fisicoquímicas asociadas con la fermentación, proteólisis y lipólisis

En la Tabla 32 se muestran los resultados del análisis proximal realizado en las muestras de chorizo tanto artesanal como industrial en el día de envasado. La composición fue similar en ambos tipos de chorizo. El contenido de humedad bajó, como era de esperar, al bajar la a_w . En los chorizos con a_w de 0,96 la humedad promedio fue de aproximadamente un 52%, en los de a_w 0,94 de 43% y en los de 0,92 de 37%. Por el contrario, los porcentajes de grasa, proteína y cenizas subieron ligeramente al bajar la a_w como consecuencia de su concentración por el secado.

Debido al contenido de humedad y al cociente humedad/proteína observados en las muestras de los chorizos y teniendo en cuenta la clasificación de Adams (1986), que fue descrita en la introducción, los chorizos con a_w de 0,96 están en el límite entre no desecados y semisecos, los de 0,94 son semisecos y los de 0,92 son secos (aunque casi semisecos) por tener una humedad inferior al 40% y un cociente humedad/proteína menor a 2,3.

Tabla 32. Composición proximal de los chorizos artesanal e industrial en el día de envasado a distintos valores de a_w

	0,96		0,94		0,92	
	Artesanal (n=2)	Industrial (n=2)	Artesanal (n=2)	Industrial (n=2)	Artesanal (n=2)	Industrial (n=2)
Humedad	53,5 ± 0,5	50,6 ± 0,0	42,9 ± 2,1	43,3 ± 1,1	37,3 ± 3,2	37,9 ± 0,7
Grasa	27,2 ± 0,4	28,4 ± 1,0	33,3 ± 1,3	32,6 ± 1,8	36,6 ± 1,9	35,7 ± 1,7
Proteína	14,6 ± 0,5	15,4 ± 0,7	17,9 ± 1,1	17,7 ± 0,5	19,7 ± 1,5	19,4 ± 0,7
Cenizas	3,1 ± 0,1	3,3 ± 0,2	3,8 ± 0,0	3,8 ± 0,3	4,2 ± 0,0	4,2 ± 0,3
Humedad/ Proteína	3,7 ± 0,2	3,3 ± 0,3	2,4 ± 0,3	2,4 ± 0,0	1,9 ± 0,3	2,0 ± 0,0

En la Tabla 33 se presentan los resultados del análisis de varianza (nivel de significación) de las pérdidas de peso y de diversas características fisicoquímicas de los chorizos (pH, ácidos láctico y acético, nitrógeno no proteico, nitrógeno soluble en agua y ácidos grasos libres) para cada uno de los factores estudiados (tipo de atmósfera, tiempo de almacenamiento a refrigeración, a_w en el envasado y tipo de chorizo), así como sus interacciones dobles.

La atmósfera de envasado solo afectó a las pérdidas de peso ($P<0,001$), que como se verá más adelante fueron menores en los chorizos envasados en AM que en los controles, y al conjunto de ácidos grasos libres (AGL) cuya presencia fue más abundante en los controles. El tiempo de almacenamiento a refrigeración influyó significativamente ($P<0,001$) sobre las pérdidas de peso, el pH y los niveles de ácido láctico, nitrógeno no proteico (NNP) y AGL. La a_w en el envasado mostró influencia sobre las pérdidas de peso, el pH y el contenido de ácido láctico. Finalmente, el tipo de chorizo tuvo efecto frente a todas las características estudiadas, con excepción de

los AGL. También se observaron varias interacciones dobles especialmente en las pérdidas de peso y el pH.

Tabla 33. Resultados del análisis de varianza (nivel de significación en la comparación de medias) de las pérdidas de peso, pH, ácidos láctico y acético, nitrógeno no proteico (NNP), nitrógeno soluble en agua (NSA), de los porcentajes de distintas sumatorias de ácidos grasos libres (AGL) y las interacciones dobles entre los mismos, en base a las distintas variables estudiadas

	atm	t	a _w	ch	atm x t	atm x a _w	atm x ch	t x a _w	t x ch	a _w x ch
Pérdidas de peso	***	***	***	***	*	NS	**	***	***	***
pH	NS	*	*	*	NS	NS	NS	***	***	*
Ácido láctico	NS	***	***	***	NS	NS	NS	**	NS	NS
Ácido acético	NS	NS	NS	***	NS	*	**	**	NS	NS
NNP	NS	***	NS	*	NS	NS	NS	NS	**	**
NSA	NS	NS	NS	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS
AGL totales	*	***	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
AGL Saturados (%)	NS	NS	NS	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS
AGL Monoinsaturados (%)	NS	NS	NS	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS
AGL Poliinsaturados (%)	NS	NS	NS	***	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Nivel de significación: * $P<0,05$; ** $P<0,01$; *** $P<0,001$; NS: No existen diferencias significativas.

atm: tipo de atmósfera (control: aire y atmósfera modificada: mezcla de CO₂ al 20% y N₂ al 80%), t: tiempo de almacenamiento (1, 14, 28 y 42 días), a_w: actividad de agua en el envasado (0,96, 0,94 y 0,92), ch: tipo de chorizo (artesanal e industrial), atm x t: interacción entre atmósfera y tiempo de almacenamiento, atm x a_w: interacción entre atmósfera y actividad de agua, atm x ch: interacción entre atmósfera y tipo de chorizo, t x a_w: interacción entre tiempo de almacenamiento y actividad de agua, t x ch: interacción entre tiempo de almacenamiento y tipo de chorizo, a_w x ch: interacción entre actividad de agua y tipo de chorizo.

4.2.2.1 Pérdidas de peso

En la Tabla 34 se muestra la evolución de las pérdidas de peso de los chorizos elaborados artesanal e industrialmente envasados a distintos valores de a_w con aire o con AM (20% CO₂ y 80% N₂) y almacenados a refrigeración durante 42 días.

Se puede observar cómo, en general, las pérdidas de peso incrementaron con el tiempo de almacenamiento, alcanzándose al final del mismo valores entre 0,4 y 8%. Se asume que estas pérdidas son principalmente debidas al exudado de líquido del chorizo en la bandeja. No obstante, una parte de las pérdidas en los chorizos control se atribuye a la evaporación, ya que el film utilizado para el envasado de esos chorizos presenta una relativamente alta permeabilidad al vapor de agua, que según las especificaciones técnicas es de 140 g por m² a 24 h. Consecuentemente el tipo de atmósfera empleada afectó significativamente a las pérdidas de humedad de los

chorizos artesanal e industrial envasados a a_w de 0,94 y 0,92 (Tabla 33; $P<0,001$), encontrándose que el envasado en AM, en comparación con el control, redujo las pérdidas de peso presentadas durante el almacenamiento. En aquellos chorizos envasados a a_w de 0,96, también los de AM presentaron menores pérdidas que los controles aunque en este caso las diferencias no fueron significativas. Las diferencias entre ambos tipos de envasado se justifican por las pérdidas por evaporación debido a la permeabilidad del film antes comentada.

A medida que aumentó el tiempo de almacenamiento, las pérdidas de peso incrementaron significativamente (Tabla 33; $P<0,001$). Como era de esperar la mayor pérdida se obtuvo en los chorizos con a_w de 0,96, es decir, en los de mayor humedad y la menor en los chorizos envasados a a_w de 0,92 (los más secos). Además, en general el chorizo artesanal envasado registró más pérdidas que el industrial. Esta observación se atribuye a diferencias en la formulación relativas al uso de diversos ingredientes y aditivos que actúan como retenedores de humedad que minimizan la formación de exudado (dextrinas, gomas, absorbentes minerales) en el chorizo industrial.

Tabla 34. Pérdidas de peso (%) en los chorizos artesanal e industrial envasados a distintas a_w (0,96, 0,94 y 0,92)*, # y atmósferas durante su almacenamiento a refrigeración

Días	0,96		0,94		0,92	
	Control (n=2)	AM (n=2)	Control (n=2)	AM (n=2)	Control (n=2)	AM (n=2)
Artesanal						
1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
14	4,2 ± 1,9 ²	3,1 ± 1,6 ¹	1,9 ± 0,5 ^{a2}	0,4 ± 0,5 ^{b2}	1,6 ± 0,6 ^{a,2}	0,1 ± 0,0 ^{b,3}
28	7,6 ± 2,2 ^{1,2}	5,7 ± 2,0 ^{1,2}	3,7 ± 1,1 ^{a1,2}	1,3 ± 0,1 ^{b2}	2,2 ± 0,4 ^{a,1}	0,7 ± 0,1 ^{b,2}
42	8,4 ± 1,9 ¹	6,5 ± 1,4 ¹	4,0 ± 1,0 ^{a1}	2,1 ± 0,1 ^{b1}	2,6 ± 0,4 ^{a,1}	1,0 ± 0,0 ^{b,1}
Industrial						
1	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
14	1,1 ± 0,0 ²	1,2 ± 0,1 ²	0,9 ± 0,6 ^{a,2}	0,1 ± 0,0 ^{b2}	0,5 ± 0,1 ²	0,1 ± 0,1
28	2,1 ± 0,2 ¹	1,8 ± 0,3 ²	1,5 ± 0,6 ^{a,12}	0,4 ± 0,4 ^{b1,2}	0,9 ± 0,2 ^{a,1}	0,3 ± 0,3 ^b
42	2,8 ± 0,4 ¹	2,4 ± 0,3 ¹	1,7 ± 0,3 ^{a,1}	0,8 ± 0,1 ^{b1}	1,1 ± 0,1 ^{a,1}	0,4 ± 0,3 ^b

* Control: envasado en bandeja con film de polietileno permeable a los gases atmosféricos; AM: envasado en atmósfera modificada con CO₂ (20%) y N₂ (80%).

Condiciones de secado: 8 ± 2°C, 60-85% HR. 1 día de secado para chorizos de a_w 0,96, de 5 a 7 días para los de 0,94 y de 10 a 14 para los de 0,92.

^{a, b}: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P<0,05$) en la prueba de Duncan.

^{1,2}: Medias dentro de cada columna con superíndice diferente presentaron diferencias significativas ($P<0,05$) en la prueba de Duncan.

4.2.2.2 pH

En la Tabla 35 se muestra la evolución del pH de los chorizos elaborados artesanal e industrialmente envasados a distintos valores de a_w y almacenados a refrigeración durante 42 días. Se muestran los valores medios obtenidos conjuntamente de los chorizos envasados en ambos tipos de atmósfera por no haber diferencias significativas entre ellos.

El comportamiento del pH en los chorizos a lo largo del tiempo de almacenamiento fue variable. En los chorizos de a_w 0,96 y en el industrial de a_w 0,94 se observó una disminución significativa del pH ($P < 0,05$) a lo largo del almacenamiento (en el industrial solo hasta el día 28). En los chorizos de a_w 0,94 se observó un aumento del pH con el tiempo de almacenamiento que en el caso del chorizo industrial tuvo lugar entre el día 28 y el día 42. En los chorizos de a_w 0,92 no se modificó el valor de pH durante el almacenamiento. Para explicar esta variabilidad hay que tener en cuenta lo siguiente. El pH en los chorizos viene dado como resultado de dos fenómenos que ocurren en mayor o menor medida durante el almacenamiento. En primer lugar, la acidificación producida a partir de la fermentación de los azúcares por las BAL. En segundo lugar, la alcalinización por formación de sustancias nitrogenadas básicas como el amoníaco asociada a la degradación microbiana de aminoácidos y otros compuestos nitrogenados (Ordóñez et al., 1999).

Tabla 35. Evolución del pH en los chorizos artesanal e industrial envasados a distintos valores de a_w (0,96, 0,94 y 0,92)^{*, #} durante su almacenamiento a refrigeración

Días	0,96		0,94		0,92	
	Artesanal (n=4) [§]	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)
1	5,51 ± 0,01 ^{b1}	6,32 ± 0,05 ^{a1}	4,95 ± 0,43 ^{b2}	5,80 ± 0,57 ^{a1}	4,96 ± 0,11	5,10 ± 0,09
14	4,79 ± 0,05 ^{b2}	5,63 ± 0,52 ^{a2}	5,14 ± 0,07 ^{1,2}	5,11 ± 0,21 ^{2,3}	5,20 ± 0,11	4,98 ± 0,38
28	5,18 ± 0,17 ^{1,2}	5,26 ± 0,41 ^{2,3}	5,33 ± 0,38 ^{a1,2}	4,83 ± 0,27 ^{b3}	5,31 ± 0,12	5,12 ± 0,18
42	5,11 ± 0,15 ^{1,2}	5,05 ± 0,38 ³	5,44 ± 0,25 ¹	5,33 ± 0,21 ²	5,24 ± 0,25	5,30 ± 0,27

* La masa inicial al momento del embutido, presentó valores de pH de 5,42 en el chorizo artesanal y de 6,07 en el industrial.

Condiciones de secado: 8 ± 2°C, 60-85% HR. 1 día de secado para chorizos de a_w 0,96, de 5 a 7 días para los de 0,94 y de 10 a 14 para los de 0,92.

§ En cada columna se muestran los valores medios obtenidos de los chorizos envasados en aire y en atmósfera modificada al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera.

^{a, b}: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

^{1,2}: Medias dentro de cada columna con superíndice diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

En relación a la acidificación, de los resultados obtenidos se puede interpretar que hubo un límite mínimo de pH en torno a 4,9-5,0 para ambos tipos de chorizo que se alcanzó ya en el día de envasado (durante el secado) o a lo largo del almacenamiento, según fuese la a_w y el tipo de chorizo. El límite en el descenso de pH vendría dado, o bien por una depleción de los azúcares disponibles para la fermentación, o bien porque las BAL a ese valor de pH verían frenado su metabolismo fermentativo. El valor de ese pH final viene determinado, además de por las limitaciones metabólicas de las BAL comentadas, por el pH inicial y la capacidad tampón de la masa. En el chorizo artesanal con a_w de 0,94 y 0,92 el valor mínimo de pH se alcanzó durante el secado (antes del envasado) y en el de a_w de 0,96 (donde el secado fue muy corto o inexistente) se alcanzó durante los primeros 14 días de refrigeración. En el chorizo industrial el pH mínimo se alcanzó siempre durante el almacenamiento a refrigeración en un tiempo que dependió de la a_w : en los chorizos de a_w 0,92 este pH se alcanzó a los 14 días, en los de a_w 0,94 a los 28 y en los de a_w 0,96 a los 42 días. La diferencia en la velocidad de acidificación entre chorizo artesanal (más rápida) que en industrial (más lenta) se puede atribuir por una parte al mayor pH inicial del chorizo industrial *vs* el artesanal (6,07 *vs* 5,42), ocasionado por el uso en la formulación de sustancias minerales de naturaleza alcalina como el silicato de calcio (Anexo 2), así como al uso de conservantes. Estas observaciones corroboran lo anteriormente comentado de que las BAL siguieron fermentando los azúcares disponibles durante el almacenamiento a refrigeración ($5 \pm 1^\circ\text{C}$) de los chorizos, aunque posiblemente de forma más lenta que durante el secado, que tuvo lugar a mayor temperatura ($8 \pm 2^\circ\text{C}$).

Además, después de alcanzarse el valor de pH mínimo, el pH de los chorizos (tanto industrial como artesanal) mostró una tendencia a subir (incremento significativo, $P < 0,05$, en el caso del chorizo artesanal de a_w 0,94). Este incremento se puede atribuir a la formación de compuestos nitrogenados de carácter básico, derivados de la degradación de las proteínas (amoníaco), fruto del metabolismo microbiano (péptidos y aminoácidos), que se incrementa cuando se agotan los azúcares fermentables (Sánchez Villarraso y León Crespo, 1989; Astiasarán et al., 1990; Fernández-Fernández, et al., 1998; Ordoñez et al., 1999; Spaziani et al., 2009).

En los trabajos de Martínez et al. (2006) y Ruíz-Capillas y Jiménez-Colmenero (2010), en los que se estudia la evolución de pH en embutidos frescos envasados con aire y con distintas atmósferas, se detectó también variabilidad en el pH. En el primer estudio el pH subió (aproximadamente una unidad) durante el almacenamiento en los embutidos envasados en atmósfera normal pero no en los de AM con CO₂ y N₂, en los que el pH se mantuvo constante (valores entre 5,5 y 6). En el segundo, el pH (cercano a 6,2) no cambió durante el almacenamiento en ningún tipo de atmósfera. No se conocen datos suficientes relativos a la a_w o formulación de los embutidos de ambos estudios como para poder ahondar en causas que expliquen las discrepancias entre estudios, incluyendo lo encontrado en el presente.

4.2.2.3 Ácido láctico

En la Tabla 36 se muestra la evolución del contenido de ácido láctico de los chorizos elaborados artesanal e industrialmente envasados a distintos valores de a_w y almacenados a refrigeración. Se han calculado los valores medios obtenidos de los chorizos envasados en ambos tipos de atmósfera por no haber diferencias significativas.

En dicha tabla se pueden observar dos hechos destacables:

- i) La cantidad de ácido láctico en el día de envasado aumentó al disminuir los valores de a_w . En los chorizos de a_w 0,96, en el día de envasado la cantidad de ácido láctico fue similar a la de la masa inicial y los niveles de ácido láctico aumentaron considerablemente con el tiempo de almacenamiento. En los chorizos de a_w 0,94 y 0,92 la cantidad de ácido láctico se mantuvo prácticamente constante durante el almacenamiento. Además, al final del almacenamiento, los niveles más bajos de ácido láctico se observaron en el chorizo artesanal de a_w 0,96, en los que la producción de la mayor parte del ácido láctico tuvo lugar durante el almacenamiento a refrigeración. Por el contrario, en los chorizos con valores de a_w inferiores, la mayor parte de ácido láctico se formó durante el secado (a temperatura de $8 \pm 2^\circ\text{C}$). Esto lleva a pensar que la eficiencia en la producción de ácido láctico por las BAL a partir de los azúcares de la masa cárnica (eficiencia en la fermentación de los azúcares) tal vez sea menor a la

temperatura de refrigeración ($5 \pm 1^\circ\text{C}$) que a la temperatura de secado (3°C mayor que la de refrigeración).

- ii) La cantidad de ácido láctico fue mayor en el chorizo industrial que en el artesanal. El máximo contenido de ácido láctico del chorizo artesanal estuvo en el rango de 800-1200 mg/100 g y el del chorizo industrial entre 1200 y 1400 mg/100 g. La diferencia en el contenido de ácido láctico entre ambos tipos de chorizo se puede atribuir en gran parte a diferencias en el contenido de azúcares (Stiebing y Rödel, 1990). Debido a la formulación utilizada probablemente hubo mayor contenido de azúcares en la masa inicial del chorizo industrial (formulación con dextrosa) que en la del artesanal (sin azúcares añadidos).

Tabla 36. Evolución del contenido de ácido láctico (mg/100g) en los chorizos artesanal e industrial envasados a distintas a_w (0,96, 0,94 y 0,92)^{*,#} durante su almacenamiento a refrigeración

Días	0,96		0,94		0,92	
	Artesanal (n=4) [§]	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)
1	340 $\pm$ 10 ^{b2}	542 $\pm$ 144 ^{a2}	883 $\pm$ 112 ^b	1147 $\pm$ 43 ^a	1076 $\pm$ 85 ^b	1367 $\pm$ 87 ^a
14	797 $\pm$ 108 ¹	922 $\pm$ 45 ^{1,2}	961 $\pm$ 70 ^b	1238 $\pm$ 75 ^a	1105 $\pm$ 40	1327 $\pm$ 293
28	737 $\pm$ 109 ^{b1}	1114 $\pm$ 183 ^{a1}	981 $\pm$ 154 ^b	1268 $\pm$ 160 ^a	975 $\pm$ 349 ^b	1411 $\pm$ 89 ^a
42	780 $\pm$ 67 ^{b1}	1203 $\pm$ 144 ^{a1}	1118 $\pm$ 302	1336 $\pm$ 79	1180 $\pm$ 193	1358 $\pm$ 74

* La masa inicial al momento del embutido presentó contenidos de ácido láctico de 340 en el chorizo artesanal y de 398 mg/g en el industrial.

Condiciones de secado: $8 \pm 2^\circ\text{C}$, 60-85% HR. 1 día de secado para chorizos de a_w 0,96, de 5 a 7 días para los de 0,94 y de 10 a 14 para los de 0,92.

§ En cada columna se muestran los valores medios obtenidos de los chorizos envasados en aire y en atmósfera modificada al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera.

^{a, b}: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

^{1,2}: Medias dentro de cada columna con superíndice diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

La evolución del contenido de ácido láctico en el tiempo se ve reflejada en la evolución del pH, ya que en los embutidos ambas características están inversamente relacionadas (Lücke, 1998; Weber, 1994; Mateo et al., 1996). No obstante, las diferencias observadas en el contenido en ácido láctico entre tipos de chorizo no se reflejan en las diferencias observadas en el pH entre chorizos, ya que el chorizo industrial tuvo más contenido en ácido láctico pero su pH no fue más bajo que el del artesanal. La posible causa de esta aparente contradicción es que, como se indicó anteriormente, el chorizo industrial incluía en su formulación sustancias alcalinas (silicato de calcio) que hacen que el pH inicial de la masa sea más elevado y que

necesiten más cantidad de ácido para alcanzar un pH determinado, porque esas sustancias neutralizan parte del ácido producido.

4.2.2.4 Ácido acético

En la Tabla 37 se muestra la evolución del contenido de ácido acético de los chorizos elaborados artesanal e industrialmente envasados a distintos valores de a_w y almacenados a refrigeración. Se muestran los valores medios obtenidos conjuntamente de los chorizos envasados en ambos tipos de atmósfera por no haber diferencias significativas.

La evolución de ácido acético durante el almacenamiento a refrigeración se resume de la siguiente forma:

- i) En los chorizos de a_w 0,96 hubo una concentración inicial baja de ácido acético que aumentó con el tiempo, igualándose a los 14-28 días a la concentración de los chorizos de menor a_w .
- ii) En los chorizos de a_w 0,94 y 0,92, la concentración inicial fue superior a los de a_w 0,96 y ésta concentración se mantuvo constante a lo largo del almacenamiento.
- iii) El chorizo artesanal presentó mayor cantidad de ácido acético que el industrial.

Los dos primeros puntos se pueden discutir partiendo de la premisa que el ácido acético es un metabolito secundario de la fermentación láctica heterofermentativa. En la fermentación de embutidos, el ácido acético se suele formar en cantidades (peso a peso) de 1 a 10 o 1 a 20 en relación a la cantidad de ácido láctico (Pyrzcz y Pezacky, 1974; Mateo et al., 1996; Demeyer et al., 2000). En concordancia con esto, los chorizos con a_w 0,96 en el momento de envasado (día 1) presentaron bajos niveles de ácido acético y también de ácido láctico, comparados con el resto (otras a_w s y/o tiempos de almacenamiento), pues en ellos no tuvo lugar la fermentación láctica o ésta fue incipiente. A tiempos de almacenamiento superiores con independencia de la a_w , los niveles de ácido acético se mantuvieron constantes (no presentaron diferencias significativas a lo largo del almacenamiento), siguiendo un patrón de comportamiento similar al descrito para el ácido láctico.

El tercer punto se explica al menos parcialmente por el hecho de que se usó vinagre en la formulación del chorizo artesanal, lo que explica que la masa inicial del chorizo artesanal tuviera aproximadamente 20 mg de ácido acético por 100 g de masa, mientras que en la masa inicial del industrial solo se detectaron cantidades traza (<5 mg/100 g). No obstante, la diferencia en la cantidad de ácido acético entre ambos tipos de chorizo (después del secado y durante el almacenamiento) fue superior a la diferencia detectada en la masa inicial (15-20 mg/100 g), por lo que además de la adición de vinagre hubo algún otro factor implicado en la diferencia entre chorizo artesanal e industrial. Por otra parte, el cociente ácido acético/ácido láctico en el chorizo industrial fue bastante inferior al rango de 1/10 a 1/20 típico de los embutidos fermentados. En el chorizo industrial este cociente fue de 1/50 mientras que en el artesanal estuvo cercano al valor 1/20 (una vez descontados los 20 mg/100 g de la masa inicial presumiblemente debido a la adición de vinagre). El bajo cociente observado en el chorizo industrial podría estar relacionado con el uso de conservantes que de alguna manera hubieran modificado el metabolismo de las BAL hacia un mayor predominio de la ruta homofermentativa sobre la heterofermentativa.

Tabla 37. Evolución del contenido de ácido acético (mg/100g) en los chorizos artesanal e industrial envasados a distintas a_w (0,96, 0,94 y 0,92)^{*, #} durante su almacenamiento a refrigeración

Días	0,96		0,94		0,92	
	Artesanal (n=4) [§]	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)
1	17,6 ± 2,4 ²	2,3 ± 2,4	63,2 ± 26,0 ^a	10,9 ± 12,6 ^b	57,2 ± 6,0 ^a	23,7 ± 7,0 ^b
14	55,4 ± 16,5 ^{a1}	15,3 ± 2,4 ^b	67,9 ± 19,2 ^a	14,5 ± 12,9 ^b	68,0 ± 29,0 ^a	23,2 ± 12,7 ^b
28	65,9 ± 25,0 ^{a1}	18,7 ± 10,2 ^b	53,8 ± 25,2 ^a	16,0 ± 17,9 ^b	39,3 ± 28,4	14,8 ± 19,2
42	56,1 ± 13,8 ^{a1}	21,7 ± 15,9 ^b	55,3 ± 36,4	26,6 ± 17,9	42,9 ± 27,4	23,0 ± 20,0

* La masa inicial al momento del embutido presentó contenidos de ácido acético de 19,9 en el chorizo artesanal y menor al límite de detección (5 mg/100 g) en el industrial.

Condiciones de secado: 8 ± 2°C, 60-85% HR. 1 día de secado para chorizos de a_w 0,96, de 5 a 7 días para los de 0,94 y de 10 a 14 para los de 0,92.

§ En cada columna se muestran los valores medios obtenidos de los chorizos envasados en aire y en atmósfera modificada al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera.

^{a, b}: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

^{1,2}: Medias dentro de cada columna con superíndice diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

4.2.2.5 Nitrógeno no proteico (NNP)

La Tabla 38 recoge la evolución del % de NNP sobre nitrógeno total (NT) de los chorizos elaborados artesanal e industrialmente envasados a distintos valores de a_w y almacenados a refrigeración. Se muestran los valores medios obtenidos conjuntamente de los chorizos envasados en ambos tipos de atmósfera por no haber diferencias significativas al respecto.

El tiempo de almacenamiento tuvo un efecto significativo ($P < 0,001$; Tabla 33) sobre esta característica. El contenido en NNP aumentó durante los primeros 14 días de almacenamiento para luego permanecer constante entre valores de 11% y 13%. Así pues a lo largo de las primeras semanas de almacenamiento a refrigeración hubo un predominio de las actividades metabólicas de formación de NNP, que resultó generalmente en aumentos de 2-3 unidades porcentuales del % de NNP sobre NT.

Tabla 38. Evolución del porcentaje de nitrógeno no proteico (NNP) sobre nitrógeno total (NT) en los chorizos artesanal e industrial envasados a distintas a_w (0,96, 0,94 y 0,92)*, # durante su almacenamiento a refrigeración

Días	0,96		0,94		0,92	
	Artesanal (n=4) [§]	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)
1	10,3 ± 0,6 ²	10,5 ± 0,1 ²	10,0 ± 0,2 ²	10,9 ± 0,0 ²	9,3 ± 1,1 ^{b2}	13,1 ± 1,7 ^{a2}
14	11,4 ± 0,4 ^{1,2}	11,2 ± 0,3 ²	11,6 ± 1,0 ^{1,2}	11,8 ± 0,6 ^{1,2}	11,7 ± 0,8 ¹	12,3 ± 0,7 ^{1,2}
28	11,8 ± 0,7 ^{1,2}	12,0 ± 0,7 ^{1,2}	12,6 ± 1,0 ¹	12,3 ± 0,9 ¹	12,6 ± 0,6 ¹	13,2 ± 0,9 ¹
42	12,9 ± 0,6 ¹	12,7 ± 1,3 ¹	13,2 ± 0,3 ¹	12,9 ± 0,3 ¹	12,4 ± 1,0 ¹	12,6 ± 0,4 ¹

* La masa inicial al momento del embutido, presentó porcentajes de NNP sobre NT de 9,7 en el chorizo artesanal y de 10,8 en el industrial.

Condiciones de secado: 8 ± 2°C, 60-85% HR. 1 día de secado para chorizos de a_w 0,96, de 5 a 7 días para los de 0,94 y de 10 a 14 para los de 0,92.

§ En cada columna se muestran los valores medios obtenidos de los chorizos envasados en aire y en atmósfera modificada al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera.

^{a, b}: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

^{1,2}: Medias dentro de cada columna con superíndice diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

La cantidad de NNP sobre NT encontrada en este estudio es similar a la detectada en otros estudios de chorizos españoles en el momento del embutido (Domínguez et al., 1988; Fonseca, 2009). El aumento en NNP durante la refrigeración se puede considerar como moderado al ser bastante inferior al que se ha descrito para diversos embutidos crudos curados (García de Fernando y Fox, 1991; Hughes et al., 2002), en

los que se ha observado que el NNP llega a duplicarse durante la maduración respecto a los valores de masa inicial.

La a_w de envasado no tuvo efecto significativo sobre los niveles de NNP. Respecto al tipo de chorizo la única diferencia observada fue el mayor contenido de NNP del chorizo industrial con a_w 0,92 respecto al artesanal a la misma a_w en el día de envasado (Tabla 38).

4.2.2.6 Nitrógeno soluble en agua (NSA)

La Tabla 39 recoge la evolución del % de NSA sobre NT de los chorizos elaborados artesanal e industrialmente envasados a distintos valores de a_w y almacenados a refrigeración. Se muestran las medias obtenidas conjuntamente de los chorizos envasados en ambos tipos de atmósfera por no haber diferencias significativas.

El porcentaje de NSA no presentó un cambio significativo a lo largo del almacenamiento en ningún tipo de chorizo y a_w de envasado. Se observó en general un mayor % de NSA sobre NT en el chorizo industrial que en el artesanal, aunque solo hubo diferencias significativas en los chorizos envasados a a_w de 0,96 en el primer día de almacenamiento.

Tabla 39. Evolución del porcentaje de nitrógeno soluble en agua (NSA) sobre nitrógeno total (NT) en los chorizos artesanal e industrial envasados a distintas a_w (0,96, 0,94 y 0,92)*, # durante su almacenamiento a refrigeración

Días	0,96		0,94		0,92	
	Artesanal (n=4) [§]	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)
1	19,4 ± 1,2 ^b	24,4 ± 0,4 ^a	23,0 ± 1,4	24,8 ± 3,7	21,7 ± 3,3	24,3 ± 5,0
14	19,3 ± 3,1	24,2 ± 3,5	21,3 ± 1,9	23,2 ± 2,9	24,0 ± 3,2	24,8 ± 4,4
28	20,6 ± 2,1	23,0 ± 1,2	22,7 ± 3,4	24,0 ± 2,3	23,5 ± 2,7	25,1 ± 4,3
42	22,7 ± 3,1	23,9 ± 1,5	24,6 ± 2,9	24,2 ± 2,0	24,1 ± 2,5	24,0 ± 0,5

* La masa inicial al momento del embutido presentó porcentajes de NSA sobre NT de 22,5 en el chorizo artesanal y de 27,2 en el industrial.

Condiciones de secado: 8 ± 2°C, 60-85% HR. 1 día de secado para chorizos de a_w 0,96, de 5 a 7 días para los de 0,94 y de 10 a 14 para los de 0,92.

§ En cada columna se muestran los valores medios obtenidos de los chorizos envasados en aire y en atmósfera modificada al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera.

^{a, b}: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

^{1, 2}: Medias dentro de cada columna con superíndice diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

4.2.2.7 Ácidos grasos libres

En la Tabla 40 se muestra la evolución de los AGL, expresados como % sobre grasa total, de los chorizos elaborados artesanal e industrialmente, envasados a distintos valores de a_w en bandeja con aire o con AM (20% CO₂ y 80% N₂) y almacenados a refrigeración durante 42 días.

Se puede constatar que los niveles de AGL en el día de envasado aumentaron a medida que descendió la a_w de los chorizos, lo que indica que durante el secado, de 0,96 a 0,92, tuvo lugar una lipólisis responsable de la formación de aproximadamente un 1% de AGL sobre grasa total. Durante el almacenamiento a refrigeración la lipólisis siguió activa observándose incrementos de los niveles de AGL sobre grasa muy variables (entre 0,7 a 6% desde el día de envasado hasta el día 42).

Tabla 40. Evolución del contenido en ácidos grasos libres totales (g/100g de grasa) de los chorizos artesanal e industrial envasados a distintas a_w (0,96, 0,94 y 0,92)^{*, #} durante su almacenamiento a refrigeración (hasta 42 días) en función del tipo de envasado[§]

Días	0,96		0,94		0,92	
	Control (n=2)	AM (n=2)	Control (n=2)	AM (n=2)	Control (n=2)	AM (n=2)
Artesanal						
1	1,4 ± 0,1 ²	1,4 ± 0,1	1,8 ± 0,5	1,8 ± 0,5	2,4 ± 0,4	2,4 ± 0,4
14	1,4 ± 0,4 ¹	1,8 ± 0,8	2,7 ± 0,6	2,9 ± 0,3	2,9 ± 0,1	2,8 ± 0,0
28	4,6 ± 2,6 ^{1,2}	2,2 ± 1,0	4,3 ± 0,4	3,2 ± 0,6	3,6 ± 0,3	3,2 ± 0,2
42	7,3 ± 3,2 ^{a1}	3,2 ± 1,3 ^b	5,4 ± 0,8	3,3 ± 0,7	4,0 ± 0,9	3,5 ± 0,0
Industrial						
1	1,5 ± 0,4	1,5 ± 0,4	1,7 ± 0,4 ¹	1,7 ± 0,4	2,2 ± 0,2	2,2 ± 0,2
14	1,8 ± 0,3	1,6 ± 0,2	2,4 ± 1,1 ^{1,2}	2,3 ± 0,8	2,8 ± 0,4	2,7 ± 0,0
28	3,0 ± 0,4	2,2 ± 0,2	5,3 ± 2,1 ^{1,2}	2,8 ± 0,4	3,1 ± 0,1	3,0 ± 0,3
42	4,0 ± 2,0	2,8 ± 0,4	7,0 ± 3,3 ^{a2}	3,0 ± 0,0 ^b	2,9 ± 0,1	3,1 ± 0,4

* La masa inicial al momento del embutido presentó un porcentaje de ácidos grasos libres sobre grasa total de 1,2 en el chorizo artesanal y 1,4 en el chorizo industrial.

Condiciones de secado: 8 ± 2°C, 60-85% HR. 1 día de secado para chorizos de a_w 0,96, de 5 a 7 días para los de 0,94 y de 10 a 14 para los de 0,92.

§ Control: envasado en bandeja con film de polietileno permeable a los gases atmosféricos; AM: envasado en atmósfera modificada con 20% de CO₂ y 80% de N₂.

^{a, b}: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

^{1,2}: Medias dentro de cada columna con superíndice diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

Analizando la cuantía de estos incrementos se observa que la lipólisis en los chorizos controles al final del almacenamiento fue más intensa que en los envasados en atmósferas modificadas. Además se aprecia que en los chorizos controles, la lipólisis

a_{ws} 0,96 y 0,94 fue más intensa que a 0,92, mientras que en los chorizos con AM la lipólisis fue independiente de la a_w.

El efecto la AM sobre la lipólisis puede deberse a cierta acción inhibidora del CO₂ de forma directa (enzimas) o indirecta (microorganismos) sobre la actividad enzimática lipolítica. El efecto negativo de la presencia de CO₂ en la atmósfera sobre la lipólisis en embutidos madurados ha sido observado en los estudios de Fernández-Fernández et al. (2002) y Fonseca (2009). Estos autores determinaron que las reacciones lipolíticas en las muestras de chorizos envasados en atmósfera modificada con CO₂ tuvieron menor desarrollo que en chorizos envasados al aire.

En relación a los porcentajes de las sumatorias de AGL saturados (AGLS), mono (AGLMI) y poliinsaturados (AGLPI) sobre los AGL totales (AGLT), se observó que no hubo variación con respecto al tipo de atmósfera, al tiempo de almacenamiento ni a la a_w del envasado (Tabla 33). Es sabido que la lipólisis en los embutidos fermentados y/o madurados es más activa sobre los ácidos grasos poliinsaturados que sobre el resto de ácidos grasos (Navarro et al., 1997; Hierro et al., 1997; Demeyer et al., 2000) por lo que cabría esperar un incremento en el % de AGLPI a medida que avanzase la lipólisis (al aumentar el tiempo de secado y almacenamiento). Sin embargo, por otra parte, con el tiempo cabe esperar que haya oxidación lipídica en el embutido que afecta sobre todo a los AGLPI, provocando su disminución progresiva. Al no haberse observado cambio significativo en los % de AGLPI (y tampoco en los % de AGLS y AGLMI) durante el tiempo de almacenamiento, ni por aumento ni por disminución, cabe pensar que su formación y desaparición podrían estar equilibradas.

El tipo de chorizo mostró un claro efecto sobre la cantidad de AGL totales y en los porcentajes de las sumatorias antes mencionadas. En la Tabla 41 se muestra el % en peso de los AGL mayoritarios sobre grasa del embutido y % de las sumatorias respecto a los AGLT obtenidos en el chorizo artesanal, por una parte, e industrial, por otra. Estos valores se han calculado a partir de todas las medidas realizadas (todas las muestras) con independencia de atmósfera, a_w y tiempo de

almacenamiento. El chorizo artesanal mostró un mayor porcentaje de C18:0, representante principal de los AGLS y menor de C18:2, que representa a los AGLPI.

Tabla 41. Medias y desviaciones estándar de los % de ácidos grasos libres mayoritarios y de las sumatorias de ácidos grasos libres saturados, monoinsaturados y poliinsaturados sobre el total de ácidos grasos libres obtenidas de las muestras analizadas de los chorizos artesanal e industrial

Ácidos grasos	Chorizo artesanal (n=48) ^{&}	Chorizo industrial (n=48)
C14:0	1,6 ± 0,6	1,5 ± 0,3
C16:0	21,4 ± 1,9	21,5 ± 1,7
C18:0	6,7 ± 2,4 ^a	5,0 ± 1,2 ^b
C18:1	45,1 ± 3,0	44,7 ± 2,1
C18:2	19,5 ± 1,2 ^b	24,4 ± 2,9 ^a
C18:3	1,2 ± 0,4	1,0 ± 0,5
% Saturados	31,1 ± 2,8 ^a	29,4 ± 2,2 ^b
% Monoinsaturados	47,0 ± 3,4	45,9 ± 2,1
% Poliinsaturados	21,9 ± 1,7 ^b	26,7 ± 3,7 ^a

[&] Se muestran los valores medios obtenidos de los chorizos envasados en las dos atmósferas, a las tres a_w y a los cuatro tiempos estudiados, ya que ninguno de estos factores mostró efecto significativo sobre el porcentaje de ácidos grasos libres.

^{a, b}: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

Es difícil poder explicar el por qué de las diferencias entre chorizos. Para ello hay que recurrir las características específicas de la formulación y/o del proceso de elaboración. La Figura 16 muestra la evolución de los porcentajes de las sumatorias de AGL sobre AGLT y en ella se puede observar que las diferencias entre chorizos vienen ya dadas desde el momento del envasado (día 1) y por lo tanto esas diferencias habrían aparecido ya durante el secado de los chorizos. Tal vez la explicación más viable de la diferencia entre chorizos sea que durante el secado (hasta llegar a los valores de a_w deseados) hubo mayor oxidación (y por lo tanto pérdida porcentual) de los ácidos grasos poliinsaturados en los chorizos artesanales que en los industriales. La presencia de nitritos (que como se sabe tienen efecto antioxidante) o la mayor ligazón de la masa (menor oxígeno residual) podrían explicar la diferencia en el grado de oxidación durante el secado.

Figura 16. Evolución de los % de los ácidos grasos libres saturados (arriba), monoinsaturados (en el medio) y poliinsaturados (abajo) de los chorizos artesanal (Ch art) e industrial (Ch ind). Se han tomado en cada gráfica los valores conjuntos de las tres a_w estudiadas, por lo tanto cada curva está basada en las medidas de 12 muestras.

4.2.3 Aminas biógenas

En la Tabla 42 se presentan los resultados del análisis de varianza (nivel de significación) de la concentración de aminas biógenas en los chorizos frescos para cada uno de los factores estudiados y sus interacciones dobles. El tipo de atmósfera en el envasado no afectó a la cantidad de monoaminas (tiramina e histamina). Sin embargo, el tiempo de almacenamiento y la a_w del envasado influyeron sobre dicha cantidad. Además, el tipo de chorizo mostró un efecto significativo sobre la cantidad de tiramina.

En relación a las di y poliaminas, la atmósfera ejerció un efecto significativo solo sobre la cantidad de espermina, el tiempo de almacenamiento afectó a las concentraciones de putrescina, cadaverina y espermina, la a_w de envasado a la concentración de espermidina y finalmente el tipo de chorizo a las concentraciones de putrescina y espermidina.

Se han llevado a cabo diversos trabajos de investigación sobre aminas biógenas en embutidos crudos (frescos o madurados) para conocer los factores tecnológicos que pueden influir en su formación, por ejemplo el uso de cepas de BAL no productoras de aminas como cultivos iniciadores, composición (azúcares, nitritos, sal, aminoácidos libres) o pH del embutido (Latorre-Moratalla et al., 2008 y 2010; Casquete et al., 2011), tiempos y temperaturas de maduración (Latorre-Moratalla et al., 2008; Casquete et al., 2011), o tipo de AM durante la conservación a refrigeración (Ruiz-Capillas y Jiménez-Colmenero, 2010). El presente estudio se suma a los mencionados y de los resultados obtenidos en el mismo se desprende que la formulación, el tiempo de almacenamiento y la a_w son algunos de los factores tecnológicos que podrían ser tomados en cuenta para la disminución del contenido de aminas biógenas en los chorizos frescos almacenados a refrigeración.

Tabla 42. Resultados del análisis de varianza (nivel de significación en la comparación de medias) del contenido en aminas biógenas (tiramina, histamina, putrescina, cadaverina, espermidina y espermina) en base a los distintos factores evaluados y las interacciones dobles entre los mismos

	Atm	t	a _w	ch	atm x t	atm x a _w	atm x ch	t x a _w	t x ch	a _w x ch
<u>Monoaminas</u>										
Tiramina	NS	***	**	***	NS	NS	NS	**	***	NS
Histamina	NS	***	**	NS	NS	NS	NS	*	NS	***
<u>Di y poliaminas</u>										
Putrescina	NS	*	NS	***	NS	NS	NS	*	*	**
Cadaverina	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	**	NS
Espermidina	NS	NS	**	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Espermina	*	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*	NS

Nivel de significación: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; NS: No existen diferencias significativas.

atm: tipo de atmósfera (control: aire y atmósfera modificada: mezcla de CO₂ al 20% y N₂ al 80%), t: tiempo de almacenamiento (1, 14, 28 y 42 días), a_w: actividad de agua en el envasado (0,96, 0,94 y 0,92), ch: tipo de chorizo (artesanal e industrial), atm x t: interacción entre atmósfera y tiempo de almacenamiento, atm x a_w: interacción entre atmósfera y actividad de agua, atm x ch: interacción entre atmósfera y tipo de chorizo, t x a_w: interacción entre tiempo de almacenamiento y actividad de agua, t x ch: interacción entre tiempo de almacenamiento y tipo de chorizo, a_w x ch: interacción entre actividad de agua y tipo de chorizo.

4.2.3.1 Monoaminas (tiramina e histamina)

La Tabla 43 recoge la evolución del contenido en tiramina (mg/kg) de los chorizos elaborados artesanal e industrialmente envasados a distintos valores de a_w y almacenados a refrigeración. Se muestran los valores medios obtenidos conjuntamente de los chorizos envasados en ambos tipos de atmósfera por no haber diferencias significativas.

Los niveles de tiramina aumentaron de forma gradual y progresiva durante el secado (a menor a_w de envasado más tiramina) y el almacenamiento de los chorizos. Los incrementos de tiramina durante el almacenamiento a refrigeración fueron mayores cuanto más alta fue la a_w del chorizo y fueron mayores en el chorizo artesanal que en el industrial.

La tiramina es la monoamina más abundante en los embutidos crudos madurados (Vidal-Carou et al., 1990; Maijala y Eerola, 1993; Demeyer et al., 2000; Bover-Cid et al., 2001a; González-Fernández et al., 2003; Suzzi y Gardini, 2003; Ruiz-Capillas y Jiménez-Colmenero, 2004a) y lo fue también en los chorizos frescos de este estudio. El aumento en el contenido de tiramina durante la maduración de los embutidos crudos curados, y presumiblemente durante el almacenamiento de los embutidos

frescos, se relaciona con procesos de descarboxilación de la tirosina debidos a la acción metabólica de las BAL (Eerola et al., 1996), que como se indicó anteriormente fue la microbiota más abundante en los embutidos refrigerados.

Tabla 43. Evolución del contenido en tiramina (mg/kg) de los chorizos artesanal e industrial envasados a distintas a_w (0,96, 0,94 y 0,92)^{*,#} durante su almacenamiento a refrigeración

Días	0,96		0,94		0,92	
	Artesanal (n=4) [§]	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)
1	21,6 ± 8,7 ⁴	35,5 ± 22,9 ²	97,2 ± 1,7 ³	69,7 ± 8,8 ²	114,4 ± 0,1 ²	99,5 ± 2,4
14	123,2 ± 14,4 ³	70,2 ± 13,3 ^{1,2}	155,8 ± 41,5 ^{2,3}	98,0 ± 14,9 ^{1,2}	165,4 ± 9,1 ^{1,2}	146,9 ± 68,8
28	210,1 ± 20,8 ^{a2}	101,4 ± 21,3 ^{b1}	187,7 ± 78,4 ^{1,2}	135,2 ± 38,7 ¹	212,2 ± 41,7 ^{a1}	132,8 ± 8,9 ^b
42	280,9 ± 9,5 ^{a1}	121,1 ± 27,4 ^{b1}	241,9 ± 83,6 ^{a1}	153,4 ± 55,0 ^{b1}	207,7 ± 21,8 ^{a1}	130,6 ± 26,5 ^b

* La masa inicial al momento del embutido presentó un contenido en tiramina (mg/kg) de 14,0 en el chorizo artesanal y de 20,1 en el industrial.

Condiciones de secado: 8 ± 2°C, 60-85% HR. 1 día de secado para chorizos de a_w 0,96, de 5 a 7 días para los de 0,94 y de 10 a 14 para los de 0,92.

§ En cada columna se muestran los valores medios obtenidos de los chorizos envasados en aire y en atmósfera modificada al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera.

^{a, b}: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

^{1,2}: Medias dentro de cada columna con superíndice diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

Los niveles de tiramina alcanzados en los embutidos frescos almacenados a refrigeración durante 28 días o más son comparables a los valores observados en embutidos crudos madurados, cuyos valores estuvieron comprendidos entre 200-600 mg/kg (Suzzi y Gardini, 2003; Ruiz-Capillas y Jiménez-Colmenero, 2004a; Roseiro et al., 2010).

Los valores de tiramina encontrados en los chorizos almacenados a refrigeración durante 2 o más semanas se pueden considerar como potencialmente nocivos para la salud humana (Bardócz, 1995; Silla-Santos, 1996; Shalaby, 1996; Demeyer et al., 2000; González-Fernández et al., 2003).

El efecto de la a_w sobre la producción de tiramina durante el almacenamiento a refrigeración podría ser debido a que los valores más elevados de a_w favorecieron la actividad metabólica de las BAL.

Teniendo en cuenta estos resultados, desde un punto de vista sanitario, sería aconsejable fijar un máximo de a_w en el chorizo envasado con larga fecha de caducidad o reducir la misma, para evitar la formación de elevadas cantidades de aminas biógenas.

Además, considerando que las aminas biógenas se forman incluso a refrigeración, se debería bajar al máximo la temperatura durante el almacenamiento y evitar descuidos en la cadena del frío, debido a que la formación de aminas biógenas está directamente relacionada con la temperatura de conservación (Komprda et al., 2001).

El efecto del tipo de chorizo sobre la producción de aminas biógenas debe de estar asociado a diferencias en el desarrollo y metabolismo microbiano. Un aspecto que podría haber marcado estas diferencias es la presencia de conservantes en la formulación del chorizo industrial que pudiera ser la causa de una menor actividad descarboxilante de la tirosina por ralentización del desarrollo microbiano, disminución del potencial enzimático frente a esta reacción o selección de cepas sin capacidad de utilizar dicho aminoácido.

En relación a la histamina, la cuantificación de esta monoamina solo fue posible en los chorizos de a_w 0,96 y 0,94 y a partir de los 28 días de almacenamiento a refrigeración (datos no mostrados en tablas). Su cantidad fue en promedio de 22 mg/kg y siempre inferior a 70 mg/kg, por lo que se puede considerar que su formación y presencia fueron de poca relevancia. La cantidad de histamina fue siempre inferior a los límites establecidos por diversos organismos internacionales (FDA y EFSA), que establecen como límite máximo 100 mg/kg en los alimentos (Ruiz-Capillas y Jiménez-Colmenero, 2004a).

Los valores de histamina estuvieron dentro del amplio rango observado en embutidos crudos curados (0-360 mg/kg; Suzzi y Gardini, 2003), aunque en la parte baja del mismo. En los embutidos, la presencia de bajos niveles de histamina se han relacionado con la existencia de condiciones desfavorables para el crecimiento de enterobacterias (Halász et al., 1994), ya que este grupo microbiano puede ser responsable de la formación de altos niveles de histamina en los alimentos. Esta pudo ser una causa de la relativamente baja cantidad de histamina encontrada en los chorizos estudiados.

4.2.3.2 Diaminas (putrescina y cadaverina) y poliaminas (espermidina y espermina)

En la Tabla 44 se muestra la evolución el contenido en putrescina y cadaverina (mg/kg) de los chorizos elaborados artesanal e industrialmente, envasados a distintos valores de a_w y almacenados a refrigeración. Los valores de la tabla son las medias obtenidas de los chorizos envasados en ambos tipos de atmósfera (aire y AM) por no haber diferencias significativas.

Los niveles de estas diaminas están en la parte baja de los rangos encontrados en embutidos fermentados (Latorre-Moratalla et al., 2008), siendo los rangos de 1 a 238 mg/kg para la putrescina y 0 a 611 mg/kg para la cadaverina. Al igual que en la mayoría de los embutidos fermentados, la cadaverina fue la segunda amina biógena en importancia cuantitativa después de la tiramina. Los bajos niveles de estas aminas biógenas observados en este trabajo pueden estar relacionados con la temperatura de almacenamiento, debido a que la temperatura es un factor decisivo en la formación de estas aminas como lo han observado otros autores (Halász, et al., 1994).

Las cantidades de putrescina y cadaverina siguieron un patrón de comportamiento similar. Ambas presentaron bastante variabilidad entre lotes. Los niveles de estas aminas biógenas se incrementaron con el tiempo de almacenamiento en el chorizo artesanal de a_w 0,96, llegando a alcanzar valores de 80 mg/kg (putrescina) y 58 mg/kg (cadaverina). En el resto (en el chorizo artesanal de a_w 0,94 y 0,92 y en el chorizo industrial) los niveles de estas aminas biógenas se mantuvieron constantes durante el almacenamiento. Las cantidades de putrescina y cadaverina se vieron afectadas por el tipo de chorizo (en el caso de la cadaverina las diferencias no fueron significativas). Se observó en los chorizos de a_w 0,96 al final del almacenamiento una mayor cantidad en el artesanal que en el industrial. La diferencia entre tipos de chorizo puede atribuirse a variaciones en las materias primas utilizadas. Una de ellas es la presencia de nitritos en el chorizo industrial que no tuvo el artesanal. Apoyando esta idea, en un estudio sobre embutidos crudos curados españoles se ha atribuido a los nitritos un efecto reductor de las cantidades de putrescina y cadaverina (Cantoni, 1994).

Tabla 44. Evolución del contenido en putrescina y cadaverina (mg/kg) de los chorizos artesanal e industrial envasados a distintas a_w (0,96, 0,94 y 0,92)*, # durante su almacenamiento a refrigeración

Días	0,96		0,94		0,92	
	Artesanal (n=4) §	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)
Putrescina						
1	11,0 ± 3,1 ³	4,3 ± 2,5	14,6 ± 4,1	4,9 ± 5,7	16,6 ± 5,9	5,2 ± 6,0
14	26,3 ± 10,7 ^{2,3}	4,9 ± 4,8	31,2 ± 17,7	5,1 ± 5,9	16,2 ± 5,9	4,9 ± 6,0
28	39,3 ± 25,1 ^{a2}	5,2 ± 6,0 ^b	28,0 ± 18,9	5,6 ± 6,5	20,9 ± 10,9	6,5 ± 7,6
42	80,2 ± 58,9 ^{a1}	5,7 ± 10,0 ^b	17,3 ± 11,6	5,7 ± 6,6	21,8 ± 7,3	7,2 ± 8,4
Cadaverina						
1	10,5 ± 9,8 ³	23,1 ± 9,2	20,5 ± 3,5	24,3 ± 7,5	19,1 ± 2,4	23,2 ± 8,6
14	33,7 ± 14,3 ²	28,3 ± 16,6	27,3 ± 5,7	30,3 ± 9,5	24,8 ± 6,0	30,4 ± 10,4
28	38,9 ± 12,0 ²	26,6 ± 13,7	31,4 ± 6,6	30,2 ± 9,3	28,0 ± 7,3	23,9 ± 6,2
42	58,5 ± 34,8 ¹	23,5 ± 6,2	36,4 ± 9,8	27,8 ± 9,7	24,7 ± 6,8	24,9 ± 4,9

* La masa inicial al momento del embutido presentó un contenido en putrescina (mg/kg) de 10,6 y 4,0 mg/kg en chorizo artesanal e industrial, respectivamente, y de cadaverina (mg/kg) de 4,5 y 7,0 en chorizo artesanal e industrial, respectivamente.

Condiciones de secado: 8 ± 2°C, 60-85% HR. 1 día de secado para chorizos de a_w 0,96, de 5 a 7 días para los de 0,94 y de 10 a 14 para los de 0,92.

§ En cada columna se muestran los valores medios obtenidos de los chorizos envasados en aire y en atmósfera modificada al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera.

a, b: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

1,2: Medias dentro de cada columna con superíndice diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

La presencia de altas cantidades de diaminas y especialmente de cadaverina se ha asociado a mala calidad higiénica de las materias primas y manipulación (Latorre-Moratalla et al., 2008). En este sentido, en su formación tienen protagonismo las enterobacterias tales como *Kluyvera intermedia*, *Enterobacter spp*, *Yersinia spp*, *Serratia spp*, (Halász et al., 1994; Bover-Cid et al., 2001b; Suzzi y Gardini, 2003; Curiel et al., 2011). Analizando los resultados del presente estudio se puede decir que hay cierta relación entre los contenidos de enterobacterias y de diaminas ya que en el chorizo artesanal de a_w 0,96, donde hubo acumulación de diaminas, las enterobacterias sobrevivieron mejor (los recuentos fueron ligeramente mayores) que en el resto.

Las poliaminas (espermidina y espermina) son aminas consideradas como fisiológicas que están presentes en cantidades considerables en la carne fresca recién obtenida (Suzzi y Gardini, 2003) y debido a que no son producto de la descarboxilación enzimática de aminoácidos, se ha observado que sus niveles suelen mantenerse constantes a lo largo del proceso de maduración de los embutidos (Halász et al., 1994; Bover-Cid et al., 2001a; Latorre-Moratalla et al., 2008). Sin embargo, la información sobre los cambios en los contenidos de estas aminas durante la conservación de alimentos de origen animal no es clara y presenta discrepancias.

Se han descrito comportamientos diversos (mantenimiento, incremento o decremento) en la concentración de estas aminas biógenas durante el almacenamiento de carne o pescado (Kalač y Krausová, 2005).

En el presente estudio la concentración de espermidina no se vio afectada por el tiempo de almacenamiento (Tabla 42), lo que corrobora el hecho antes mencionado de que los niveles de esta amina biógena se suelen mantener constantes durante la fermentación. La concentración encontrada en los chorizos está dentro del rango encontrado (5 y 12,5 mg/kg) por otros autores en embutidos crudos curados (Hernández-Jover et al., 1997; Fonseca, 2009; Casquete et al., 2011).

La a_w de envasado mostró efecto significativo (Tabla 42); la concentración de espermidina fue menor en los chorizos de a_w 0,96 que en los de a_w menor. Este efecto se puede explicar sencillamente por la mayor pérdida de humedad por evaporación (y por tanto mayor concentración de los componentes de la materia seca) debida al secado que experimentaron los chorizos de menor a_w antes del envasado.

El chorizo artesanal presentó mayor cantidad que el industrial (Tabla 45). Esto (asumiendo que la cantidad de espermidina está ligada a la cantidad de carne) tal vez se deba a la menor concentración de carne en la formulación de los últimos, atribuible a la presencia de mayor número de ingredientes no cárnicos utilizados en ésta (sales, azúcares, gomas, etc.).

Tabla 45. Contenido de espermidina (mg/kg) en función de la actividad de agua (0,96, 0,94 y 0,92)^{*,#} y tipo de chorizo

Actividad de agua	0,96	0,94	0,92
Artesanal (n=16) [§]	8,5 ± 4,5 ^b	13,5 ± 2,6 ^{a1}	13,5 ± 4,7 ^{a1}
Industrial (n=16)	7,7 ± 2,9 ^b	10,2 ± 2,6 ^{a,b2}	10,7 ± 1,6 ^{a2}

* La masa inicial al momento del embutido presentó un contenido en espermidina (mg/kg) de 6,3 y 7,3 mg/kg en chorizo artesanal e industrial, respectivamente.

Condiciones de secado: 8 ± 2°C, 60-85% HR. 1 día de secado para chorizos de a_w 0,96, de 5 a 7 días para los de 0,94 y de 10 a 14 para los de 0,92.

§ Se muestran los valores medios obtenidos de los chorizos envasados en aire y en AM en todos los tiempos de almacenamiento.

^{a,b}: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

^{1,2}: Medias dentro de cada columna con superíndice diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

La espermina, al contrario que la espermidina, sí se vio afectada por la atmósfera y el tiempo de almacenamiento (Tabla 42) pero no por la a_w o el tipo de chorizo. La Tabla

46 muestra el contenido en espermina de los chorizos de acuerdo a esas dos variables. La espermina aumentó ligeramente con el tiempo de conservación, siendo este aumento significativo en los chorizos envasados en AM. Las cantidades de espermina en los chorizos frescos estuvieron dentro del rango encontrado en embutidos fermentados, donde los valores medios se cifran en torno a 35 mg/kg (Suzzi y Gardini, 2003).

Tabla 46. Contenido de espermina (mg/kg) en función de la atmósfera de envasado (0,96, 0,94 y 0,92)^{*, #} y tiempo de almacenamiento a refrigeración

Día	Control (n=12) [§]	Atmósfera modificada (n=12)
1	37,4 ± 10,0	37,4 ± 10,0 ²
14	42,2 ± 7,3	42,2 ± 8,9 ^{1,2}
28	41,4 ± 7,0	45,9 ± 10,1 ¹
42	42,2 ± 8,9 ^b	50,7 ± 8,6 ^{a1}

* La masa inicial al momento del embutido presentó un contenido en espermina (mg/kg) de 29,1 en promedio de chorizo artesanal e industrial.

Condiciones de secado: 8 ± 2°C, 60-85% HR. 1 día de secado para chorizos de a_w 0,96, de 5 a 7 días para los de 0,94 y de 10 a 14 para los de 0,92.

§ Se muestran los valores medios obtenidos de los chorizos envasados a las tres distintas a_w estudiadas (0,96, 0,94 y 0,92) y los dos tipos (artesanal e industrial).

^{a, b}: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

^{1,2}: Medias dentro de cada columna con superíndice diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

4.2.4 Evaluación instrumental del color

En la Tabla 47 se muestran los niveles de significación para los distintos factores estudiados y sus interacciones dobles obtenidos mediante análisis de varianza a partir de las medidas del color instrumental en masa y superficie de los chorizos envasados y almacenados a refrigeración.

El color de la masa no se vio afectado de forma significativa por el tipo de atmósfera ni por el tiempo de almacenamiento. Por el contrario, se vio influenciado ($P < 0,05$) por la a_w en el envasado y el tipo de chorizo. En relación al color en superficie, todas las variables estudiadas mostraron efecto significativo sobre los parámetros del color. De esta forma, la atmósfera tuvo efecto sobre el parámetro a*, el tiempo y la a_w sobre L*, a* y b* y el tipo de chorizo sobre a* y b*.

Tabla 47. Resultados (nivel de significación en la comparación de medias) del análisis de varianza de las medidas del color (interno o masa y externo o superficie) en base a los distintos factores evaluados y las interacciones dobles entre los mismos

	atm	t	a _w	ch	atm x t	atm x a _w	Atm x ch	t x a _w	t x ch	a _w x ch
Color en masa										
L*	NS	NS	***	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS
a*	NS	NS	***	***	NS	NS	NS	NS	NS	NS
b*	NS	NS	***	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Color en superficie										
L*	NS	***	***	NS	NS	NS	NS	NS	NS	*
a*	***	*	***	***	NS	NS	NS	NS	NS	NS
b*	NS	***	***	***	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Nivel de significación: * $P < 0,05$; ** $P < 0,01$; *** $P < 0,001$; NS: No existen diferencias significativas.

atm: tipo de atmósfera (control: aire y atmósfera modificada: mezcla de CO₂ al 20% y N₂ al 80%), t: tiempo de almacenamiento (1, 14, 28 y 42 días), a_w: actividad de agua en el envasado (0,96, 0,94 y 0,92), ch: tipo de chorizo (artesanal e industrial), atm x t: interacción entre atmósfera y tiempo de almacenamiento, atm x a_w: interacción entre atmósfera y actividad de agua, atm x ch: interacción entre atmósfera y tipo de chorizo, t x a_w: interacción entre tiempo de almacenamiento y actividad de agua, t x ch: interacción entre tiempo de almacenamiento y tipo de chorizo, a_w x ch: interacción entre actividad de agua y tipo de chorizo.

4.2.4.1 Color en la masa

Los parámetros L*, a* y b* del color de la masa de los chorizos se mantuvieron en valores constantes durante el almacenamiento a refrigeración con independencia del tipo de atmósfera utilizada. Consecuentemente, en la Tabla 48 se muestran los valores de dichos parámetros en función de la a_w y el tipo de chorizo. El valor L* descendió con la a_w de envasado (con el tiempo de secado) tanto en el chorizo artesanal como en el industrial, lo que se puede atribuir a la pérdida de humedad con el correspondiente oscurecimiento de la masa (Pérez-Álvarez, 1996; Fernández-Fernández et al., 1998).

El valor a* también experimentó un decremento a medida que bajó la a_w, lo que indica una pérdida de la intensidad de color rojo (generado por los pigmentos correspondientes) en ese periodo de secado. Los pigmentos rojos principales en el chorizo son aquellos proporcionados por el chile (*Capsicum annuum*), principalmente carotenoides, agregado al chorizo y también los derivados de la mioglobina. Los mecanismos que podrían explicar esta pérdida de color al bajar la a_w (en el secado) son de diversa naturaleza como oxidaciones, la desnaturalización proteica ocasionada por la acidificación, degradación de pigmentos por causa microbiana o

reacciones químicas diversas no oxidativas (Fernández-López, 1998; Pérez-Álvarez et al., 1999; Gómez et al., 2001).

Finalmente, el valor b^* también descendió progresivamente con la a_w lo que indica que la intensidad de los tonos amarillos bajó, lo que probablemente esté relacionado con el descenso en los valores de a^* . Diversos estudios de evolución del color durante la maduración de los embutidos coinciden al señalar una relación entre a^* y b^* (Fernández-Fernández et al., 1998; Casaburi et al., 2007).

Tabla 48. Parámetros del color (L^* , a^* y b^*) de la masa del embutido en función de la actividad de agua (0,96, 0,94 y 0,92)^{},[#] y tipo de chorizo**

Actividad de agua	0,96	0,94	0,92
L^*			
Artesanal (n=16) ^{\$}	45,3 ± 1,3 ^a	41,2 ± 2,4 ^b	35,7 ± 2,6 ^{c2}
Industrial (n=16)	46,7 ± 2,1 ^a	42,2 ± 3,0 ^b	37,6 ± 2,9 ^{c1}
a^*			
Artesanal (n=16)	23,3 ± 1,6 ^{a2}	22,1 ± 1,8 ^{a2}	19,1 ± 2,2 ^{b2}
Industrial (n=16)	26,8 ± 3,9 ^{a1}	26,3 ± 3,3 ^{a1}	24,1 ± 3,7 ^{b1}
b^*			
Artesanal (n=16)	19,8 ± 1,0 ^a	17,2 ± 2,1 ^b	13,2 ± 2,0 ^c
Industrial (n=16)	19,2 ± 3,2 ^a	16,3 ± 1,9 ^b	14,2 ± 1,7 ^c

^{**}La masa inicial al momento del embutido presentó valor L^* de 45,1 en el chorizo artesanal y 48,8 en el industrial, un valor a^* de 25,9 en artesanal y 29,2 en industrial y un valor b^* de 18,30 en el chorizo artesanal y 21,64 en el industrial.

[#] Condiciones de secado: 8 ± 2°C, 60-85% HR. 1 día de secado para chorizos de a_w 0,96, de 5 a 7 días para los de 0,94 y de 10 a 14 para los de 0,92.

^{\$} Se muestran los valores medios obtenidos de los chorizos envasados en aire y en atmósfera modificada en todos los tiempos de almacenamiento.

^{a, b}: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

^{1,2}: Medias dentro de cada columna con superíndice diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

4.2.4.2 Color en superficie

En la Tabla 49 se muestran los valores de L^* en la superficie de los chorizos en función de la a_w de envasado y el tiempo de almacenamiento. Se han agrupado los valores obtenidos en ambos tipos de envasado y de chorizo por no presentar estas variables efectos significativos.

El valor de L^* en el día de envasado disminuyó con la a_w debido presumiblemente a la pérdida de humedad de la superficie de los chorizos durante el secado. Posteriormente, durante el almacenamiento hubo un incremento de L^* acercándose a los valores obtenidos de la masa (Tabla 48). Este incremento se explica en parte por procesos de difusión de materia que tienden a homogeneizar la composición en todo

el diámetro del embutido, ocasionando un movimiento de humedad desde el interior (más húmedo) al exterior (más seco) de los chorizos, ganando así humedad la superficie durante el almacenamiento.

Tabla 49. Valor L* en la superficie de los chorizos en función de la a_w (0,96, 0,94 y 0,92)[#] y el tiempo de almacenamiento

Día	0,96 (n=8) [§]	0,94 (n=8)	0,92 (n=8)
1	38,9 ± 3,9 ^{a2}	34,0 ± 1,5 ^{b2}	33,9 ± 1,9 ^b
14	40,8 ± 2,7 ^{a12}	37,7 ± 3,2 ^{b1}	35,1 ± 2,0 ^b
28	42,6 ± 3,1 ^{a1}	38,3 ± 1,7 ^{b1}	35,8 ± 2,6 ^b
42	42,6 ± 1,9 ^{a1}	40,2 ± 3,3 ^{a1}	36,6 ± 1,8 ^b

[#] Condiciones de secado: 8 ± 2°C, 60-85% HR. 1 día de secado para chorizos de a_w 0,96, de 5 a 7 días para los de 0,94 y de 10 a 14 para los de 0,92.

[§] Se muestran los valores medios obtenidos de los chorizos envasados en aire y en AM, y los dos tipos de chorizo (artesanal e industrial).

^{a, b}: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

^{1,2}: Medias dentro de cada columna con superíndice diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

En la Tabla 50 se muestra la evolución del parámetro a^* en la superficie de los chorizos artesanal e industrial durante el almacenamiento a refrigeración según el tipo de atmósfera y la a_w en el envasado. Las variables estudiadas no mostraron un efecto claro sobre el valor a^* en superficie y pocas fueron las diferencias significativas encontradas.

Tabla 50. Evolución del valor de a^* en superficie en los chorizos artesanal e industrial envasados a distintas a_w (0,96, 0,94 y 0,92)[#] durante su almacenamiento a refrigeración en función del tipo de envasado

	0,96		0,94		0,92	
	Control (n=2)	AM (n=2)	Control (n=2)	AM (n=2)	Control (n=2)	AM (n=2)
Artesanal*						
1	15,4 ± 0,5	15,4 ± 0,5	10,2 ± 1,7	10,2 ± 1,7 ²	10,2 ± 2,8	10,2 ± 2,9
14	14,4 ± 0,2	16,3 ± 1,4	12,3 ± 2,6	14,6 ± 0,2 ^{1,2}	7,1 ± 1,4	9,3 ± 1,0
28	12,2 ± 4,4	16,7 ± 1,4	14,0 ± 9,3	14,6 ± 1,1 ^{1,2}	10,5 ± 0,7	11,2 ± 1,4
42	11,9 ± 0,9	16,5 ± 1,6	11,6 ± 3,4 ^b	19,1 ± 7,0 ^{a1}	9,7 ± 1,5	12,6 ± 1,3
Industrial*						
1	18,5 ± 6,3	18,5 ± 6,3	15,7 ± 1,8	15,7 ± 1,8	11,4 ± 2,6	11,4 ± 2,6 ²
14	19,4 ± 3,6	22,1 ± 1,8	18,0 ± 4,1	18,6 ± 2,8	17,0 ± 4,2	17,0 ± 2,3 ^{1,2}
28	16,9 ± 9,0	22,9 ± 2,0	15,9 ± 3,4	22,7 ± 0,1	16,4 ± 1,5	20,0 ± 2,2 ¹
42	18,8 ± 5,3	23,6 ± 1,2	15,5 ± 3,0	21,9 ± 0,4	15,3 ± 2,8	18,8 ± 0,6 ^{1,2}

[#] Condiciones de secado: 8 ± 2°C, 60-85% HR. 1 día de secado para chorizos de a_w 0,96, de 5 a 7 días para los de 0,94 y de 10 a 14 para los de 0,92.

* Control: envasado en bandeja con film de polietileno permeable a los gases atmosféricos; AM: envasado en atmósfera con 20% CO₂ y 80% N₂.

^{a, b}: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

^{1,2}: Medias dentro de cada columna con superíndice diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

En los chorizos artesanal e industrial control (almacenados en aire) este parámetro se mantuvo sin diferencias a lo largo del almacenamiento. Por el contrario, hubo un aumento de a^* en los chorizos envasados en AM. Así pues, la AM ejerció un efecto, directo o indirecto, sobre algún componente del chorizo responsable del color (por ejemplo algún colorante, los nitritos, la matriz proteica) que provocaría el incremento de a^* (por lo tanto del color rojo) a lo largo del tiempo de almacenamiento del chorizo en AM. Este comportamiento hace que los chorizos envasados en AM presenten después de un tiempo de almacenamiento mayores valores de a^* que los envasados en aire. En concordancia con este resultado, en el estudio de Ruiz-Capillas y Jiménez-Colmenero (2010) se observó que los valores de a^* de unos embutidos frescos mantenidos en AM fueron significativamente más altos que los almacenados en aire.

La Tabla 51 recoge la evolución del valor de b^* en la superficie de los chorizos elaborados artesanal e industrialmente envasados a distintas a_w s de agua y almacenados a refrigeración. Se muestran los valores medios obtenidos conjuntamente de los chorizos envasados en ambos tipos de atmósfera por no haber diferencias significativas.

Tabla 51. Evolución del valor b^* en superficie de los chorizos artesanal e industrial envasados a distintas a_w (0,96, 0,94 y 0,92)[#] durante su almacenamiento a refrigeración

Días	0,96		0,94		0,92	
	Artesanal (n=4) [§]	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)	Artesanal (n=4)	Industrial (n=4)
1	9,9 ± 0,7	10,5 ± 3,8 ²	5,4 ± 1,2 ²	7,4 ± 2,0 ²	6,0 ± 2,4 ²	3,7 ± 0,1 ²
14	9,4 ± 0,9 ^b	12,6 ± 1,8 ^{a2}	8,6 ± 0,8 ¹	9,6 ± 0,4 ^{1,2}	5,5 ± 0,7 ²	8,3 ± 1,2 ¹
28	10,4 ± 1,4	12,8 ± 2,2 ²	9,6 ± 1,5 ¹	11,2 ± 1,8 ¹	9,1 ± 2,4 ¹	9,5 ± 1,1 ¹
42	10,0 ± 0,7 ^b	14,6 ± 1,1 ^{a1}	10,8 ± 5,4 ¹	12,6 ± 0,9 ¹	7,8 ± 1,2 ^{1,2}	9,3 ± 1,0 ¹

[#] Condiciones de secado: 8 ± 2°C, 60-85% HR. 1 día de secado para chorizos de a_w 0,96, de 5 a 7 días para los de 0,94 y de 10 a 14 para los de 0,92.

[§] Se muestran los valores medios obtenidos de los chorizos envasados en aire y en AM al no haberse detectado diferencias significativas.

^{a, b}: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

^{1,2}: Medias dentro de cada columna con superíndice diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

De los resultados obtenidos, lo más destacable fue el incremento en los valores de b^* a lo largo del tiempo. No se conoce la causa de este incremento. Se observa que los

valores de b^* en superficie (menores que los que presenta la masa) tienden a igualarse con el tiempo con los valores de la masa, sin llegar a conseguirlo.

4.2.5 Análisis sensorial

En la Tabla 52 se muestran los niveles de significación para los distintos factores estudiados y sus interacciones dobles calculados mediante análisis de varianza a partir de las puntuaciones obtenidas en el análisis sensorial de los chorizos envasados y almacenados a refrigeración. La atmósfera, el tiempo de almacenamiento y el tipo de chorizo afectaron significativamente a las puntuaciones de apariencia, olor y sabor. La a_w de envasado presentó influencia sobre la apariencia y el sabor, pero no sobre el olor.

Tabla 52. Resultados (nivel de significación en la comparación de medias) del análisis de varianza de las puntuaciones sensoriales en base a los distintos factores evaluados y las interacciones dobles entre los mismos

	atm	t	a_w	ch	atm x t	atm x a_w	atm x ch	t x a_w	t x ch	a_w x ch
Apariencia	***	*	***	***	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Olor	*	**	NS	***	NS	NS	*	NS	NS	NS
Sabor	***	*	*	***	NS	NS	**	NS	NS	NS

Nivel de significación: * $P<0,05$; ** $P<0,01$; *** $P<0,001$; NS: No existen diferencias significativas.

atm: tipo de atmósfera (control: aire y atmósfera modificada: mezcla de CO_2 al 20% y N_2 al 80%), t: tiempo de almacenamiento (1, 14, 28 y 42 días), a_w : actividad de agua en el envasado (0,96, 0,94 y 0,92), ch: tipo de chorizo (artesanal e industrial), atm x t: interacción entre atmósfera y tiempo de almacenamiento, atm x a_w : interacción entre atmósfera y actividad de agua, atm x ch: interacción entre atmósfera y tipo de chorizo, t x a_w : interacción entre tiempo de almacenamiento y actividad de agua, t x ch: interacción entre tiempo de almacenamiento y tipo de chorizo, a_w x ch: interacción entre actividad de agua y tipo de chorizo.

La Tabla 53 muestra la evolución de la apariencia en la superficie de los chorizos artesanal e industrial durante el almacenamiento a refrigeración según el tipo de atmósfera y la a_w en el envasado. La puntuación de la apariencia en los chorizos artesanal e industrial envasados en bandejas con película permeable al aire (controles) bajó con el tiempo de almacenamiento, observándose diferencias significativas en ese descenso para algunas de las a_w estudiadas. En los chorizos envasados en AM no se observó una pérdida de calidad sensorial de la apariencia (a lo largo de todo el tiempo de almacenamiento las puntuaciones se mantuvieron constantes).

Tabla 53. Evolución de la puntuación de apariencia (valorada en la escala de 1 al 5) de los chorizos artesanal e industrial envasados a distintos valores de a_w (0,96, 0,94 y 0,92) durante su almacenamiento a refrigeración en función del tipo de atmósfera[#]

	0,96		0,94		0,92	
	Control (n=2)	AM (n=2)	Control (n=2)	AM (n=2)	Control (n=2)	AM (n=2)
Artesanal						
1	4,0 ± 0,2 ¹	4,0 ± 0,2	2,2 ± 0,8	2,2 ± 0,8	2,0 ± 0,5	2,0 ± 0,5
14	3,0 ± 0,4 ^{1,2}	3,2 ± 1,3	1,7 ± 0,7	3,4 ± 0,4	1,6 ± 0,1	2,8 ± 0,9
28	2,2 ± 0,8 ²	3,2 ± 0,5	1,2 ± 0,2	3,1 ± 0,4	1,2 ± 0,1	2,5 ± 0,5
42	1,8 ± 0,0 ²	3,5 ± 0,5	1,3 ± 0,0	3,2 ± 0,1	1,2 ± 0,0	3,2 ± 0,9
Industrial						
1	3,9 ± 0,1	3,9 ± 0,1	3,8 ± 0,2 ¹	3,8 ± 0,2	3,6 ± 0,4 ¹	3,6 ± 0,4
14	3,4 ± 0,4	4,2 ± 0,2	3,2 ± 0,2 ^{1,2}	4,2 ± 0,2	2,8 ± 0,9 ^{1,2}	3,7 ± 0,2
28	2,8 ± 1,6	3,8 ± 0,0	2,7 ± 1,4 ^{1,2}	4,1 ± 0,4	2,8 ± 1,3 ^{1,2}	3,7 ± 0,2
42	2,9 ± 1,8	4,1 ± 0,4	2,2 ± 1,4 ²	4,2 ± 0,0	1,7 ± 0,5 ²	3,9 ± 0,4

[#] Control: envasado en bandeja con film de polietileno permeable a los gases atmosféricos; AM: envasado en atmósfera con 20% de CO₂ y 80% N₂.

[#] Condiciones de secado: 8 ± 2°C, 60-85% HR. 1 día de secado para chorizos de a_w 0,96, de 5 a 7 días para los de 0,94 y de 10 a 14 para los de 0,92.

^{a, b}: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

^{1,2}: Medias dentro de cada columna con superíndice diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

Es notable señalar cómo en el chorizo artesanal recién envasado (día 1) la puntuación de la apariencia bajó considerablemente al bajar la a_w . De esta forma el chorizo artesanal al alcanzar valores de a_w de 0,94 y 0,92 fue puntuado por debajo del valor medio (3), indicando defecto o descalificación (valores no deseables o de disgusto con el chorizo). La justificación a este hecho es tal vez la valoración positiva que el panel de catadores otorga a los chorizos con apariencia fresca, recién elaborados y, por el contrario, la negativa a aquellos con apariencia más seca y oscura. En la Figura 17, se muestran fotografías del chorizo artesanal en el momento de envasado a los distintos valores de a_w y se observa un oscurecimiento y un encogimiento (pérdida de volumen) notables, lo que podría ser la causa de la penalización en la puntuación. Para finalizar, fijándose en las puntuaciones de apariencia del chorizo artesanal control, solo aquellos chorizos envasados a a_w de 0,96 y almacenados por no más de 2 semanas tuvieron una valoración positiva-neutra en cuanto a apariencia (puntuación ≥ 3). El resto tuvo valoración negativa, decreciendo a medida que avanzó el tiempo de almacenamiento.

Figura 17. Chorizo artesanal al momento del envasado (día 1) a distintas actividades de agua

Por el contrario, en el chorizo industrial control recién envasado (día 1) no se observó el descenso en la puntuación al bajar la a_w y con independencia de ésta, los chorizos obtuvieron en ese día una calificación positiva y similar. Debido a la formulación (retenedores de agua, colorantes, etc.) el color del chorizo industrial se mantuvo atractivo y el grado de encogimiento o merma en volumen fue menos intenso (Figura 18). Finalmente, teniendo en cuenta solo el chorizo industrial control (envasado en aire), la puntuación de la apariencia fue descendiendo con el tiempo de forma que a los 14-28 días la puntuación llegó a ser desfavorable (menor a 3). Sin embargo en los chorizos industriales envasados en AM la apariencia se mantuvo bien valorada a lo largo de todo el almacenamiento.

Figura 18. Chorizo industrial al momento del envasado (día 1) a distintas actividades de agua

Con el fin de evaluar la eventual relación del color instrumental sobre la puntuación de apariencia, se ha realizado un análisis de regresión lineal simple para cada tipo de chorizo, considerando solo aquellos envasados en bandeja con aire (controles), que fueron los que experimentaron descensos en la puntuación de apariencia con el tiempo. Los coeficientes de correlación de las puntuaciones de apariencia con cada uno de los valores de los parámetros de color en superficie obtenidos en este análisis se muestran en la Tabla 54. Los parámetros de color L^* y a^* presentaron en ciertos casos correlación significativa con la puntuación de la apariencia. El valor de a^* estuvo correlacionado positivamente con la puntuación de apariencia y el de L^* de forma negativa – las correlaciones significativas se observaron en el chorizo artesanal de a_w 0,96 y en el industrial de todas las a_w s (0,96, 0,94 y 0,92). En estos casos se puede pensar en que los cambios en el color durante el almacenamiento (disminución de a^* y/o aumento de L^*) jugaron un papel importante en el decremento de la valoración de la apariencia. Adicionalmente, otras características, distintas al color de la superficie, implicadas en el decremento de la valoración de la apariencia detectada en los chorizos almacenados en aire (especialmente en aquellos almacenados durante 14 o más días) fueron los signos visibles de crecimiento microbiano (limosidad, colonias de mohos, presencia de exudado, opacidad de la tripa, etc. (Figura 19).

Tabla 54. Coeficientes de correlación entre la puntuación de la apariencia y los parámetros del color L^* , a^* y b^* en superficie de los chorizos artesanal e industrial envasados en bandejas con película permeable a los gases atmosféricos, a los distintos valores de a_w estudiados (0,96, 0,94 y 0,92)

		0,96			0,94			0,92	
(n=8)&	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Artesanal	-0,63*	0,61*	-0,14	0,03	0,28	0,03	0,17	0,29	-0,34
Industrial	-0,27	0,75*	0,29	-037	0,62*	-0,07	-0,67*	0,13	-0,25

[&] La correlación se llevó a cabo con las medidas realizadas durante el almacenamiento a refrigeración

* El coeficiente de correlación fue estadísticamente significativo ($P < 0,05$)

Figura 19. Muestras de chorizos envasados en bandeja con film permeable al oxígeno que presentan fallos en la apariencia debidos al crecimiento microbiano, exudados u opacidades de tripa

La Tabla 55 y Tabla 56 muestran la evolución de la puntuación del olor y sabor de los chorizos artesanal e industrial durante el almacenamiento a refrigeración según el tipo de atmósfera y a_w en el envasado. Ambas variables mostraron comportamientos similares. El coeficiente de correlación entre ambos parámetros fue de 0,74 ($P<0,05$) y 0,57 ($P<0,05$) para el chorizo artesanal e industrial respectivamente.

El olor y sabor del chorizo artesanal control (envasado con aire) mostró una tendencia a empeorar con el tiempo de almacenamiento que llegó a ser significativa en alguna de las a_w estudiadas (0,92). En estos chorizos se alcanzaron puntuaciones de disgusto de olor o sabor no agradable (<3) a partir de los 14 a 28 días de almacenamiento.

Tabla 55. Evolución de la puntuación del olor (valorada en la escala de 1 al 5) de los chorizos artesanal e industrial envasados a distintos valores de a_w (0,96, 0,94 y 0,92)* durante su almacenamiento a refrigeración en función del tipo de atmósfera[#]

	0,96		0,94		0,92	
	Control (n=2)	AM (n=2)	Control (n=2)	AM (n=2)	Control (n=2)	AM (n=2)
Artesanal						
1	3,08 ± 0,35	3,08 ± 0,35	3,08 ± 0,59	3,08 ± 0,59	3,58 ± 0,59 ¹	3,58 ± 0,59
14	2,83 ± 0,24	3,42 ± 0,12	3,25 ± 0,35	3,75 ± 0,12	2,75 ± 0,35 ^{1,1}	3,50 ± 0,24
28	2,68 ± 0,12	3,00 ± 0,00	2,83 ± 0,00	3,08 ± 0,35	2,92 ± 1,06 ^{1,2}	3,58 ± 0,12
42	2,48 ± 0,35	3,17 ± 0,00	2,58 ± 0,35	3,17 ± 0,47	2,50 ± 0,24 ²	3,25 ± 0,12
Industrial						
1	3,58 ± 0,12	3,58 ± 0,12	3,67 ± 0,47	3,67 ± 0,47	3,75 ± 0,35	3,75 ± 0,35
14	3,67 ± 0,10	3,75 ± 0,12	3,25 ± 0,12	3,42 ± 0,12	3,58 ± 0,12	3,58 ± 0,12
28	3,58 ± 0,35	3,58 ± 0,59	3,25 ± 0,12	3,25 ± 0,35	3,25 ± 0,12	3,08 ± 0,35
42	2,90 ± 0,30	3,42 ± 0,35	2,92 ± 0,12	3,25 ± 0,12	3,17 ± 0,10	3,25 ± 0,35

* Condiciones de secado: 8 ± 2°C, 60-85% HR. 1 día de secado para chorizos de a_w 0,96, de 5 a 7 días para los de 0,94 y de 10 a 14 para los de 0,92.

[#] Control: envasado en bandeja con film de polietileno permeable a los gases atmosféricos; AM: envasado en atmósfera con 20% de CO₂ y 80% N₂.

^{a, b}: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

^{1,2}: Medias dentro de cada columna con superíndice diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

En el chorizo industrial control (envasado con aire) se observó descenso en las puntuaciones del olor y sabor durante el almacenamiento bastante más moderado y no significativo. Las puntuaciones al final del almacenamiento no llegaron a ser desfavorables (<3).

En cualquier caso, las puntuaciones del olor y sabor del chorizo industrial fueron más elevadas que las del artesanal desde un principio y se mantuvieron a niveles más altos (y superiores a 3) que la del artesanal. La diferencia en la condimentación y/o la presencia de conservantes podrían ser causas a las que atribuir esas diferencias entre tipos de chorizo.

Por otra parte, en el envasado con AM las puntuaciones de olor y sabor, se mantuvieron prácticamente constantes y por encima de la puntuación media (3) a lo largo del almacenamiento del chorizo artesanal e industrial.

Para resumir, el chorizo que mostró alteración en el olor y sabor fue el artesanal envasado en atmósfera con aire. Las causas de la alteración se han de buscar en la producción de metabolitos microbianos con mal olor (debidos al desarrollo microbiano excesivo principalmente en la superficie del embutido).

Tabla 56. Evolución de la puntuación del sabor (valorada en la escala de 1 al 5) de los chorizos artesanal e industrial envasados a distintos valores de a_w (0,96, 0,94 y 0,92)* durante su almacenamiento a refrigeración en función del tipo de atmósfera[#]

	0,96		0,94		0,92	
	Control (n=2)	AM (n=2)	Control (n=2)	AM (n=2)	Control (n=2)	AM (n=2)
Artesanal						
1	3,33 ± 0,47	3,33 ± 0,47	3,00 ± 0,47	3,00 ± 0,47	3,50 ± 0,47 ¹	3,50 ± 0,47
14	2,67 ± 0,24	3,75 ± 0,35	2,77 ± 0,24	3,50 ± 0,47	2,50 ± 1,12 ^{1,2}	3,25 ± 0,35
28	2,22 ± 0,35	3,00 ± 0,24	2,55 ± 0,45	3,42 ± 0,12	1,75 ± 2,47 ^{1,2}	3,25 ± 0,59
42	1,92 ± 0,12	2,75 ± 0,12	1,67 ± 1,36	3,17 ± 0,47	0,92 ± 1,30 ²	3,17 ± 0,47
Industrial						
1	3,67 ± 0,24	3,67 ± 0,24	3,75 ± 0,59	3,75 ± 0,59	3,42 ± 0,59	3,42 ± 0,59
14	3,50 ± 0,47	3,58 ± 0,35	3,50 ± 0,71	3,92 ± 0,12	3,33 ± 0,00	3,08 ± 0,12
28	3,92 ± 0,12	3,58 ± 0,12	3,50 ± 0,00	3,00 ± 0,47	3,17 ± 0,24	3,25 ± 0,35
42	3,22 ± 0,59	3,58 ± 0,35	2,93 ± 0,24	3,08 ± 0,12	3,25 ± 0,02	3,58 ± 0,35

* Condiciones de secado: 8 ± 2°C, 60-85% HR. 1 día de secado para chorizos de a_w 0,96, de 5 a 7 días para los de 0,94 y de 10 a 14 para los de 0,92.

[#] Control: envasado en bandeja con film de polietileno permeable a los gases atmosféricos; AM: envasado en atmósfera con 20% de CO₂ y 80% N₂.

^{a, b}: Medias dentro de la misma fila con letra diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

^{1,2}: Medias dentro de cada columna con superíndice diferente presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan.

Para conocer en qué medida el deterioro del olor y el sabor del chorizo artesanal envasado en aire está relacionado con los cambios en las propiedades químicas, fisicoquímicas o microbiológicas determinadas en este estudio, se ha recurrido a la correlación lineal. En la Tabla 57 se muestran los coeficientes de correlación (r) entre olor y sabor por una parte y por otra una selección de propiedades del chorizo con posible efecto sobre los atributos sensoriales o susceptibles de ser indicadores de alteración (grupos microbianos, NNP, AGL, ácido acético, aminas biógenas, etc.). De entre ellas, se han tenido en cuenta aquellas propiedades que presentaron los coeficientes de correlación más elevados.

Se observa (Tabla 57) que las propiedades con mayor correlación (inversa) con el olor y sabor fueron el pH, los niveles de NNP, AGLT y C18:2, los recuentos en psicrotrofos, los niveles de cadaverina y espermidina, los parámetros del color en superficie L^* y b^* . Hubo propiedades como el pH, los niveles de cadaverina, espermidina y L^* con una correlación elevada y significativa ($r \leq -0,7$), por lo que se pueden considerar como indicadores de la alteración aromática. No obstante, hay que señalar que las propiedades con mayor correlación fueron diferentes para las distintas a_w de los chorizos envasados. Así, la cadaverina es la propiedad de elección

para los chorizos de a_w 0,96, mientras que el pH, la espermidina y la luminosidad en superficie lo fueron para los chorizos de a_w 0,92.

Tabla 57. Coeficientes de correlación entre la puntuación del olor y sabor y los niveles de una selección de propiedades del chorizo artesanal envasado en bandeja con película permeable a los gases, a los distintos valores de a_w estudiados (0,96, 0,94 y 0,92)

(n=8)	pH	NNP	AGLT	C18:2	Psicr	Cadav	Espd	L* ext	b* ext
0,96									
Olor	0,35	-0,08	0,59	0,59	-0,18	-0,58	-0,21	-0,21	0,59
Sabor	0,61	-0,56	-0,06	-0,08	-0,69	-0,78*	-0,42	-0,42	-0,06
0,94									
Olor	-0,19	-0,40	-0,52	-0,45	-0,19	0,05	-0,58	-0,58	-0,52
Sabor	-0,41	-0,44	-0,62	-0,58	-0,39	-0,14	-0,29	-0,29	-0,62
0,92									
Olor	-0,57	-0,31	-0,39	-0,36	-0,68	0,11	-0,70*	-0,70*	-0,39
Sabor	-0,72*	-0,38	-0,47	-0,44	-0,49	0,08	-0,59	-0,59	-0,47

NNP: Nitrógeno no proteico; AGLT: Ácidos grasos libres totales; Psicr: Psicrotrofos; Cadav: Cadaverina; Espd: Espermidina; L* ext: Luminosidad en superficie; b* ext: Valor b* en superficie.

* Coeficiente estadísticamente significativo ($P < 0,05$).

5 CONCLUSIONES

Caracterización del chorizo mexicano comercializado en el Estado de Hidalgo

El chorizo mexicano comercializado en el Estado de Hidalgo es un embutido fermentado que presenta importantes variaciones en su contenido de humedad, aunque la mayor parte pertenece al grupo de embutidos semisecos (humedades entre 40 y 50%). La mayoría de los chorizos podrían considerarse como embutidos microbiológicamente estables a temperatura ambiente debido a que presentan valores de pH próximos a 5,0 y de a_w entre 0,90 y 0,95.

De acuerdo a su procedencia (tipo de elaboración) los chorizos presentan diferencias claras en sus propiedades de composición (composición microbiana, componentes mayoritarios, elementos minerales, perfil de ácidos grasos, color) que los hacen característicos. En este sentido, con vistas a una mejor estructuración del mercado, a la protección de productos típicos artesanales y del consumidor (mayor información, prevención de fraudes, etc.), se podrían establecer varias categorías diferenciadas de chorizo como por ejemplo: el chorizo artesanal (en base al tipo medio del chorizo elaborado en carnicerías y medio rural), el chorizo seco (el de centros comerciales) y chorizo económico (para los de centrales de abasto).

La regulación de las condiciones técnico-sanitarias de comercialización del chorizo debería mejorarse. En este sentido se podrían establecer las siguientes categorías: chorizo fresco, chorizo fermentado, chorizo seco o madurado; siendo el primero aquél que se comercialice siempre en frío, el segundo aquél con un pH igual o inferior a 5,0 y el tercero el que tenga una a_w igual o menor a 0,90.

Evolución de las propiedades del chorizo fresco envasado, efecto del uso de atmósfera modificada con CO₂ y de la actividad de agua

El chorizo fresco puede experimentar un proceso de fermentación comparable al de los chorizos madurados en las siguientes etapas: a) permanencia (unos pocos días) de los chorizos colgados en cámaras a 7-8°C con el propósito de disminuir ligeramente su a_w previamente a su envasado; b) almacenamiento (una o dos semanas) de los

chorizos a refrigeración (4°C) en envases herméticos. Esa fermentación se asocia a un aumento de la estabilidad microbiológica en la masa de los chorizos.

Los chorizos frescos durante su almacenamiento a refrigeración experimentan un incremento en el contenido de ácidos grasos libres. Ese incremento disminuye si los chorizos se envasan a una $a_w < 0,94$ y/o si se almacenan en atmósfera modificada con CO₂. Habría que comprobar en qué medida dicho fenómeno afecta a la calidad sensorial.

El contenido total de tiramina, putrescina y cadaverina, aumenta progresivamente en los chorizos frescos durante su almacenamiento a refrigeración (4°C). Después de 2-4 semanas se pueden alcanzar cantidades comparables a las existentes en chorizos madurados. Se constata que la acumulación de aminas biógenas en el chorizo depende de su formulación. Además, cuanto menor es la a_w del chorizo envasado la cantidad de aminas biógenas acumuladas durante su almacenamiento es menor.

La calidad sensorial de los chorizos envasados en contacto con el aire puede alcanzar niveles de desagrado a partir de las dos semanas de almacenamiento. La pérdida de calidad no se atenúa envasando a menor a_w ; sin embargo, está en función de la formulación de los chorizos (el chorizo industrial mantiene su calidad durante el doble de tiempo que el artesanal).

El envasado en atmósferas modificadas, por el contrario, consigue que los niveles de calidad sensorial se mantengan a lo largo de todo el almacenamiento (48 días).

La alteración sensorial de los chorizos envasados en contacto con el aire se localiza eminentemente en su superficie y se debe a un desarrollo microbiano que afecta a la apariencia, olor y sabor. El envasado en atmósfera modificada actúa eficazmente sobre los mecanismos microbianos de alteración. No obstante, aunque el chorizo envasado en atmósfera modificada mantiene su calidad sensorial a lo largo del tiempo, la acumulación progresiva de aminas biógenas representa un peligro para la salud del consumidor a tener en cuenta.

6 BIBLIOGRAFÍA

A

- Adams, M.R. (1986).** Fermented fresh foods. En: Adams, M.R. (Coord.). Progress in industrial microbiology. Elsevier, Amsterdam, Holanda, 159-198.
- Adrian, J., Frangne, R. (1990).** La ciencia de los alimentos de la A a la Z. Editorial Acribia, Zaragoza, España.
- Aguirrezábal, M., Mateo, J., Domínguez, C., Zumalacárregui, J.M. (1998).** Spanish paprika and garlic as source of compounds of technological interest for the production of dry fermented sausages. *Sciences des Aliments*, 18, 409-414.
- Aguirrezábal, M., Mateo, J., Domínguez, M.C., Zumalacárregui, J.M. (2000).** The effect of paprika, garlic, and salt on rancidity in dry sausages. *Meat Science*, 54, 77-81.
- Aldai, N., Nájera, A.I., Dugan, M.E.R., Celaya, R., Osoro, K. (2007).** Characterisation of intramuscular, intermuscular and subcutaneous adipose tissues in yearling bulls of different genetic groups. *Meat Science*, 76, 682-691.
- Alley, G., Cours, D., Demeyer, D. (1992).** Effect of nitrate, nitrite and ascorbate on colour and colour stability of dry fermented sausage prepared using 'back slopping'. *Meat Science*, 32, 279-287.
- Ambrosiadis, J., Soultos, N., Abraham, A., Bloukas, J.G. (2004).** Physicochemical, microbiological and sensory attributes for the characterization of Greek traditional sausages. *Meat Science*, 66, 279-287.
- Anónimo 1 (2011).** Chorizo. Disponible en: http://es.wikipedia.org/wiki/Chorizo#Variedades_iberoamericanas (Acceso: Febrero, 2011).
- Anónimo 2 (2011).** Disponible en: <http://www.chorizodecantimpalos.org/historia.asp> (Acceso: Febrero, 2011).
- Ansorena, D., De Peña, M.P., Astiasarán, I., Bello, J. (1997).** Colour evaluation of chorizo de Pamplona, a Spanish dry fermented sausage: comparison between the CIE L*a*b* and the Hunter Lab systems with illuminants D 65 and C. *Meat Science*, 46, 313-318.
- Anzaldúa, A. (1994).** La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Editorial Acribia, Zaragoza, España.

AOAC, Official Methods of Analysis of AOAC International, (1999a). Official method 950.46. Moisture in meat; Official method 991.36. Fat (crude) in meat and meat products; Official method 992.15. Crude protein in meat and meat products. Block digestion method; Official method 920.153. Ash in meat. En: Cunniff, P. (Coord.). Meat and Meat Products, vol. II. 16th ed., Official methods of analysis of the AOAC INTERNATIONAL, Gaithersburg, Maryland, EEUU, 1-15 (Chapter 39).

AOAC, Official Methods of Analysis of AOAC International, (1999b). Official Method 986.09. Nutrients (Minor) in Fertilizer. Atomic absorption spectrophotometric method. Chapter 2: Fertilizer. Vol. 1 En: Official methods of analysis of AOAC international, 16th ed., 5th revision. Cunniff, P. (Coord.). Gaithersburg, Maryland, EEUU.

Astiasaran, I., Villanueva, R., Bello, J. (1990). Analysis of proteolysis and protein insolubility during the manufacture of some varieties of dry sausage. *Meat Science*, 28, 111-117.

Aston, D., Bernard, D.T. (2001). Termophilic anaerobic sporeformers. En: Pouch, F., Ito, K. (Coord.). Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. American Public Health Association, Washington, D.C., EEUU.

Austria, V., Soto, S., Caro, I., Fonseca, N.B., Güemes, N., Mateo, J. (2006). Composition and physicochemical characteristics of "chorizo" from the Hidalguense Huasteca region in México. In 52nd International Congress of *Meat Science* and Technology. Dublin, Irlanda.

B

Bacha, K., Jonsson, H., Ashenafi, M. (2010). Microbial dynamics during the fermentation of wakalim, a traditional Ethiopian fermented sausage. *Journal of Food Quality*, 33, 370-390.

Bacus, J.N. (1984). Historical perspective. En: Bacus, J.N. (Coord.). Utilization of microorganisms in meat processing. Research studies press. Londres, Reino Unido. Elsevier Science, 1-14.

Bacus, J.N. (1986). Utilization of microorganisms in meat processing. Research studies press. Ltd., Letchworth, Hertfordshire, Reino Unido. John Wiley & Sons Ltd. New York. EEUU.

Baldini, P., Cantón, E., Colla, F., Diaferia, C., Gabba, L., Spotti, E., Marchelli, R., Dossena, A., Virgill, E., Sforza, S., Tenca, P., Mangia, A., Jordano, R., López, M.C., Medina,

- L., Coudurier, S., Oddu, S., Solignat, G. (2000).** Dry sausages ripening: influence of thermohygrometric conditions on microbial, chemical, and physico-chemical characteristics. *Food Research International*, 33, 161-179.
- Bardócz, S. (1995).** Polyamines in food and their consequences for food quality and human health. *Trends in Food Science and Technology*, 6, 341-346.
- Baruzzi, F., Matarante, A., Caputo, L., Morea, M. (2006).** Molecular and physiological characterization of natural microbial communities isolated from a traditional Southern Italian processed sausage. *Meat Science*, 72, 261-269.
- Baumgartner, P.A., Klettner, P.G., Rödel, W. (1980).** The influence of temperature on some parameters for dry sausage during ripening. *Meat Science*, 4, 191-201.
- Benezet, A., Osa, J.M., de las Botas, M., Olmo, N., Flores, F.P. (1997).** Lactobacilos alterantes del color en embutidos crudos curados. *Alimentaria*, 288, 47-52.
- Bermúdez, M.E., Rodríguez, M.M. (2001).** Microbiología de productos cárnicos. En: Bejarano, S.M. (Coord.). Enciclopedia de la carne y de los productos cárnicos. Ediciones Martín & Macías. Madrid, España.
- BOE N° 70 de 21 de marzo (1980).** Orden de 7 de febrero de 1980. Norma de calidad para los productos cárnicos embutidos crudos-curados en el mercado interior, 6280-6284.
- Borch, E., Kant-Muermans, M.L., Blixt, Y. (1996).** Bacterial spoilage of meat and cured meat products. *International Journal of Food Microbiology*, 33, 103-120.
- Bourne, M.C. (1978).** Texture profile analysis. *Food Technology*, 32, 62-66.
- Bover-Cid, S., Hugas, M., Izquierdo-Pulido, M., Vidal-Carou, M. C. (2001b).** Amino acid-decarboxylase activity of bacteria isolated from fermented pork sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 66, 185-189.
- Bover-Cid, S., Izquierdo-Pulido, M., Vidal-Carou, M.C. (2000).** Influence of higienic quality of raw material on biogenic amine production during ripening and storage of dry fermented sausages. *Journal of Food Protection*, 63, 1544-1550.
- Bover-Cid, S., Izquierdo-Pulido, M., Vidal-Carou, M.C. (2001a).** Changes in biogenic amine and polyamine contents in slightly fermented sausages manufactured with and without sugar. *Meat Science*, 57, 215-221.
- Braun, P., Fehlhäber, K., Klug, C., Kopp, K. (1999).** Investigations into the activity of enzymes produced by spoilage-causing bacteria: a possible basis for improved shelf-life estimation. *Food Microbiology*, 16, 531-540.

- Brink, B.T., Damink, C., Joosten, H., Huis In't Veld, J. (1990).** Occurrence and formation of biologically active amines in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 11, 73-84.
- Brody, A.L. (1989).** Modified atmosphere/vacuum packaging of meat. En: Brody, A.L. (Coord.). *Controlled/Modified Atmosphere/Vacuum Packaging of Foods*. Food & Nutrition Press, Trumbull, CT, EEUU. 11-37.
- Bruna, J.M., Hierro, E.M., de la Hoz, L., Mottram, D.S., Fernández, M., Ordóñez, J.A. (2003).** Changes in selected biochemical and sensory parameters as affected by the superficial inoculation of *Penicillium camemberti* on dry fermented sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 85, 111-125.
- C**
- Cabeza-Herrera, E.A., Mateo, J., Caro Canales, I., Zumalacárregui, J.M. (1996).** Características de los principales grupos microbianos asociados al deterioro de los productos cárnicos cocidos almacenados a refrigeración. *Alimentación equipos y tecnología*, 211, 47-51.
- Calkins, C.R., Hodgen, J.M. (2007).** A fresh look at meat flavor. *Meat Science* 77, 63-80.
- Cantoni, C., Bersani, C., Damenis, L., Comi, G. (1994).** Ammine giogene negli insaccati crudi stagionati. *Industrie Alimentari*, 23, 1239-1243.
- Carballo, J., Jiménez, F. (2001).** Refrigeración y congelación de carne y productos cárnicos. En: Bejarano, S.M. (Coord.). *Enciclopedia de la carne y de los productos cárnicos*. Ediciones Martín & Macías, Madrid, España.
- Carlin, F. (2011).** Origin of bacterial spores contaminating foods. *Food Microbiology*, 28, 177-182.
- Carrapiso, A.I. (2007).** Effect of fat content of flavour release from sausages. *Food Chemistry*, 103, 396-403.
- Carrapiso, A.I., Timón, M.L., Petró, M.J., Tejeda, J.F., García, C. (2000).** In situ transesterification of fatty acids from Iberian pig subcutaneous adipose tissue. *Meat Science*, 56, 159-164.
- Casaburi, A., Aristoy, M.C., Cavella, S., Di Mónaco, R., Ercolini, D., Toldrá, F., Villani, F. (2007).** Biochemical and sensory characteristics of traditional fermented sausages of Vallo di Diano (Southern Italy) as affected by the use of starter cultures. *Meat Science*, 76, 295-307.

- Casquete, R., Benito, M.J., Martín, A., Ruiz-Moyano, S., Hernández, A., Córdoba, M.G. (2011).** Effect of autochthonous starter cultures in the production of “salchichón”, a traditional Iberian dry-fermented sausage, with different ripening processes. *Food Science and Technology*, 44, 1562-1571.
- Cayré, M.E., Garro, O., Vignolo, G. (2005).** Effect of storage temperature and gas permeability of packaging film on the growth of lactic acid bacteria and *Brochothrix thermosphacta* in cooked meat emulsions. *Food Microbiology*, 22, 505-512.
- CFIA, Canadian Food Inspection Agency. (2007).** HACCP Generic model: fermented smoked sausage. En: <http://www.inspection.gc.ca/english/fssa/polstrat/haccp/smsaufum/smsaufumie.shtml> (Acceso: Junio de 2007).
- Chizzolini, R., Novelli, E., Zanardi, E. (1998).** Oxidation in traditional Mediterranean meat products. *Meat Science*, 49, 587-599.
- Church, I.J., Parsons, A.L. (1995).** Modified atmosphere packaging technology: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 67, 143-152.
- CMC, Consejo Mexicano de la Carne A.C. (2009).** Compendio estadístico bienal 2009, Naucalpan, Estado de México, México.
- Cofrades, S., Carballo, J. (2001).** Nuevas Tecnologías utilizadas en la conservación de la carne y los productos cárnicos. En: Bejarano, S.M. (Coord.). Enciclopedia de la carne y de los productos cárnicos. Ediciones Martín & Macías, Madrid, España.
- Comi, G., Urso, R., Iacumin, L., Rantisioiu, K., Cattaneo, P., Cantoni, C., Cocolin, L. (2005).** Characterisation of naturally fermented sausages produced in the North East of Italy. *Meat Science*, 69, 381-392.
- Cordero, M.R., Zumalacárregui, J.M. (2000).** Characterization of *Micrococcaceae* isolated from salt used for Spanish dry-cured ham. *Letters in Applied Microbiology*, 31, 303-306.
- Curiel, J.A., Ruiz-Capillas, C., de las Rivas, B., Carrascosa, A.V., Jiménez-Colmenero, F., Muñoz, R. (2011).** Production of biogenic amines by lactic acid bacteria and enterobacteria isolated from fresh pork sausages packaged in different atmospheres and kept under refrigeration. *Meat Science*, 88, 368-373.

D

- Dainty, R., Blom, H. (1995).** Flavour chemistry of fermented sausage. En: Campbell-Plant, G., and Cook, G.E (Coord.). *Fermented Meats*. Blackie Academic & Professional, Glasgow, Reino Unido, 176-192.
- Dainty, R.H. (1996).** Chemical biochemical detection of spoilage. *International Journal of Food Microbiology*, 33, 19-33.
- Daubert, C.R., Foegeding, E.A. (2009).** Fundamentos reológicos para el análisis de los alimentos. En: Nielsen, S.S. (Coord.). *Análisis de los alimentos*. Editorial Acribia, Zaragoza, España, 589-602.
- De Boer, E., Spiegelenberg, W.M., Janssen, F.W. (1985).** Netherlands society for microbiology section for food microbiology meeting at Delft on 17 November 1983. Microbiology of spices and herbs. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 51, 435-438.
- De Masi, T.W., Wardlaw, R.L., Dick, L., Acton, J.C. (1990).** Non-protein nitrogen (NPN) and free amino acid contents of dry, fermented and non-fermented sausage. *Meat Science*, 27, 1-12.
- Demeyer, D., Hooze, J., Medsom, H. (1974).** Specificity of lipólisis during dry sausage ripening. *Journal of Food Science*, 39, 293-296.
- Demeyer, D., Raemakers, M., Rizzo, A., Holck, A., De Smedt, A., ten Brink, B., Hagen, B., Montel, C., Zanardi, E., Murbrekk, E., Leroy, F., Vandendriessche, F., Lorentsen, K., Venema, K., Sunesen, L., Stahnke, L., De Vuyst, L., Talon, R., Chizzolini, R., Eerola, S. (2000).** Control of bioflavour and safety in fermented sausages: first results of a European project. *Food Research International*, 33, 171-180.
- Demeyer, D.A., Verpaetse, A., Gistelinck, M. (1987).** Fermented of meat: an integrated process. 33th International Congress of Meat Science and Technology. Helsinki, 241-247.
- Demeyer, D.I., Vandekerckhove, P., Moermans, R. (1979).** Compouds determining pH in dry sausage. *Meat Science*, 3, 161-167.
- Desmond, E. (2006).** Reducing salt: A challenge for the meat industry. *Meat Science*, 74, 188-196.
- Diario Oficial de las Comunidades Europeas (1995).** Directiva 95/2/CE del Parlamento Europeo y del Consejo de 20 de febrero de 1995, relativa a aditivos alimentarios distintos de los colorantes y edulcorantes.

- Diario Oficial de las Comunidades Europeas. (2001).** Directiva 2001/101/CE de la comisión de 26 de noviembre de 2001, por la que se modifica la Directiva 2000/13/CE del Parlamento Europeo y del Consejo relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros en materia de etiquetado, presentación y publicidad de los productos alimenticios.
- Díaz, O., Fernández, M., García de Fernando, G.D., De la Hoz, L., Ordoñez, J.A. (1997).** Proteolysis in dry fermented sausages: The effect of selected exogenous proteases. *Meat Science*, 46, 115-128.
- Dierick, N., Vandekerckhove, P., Demeyer, D. (1974).** Changes in non-protein nitrogen compounds during dry sausage ripening. *Journal of Food Science*, 39, 301-304.
- Domínguez, M.C., Ferré, C., Zumalacárregui, J.M. (1988).** Aportaciones a la caracterización del chorizo elaborado en la provincia de León: Parámetros químicos y fisicoquímicos. *Alimentaria* 88, 19-23.
- Domínguez, M.C., Zumalacárregui, J.M. (1991).** Lipolytic and oxidative changes in "Chorizo" during ripening. *Meat Science*, 29, 99-107.
- Drosinos, E.H., Mataragas, M., Kampani, A., Kritikos, D. y Metaxopoulos, I. (2006).** Inhibitory effect of organic acid salts on spoilage flora in culture medium and cured cooked meat products under commercial manufacturing conditions. *Meat Science*. 73, 75-81
- Drosinos, E.H., Mataragas, M., Xiraphi, N., Moschonas, G., Gaitis, F., Metaxopoulos, J. (2005).** Characterization of the microbial flora from a traditional Greek fermented sausage. *Meat Science*, 69, 307-317.
- Durand, P. (2002).** Tecnología de los productos de charcutería y salazones. Editorial Acribia, Zaragoza, España.

E

- Edwards, R.A., Dainty, R.H., Ordóñez, J.A. (1991).** Volatile compounds of microbial origin in dry fermented Spanish sausage. 2nd International Symposium on the interface between analytical chemistry and microbiology: chromatography and mass spectrometry in microbiology. Lund, Suecia.
- Edwards, R.A., Ordóñez, J.A., Dainty, R.H., Hierro, E.M., de la Hoz, L., (1999).** Characterization of the headspace volatile compounds of selected Spanish dry fermented sausages. *Food Chemistry*, 64, 461-465.

- Eerola, S., Hinkkanen, R., Lindfors, E., Hirvi, T. (1993). Liquid chromatographic determination of biogenic amines in dry sausages. *Journal of AOAC International*, 76, 575-577.
- Eerola, S., Maijala, R., Roig, A.X., Salminen, M., Hirvi, T. (1996). Biogenic amines in dry sausages as affected by starter culture and contaminant amine-positive *Lactobacillus*. *Journal of Food Science*, 61, 1243-1246.
- Encinas, J.P., López-Díaz, T., García-López, M.L., Otero, A., Moreno, B. (2000). Yeast population on Spanish fermented sausages. *Meat Science*, 54, 203-208.
- Endres, J.G. (2001). Soy protein products: Characteristics nutritional aspects and utilization. AOCS Press and The Soy Protein Council. Champaign, Illinois, EEUU.
- Escartin, E.F., Castillo, A., Hinojosa-Puga, A., Saldaña-Lozano, J. (1999). Prevalence of Salmonella in chorizo and its survival under different storage temperatures. *Food Microbiology*, 16, 479-486.
- E**
- Feiner, G. (2006). Meat products handbook. Woodhead Publishing limited. Cambridge, Reino Unido.
- Fernández-Fernández, E., Vázquez-Odériz, M.L., Romero-Rodríguez, M.A. (1998). Colour changes during manufacture of Galician chorizo sausage. *Zeitschrift-fuer-Lebensmittel-Untersuchung-und-Forschung-A* 207, 18-21.
- Fernández-Fernández, E., Vázquez-Odériz, M.L., Romero-Rodríguez, M.A. (2002). Sensory characteristics of Galician chorizo sausage packed under vacuum and under modified atmospheres. *Meat Science*, 62, 67-71.
- Fernández-López, J. (1998). Estudio del color por métodos objetivos en sistemas modelo de pastas de embutidos crudo-curados. Tesis doctoral. Universidad de Murcia, España.
- Filtenborg, O., Frisvad, J.C., Thrane, U. (1996). Moulds in food spoilage. *International Journal of Food Microbiology*, 33, 85-102.
- Fleet, G. (1992). Spoilage yeast. *Critical Reviews in Biotechnology*, 12, 1-44.
- Flores, J., Bermell, S. (1995). Curado de embutidos. Consecuencias de la acidificación y factores que afectan. *Fleischwirtschaft, Español*, 2, 22-26.
- Flores, M., Toldrá, F. (2011). Microbial enzymatic activities for improved fermented meats. A review. *Trends in Food Science and Technology*, 22, 81-90.

- Fonseca, B. (2009).** Efecto de la adición de fosfatos y efecto de diversas condiciones de envasado, a vacío y con atmósferas modificadas, y almacenamiento sobre la calidad de los embutidos crudos curados. Tesis doctoral. Universidad de León, España.
- Fonseca, B., Kuri, V., Zumalacárregui, J.M., Fernández-Diez, A., Salvá, B.K., Caro, I., Osorio, M.T., Mateo, J. (2011).** Effect of the use of a commercial phosphate mixture on selected quality characteristics of 2 Spanish-style dry-ripened sausages. *Journal of Food Science*, 76, 300-305.
- Forss, D.A., (1972).** Progress in the chemistry of fats and others lipids. Vol. 13. Pergamon Press, Oxford, Reino Unido.
- Forsythe, S.J., Hayes, P.R. (2007).** Higiene de los alimentos, microbiología y HACCP. Editorial Acribia, Zaragoza, España.
- Franco, I., Iglesias, S., Prieto, B., Carballo, J. (2004).** Perfiles de ácidos grasos totales y libres en embutidos crudo-curados tradicionales de Galicia. *Grasas y Aceites*, 55, 273-281.
- Frey, W. (1995).** Fabricación fiable de embutidos. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
- Fung, D.Y.C., Liang, C. (1990).** Critical review of isolation, detection and identification of yeast from meat products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 29, 341-379.
- G**
- García de Fernando, G.D., Fox, P.F. (1991).** Study of proteolysis during the processing of a dry fermented sausage. *Meat Science*, 30, 367-383.
- García, M.L., Domínguez, R., Galvez, M.D., Casas, C., Selgas, M.D. (2002a).** Utilization of cereal and fruit fibres in low fat dry fermented sausage. *Meat Science*, 60, 227-236.
- García, M.L., Selgas, M.D., Fernández, M., Ordóñez, J.A. (1992).** Microorganisms and lipolysis in the ripening of dry fermented sausages. *International Journal of Food Science and Technology*, 27, 675-682.
- García, T., González, I., Mayoral, B., López-Calleja, I., Hernández, P.E., Martín, R. (2002b).** Levaduras y alteración de los alimentos. *Alimentaria*, 334, 59-65.
- Gerhardt, U. (1979).** Zusatzstoffe und Zutaten als Kutterhilfsmittel, Emulgatoren und Stabilisatoren für Fleischerzeugnisse. Fleischforschung und Praxis, Schriftenreihe Heft 12, Verlag der Rhein Hessischen Druckwerkstätte, Alzey, Alemania.
- Gill, C.O. (1976).** Substrate limitation of bacterial growth at meat surfaces. *Journal of Applied Bacteriology*, 41, 401-410.
- Gill, C.O. (1996).** Extending the storage life of raw chilled meats. *Meat Science*, 43, 99-109.

- Gimeno, O., Anzorena, D., Astiasarán, I., Bello, J. (2000).** Characterization of chorizo de Pamplona: instrumental measurements of colour and texture. *Food Chemistry*, 69, 195-200.
- Girard, J.P. (1991).** Tecnología de la carne y de los productos cárnicos. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
- Gómez, R., Picazo, M.I., Alvarruiz, A., Pérez, J.I., Valera, D., Pardo, J.E. (2001).** Influencia del tipo de pimentón en la pérdida de color del chorizo fresco. *Alimentaria*, 323, 67-73.
- González, B., Díez, V. (2002).** The effect of nitrite and starter culture on microbiological quality of chorizo – a Spanish dry cured sausage. *Meat Science*, 60, 295-298.
- González-Fernández, C., Santos, E.M., Jaime, I., Rovira, J. (2003).** Influence of starter cultures and sugar concentrations on biogenic amine contents in *chorizo* dry sausage. *Food Microbiology*, 20, 275-284.
- González-Fernández, C., Santos, E.M., Rovira, J., Jaime, I. (2006).** The effect of sugar concentration and starter culture on instrumental and sensory textural properties of chorizo-Spanish dry-cured sausage. *Meat Science*, 74, 467-475.
- Guerrero, I., Arteaga, M.R. (1990).** Tecnología de carnes: elaboración y preservación de productos cárnicos. Ed. Trillas. UAM, México.
- Guerrero, I., Pérez, M.L., Ponce, E. (2002).** Curso práctico de tecnología de carnes y pescado. Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa. México.
- H**
- Haefeli, R.J., Glaser, D. (1990).** Taste responses and thresholds obtained with the primary amino acid in humans. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*, 23, 523-527.
- Hagen, B.F., Naes, H., Holck, A.L. (2000).** Meat starters have individual requirements for Mn^{2+} . *Meat Science*, 55, 161-168.
- Halász, A., Baráth, A., Simon-Sarkadi, L., Holzapfel, W. (1994).** Biogenic amines and their production by microorganisms in food. *Trends in Food Science and Technology*, 51, 42-49.
- Han, J.H., Zhang, Y., Buffo, R. (2005).** Surface chemistry of food, packaging and biopolimer materials. En: Han, J.H. (Coord.) Innovations in food packaging. Elsevier Academic Press, Amsterdam, Holanda. 45-57.
- Hasan, F., Shah, A.A., Hameed, A. (2006).** Industrial applications of microbial lipases. *Enzyme Microbial Technology*, 39, 235-251.

- Hechelmann, H., Bem, Z., Uchida, K., Leistner, L.D. (1974).** Vorkommen des Tribus Klebsiellae bei kühlgelagertem Fleisch und Fleischwaren. 20th European meeting of Meat Research Workers, Dublin, Irlanda. *Fleischwirtschaft*, 55, 696.
- Heinz, G. (1987).** Higiene y tecnología de la elaboración cárnica (VI). *Fleischwirtsch Español*, 2, 24-33.
- Hernández-Jover, T., Izquierdo-Pulido, M., Veciana-Nogués, M.T., Mariné-Font, A., Vidal-Carou, M.C. (1997).** Biogenic amine and polyamine contents in meat and meat products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 2098-2102.
- Herrero, A.M., Herranz, B., Cambero, M.I., Ordóñez, J.A., de la Hoz, L. (2006).** Ensayo de tensión y análisis del perfil de textura (TPA) de embutidos crudos curados. *Alimentaria*, 371, 96-97.
- Hierro, E., de la Hoz, L., Ordóñez, J.A. (1997).** Contribution of microbial and meat endogenous enzymes to the lipolysis of dry fermented sausages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 2989-2995.
- Hoogenkamp, H.W. (2008).** Proteína de soja y fórmulas para productos cárnicos. Editorial Acribia, Zaragoza, España.
- Hugas, M. (1994).** Caracterización bioquímica de lactobacilos aislados de salchichones. *Eurocarne*, 26, 53-62.
- Hughes, M.C., Kerry, J.P., Arendt, E.K., Kenneally, P.M., McSweeney, P.L H., O' Neill, E.E. (2002).** Characterization of proteolysis during the ripening of semi-dry fermented sausage. *Meat Science*, 62, 205-216.
- Huis In't Veld, J.H.J. (1996).** Microbial and biochemical spoilage of foods: an overview. *International Journal of Food Microbiology*, 33, 1-18.
- I**
- ICMSF (2001).** Microorganismos de los alimentos 6. Ecología microbiana de los productos alimentarios. International Commission on Microbiological Specifications for Foods. Editorial Acribia, Zaragoza, España.
- INC (1999).** PNT n° 010. Método para el recuento de microorganismos esporulados aerobios y/o anaerobios. En: Métodos Analíticos del laboratorio del Instituto Nacional del Consumo. Alimentos I. Ministerio de Sanidad y Consumo - Instituto Nacional del Consumo, España. 34-36.
- Incze, K. (1992).** Raw fermented and dried meat products. *Fleischwirtsch*, 72, 1, 58-62.

- ISO (1993).** Norma ISO 7402 standard. Microbiology - General guidance for the detection of *Enterobacteriaceae* without resuscitation - MPN technique and colony count technique. International Organization for Standardization, Genève, Suiza.
- ISO (1998).** Norma ISO 15214 standard. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria- Colony-count technique at 30 degrees C. International Organization for Standardization, Genève, Suiza.
- ISO (2001).** Norma ISO 17410 standard. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of psychrotrophic microorganisms. International Organization for Standardization, Genève, Suiza.
- ISO (2003).** Norma ISO 4833 standard. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Horizontal method for the enumeration of microorganisms - Colony-count technique at 30 degrees C. International Organization for Standardization, Genève, Suiza.

I

- Jenkins, W.A., Harrington, J.P. (1991).** Packaging foods with plastics. Technomic Publishing Company. Lancaster, Reino Unido.
- Jiménez-Colmenero, F. (1996).** Technologies for developing low-fat meat products. *Trends in Food Science and Technology*, 7, 41-48.
- Jiménez-Colmenero, F., Carballo, J., Cofrades, S. (2001).** Healthier meat and meat products: their role as functional foods. *Meat Science*, 59, 5-13.
- Joffraud, J.J., Leroi, F., Roy, C., Berdagué, J.L. (2001).** Characterisation of volatile compounds produced by bacteria isolated from the flora of cold-smoked salmon. *International Journal of Food Microbiology*, 66, 175-185.
- Johansson, G., Berdagué, J.L., Larsson, M., Tran, N., Borch, E. (1994).** Lipolysis, proteolysis and formation of volatile components during ripening of a fermented sausage with *Pediococcus pentosaceus* and *Staphylococcus xilosus* as starters cultures. *Meat Science*, 38, 203-218.

K

- Kalač, P., Krausová, P. (2005).** A review of dietary polyamines: Formation, implications for growth and health and occurrence in foods. *Food Chemistry*, 90, 219-230.
- Kemi, V.E., Rita, H.J., Kärkkäinen, M.U.M., Viljakainen, H.T., Laaksonen, M.M., Outila, T.A., Lamberg-Allardt, C.J.E. (2009).** Habitual high phosphorus intakes and foods

with phosphate additives negatively affect serum parathyroid hormone concentration: a cross-sectional study on healthy premenopausal women. *Public Health and Nutrition*, 12, 1885-1892.

Komprda, T., Neznalova, J., Standara, S., Bover-Cid, S. (2001). Effect of starter culture and storage temperature on the content of biogenic amines in dry fermented sausage polican. *Meat Science*, 59, 267-276.

Kornacki, J.L., Johnson, J.L. (2001). *Enterobacteriaceae*, Coliforms and *Escherichia coli* as Quality and Safety Indicators. En: Pouch, F., Ito, K. (Coord.). *Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*. American Public Health Association, Washington, D.C., EEUU.

Kuri, V., Madden, R.H., Collins, M.A. (1995). Hygienic quality of raw pork and chorizo (raw pork sausage) on retail sale in Mexico city. *Journal of Food Protection*, 59, No. 2, 141-145.

L

Lambert, A.D., Smith, J.P., Dodds, K.L. (1991). Shelf life extension and microbiological safety of fresh meat – a review. *Food Microbiology*, 8, 267-297.

Latorre-Moratalla, M.L., Bover-Cid, S., Talon, R., Garriga, M., Zanardi, E., Ianieri, A., Fraqueza, M.J., Elias, M., Drosinos, E.H., Vidal-Carou, M.C. (2010). Strategies to reduce biogenic amine accumulation in traditional sausage manufacturing. *Food Science and Technology*, 43, 20-25.

Latorre-Moratalla, M.L., Veciana-Nogués, T., Bover-Cid, S., Garriga, M., Aymerich, T., Zanardi, E., Ianieri, A., Fraqueza, M.J., Patarata, L., Drosinos, E.H., Laukova, A., Talon, R., Vidal-Carou, M.C. (2008). Biogenic amines in traditional fermented sausages produced in selected European countries. *Food Chemistry*, 107, 912-921.

Leistner, F. (1992). The essential of production stable and safe raw fermented sausage. En: Smulders, J.F., Toldrá, F., Flores, J., Prieto, M. (Coord.). *New technologies for meat and meat products*. EC CEAMST, Utrecht, Holanda, 118.

Leistner, L. (1978). Microbiology of ready-to-serve foods. *Die Fleischwirtschaft*, 58, 2008-2011.

Leistner, L. (1995). Stable and safe fermented sausages world-wide. Cap. 7. En: Campbell Platt, Cook, P.F. (Coord.). *Fermented meats*. Blackie Academic & Profesional, London, Reino Unido.

- Leistner, L., Rödel, W. (1976).** The stability of intermediate moisture foods with respect to micro-organisms. En: Davies, R., Birch, G.G., Parker, J. (Coord.). Intermediate Moisture Foods. Applied Science Publishers, London, Reino Unido.
- Liepe, H.U., Pfeil, E., Porobic, R. (1990).** Influencia de los azúcares y las bacterias sobre la acidificación de los embutidos secos. *Fleischwirtschaft Español*, 2, 42-46.
- Lizaso, G., Chasco, J., Berian, M.J. (1999).** Microbiological and biochemical changes during ripening of salchichón, a Spanish dry cured sausage. *Food Microbiology*, 16, 219-228.
- Lücke, F. K. (1994).** Fermented meat products. *Food Research International*. 27, 299-307.
- Lücke, F. K. (1998).** Fermented sausages. En: Brian, J.B. (Coord.) Microbiology of Fermented Foods. Vol. 2 Wood. Blackie Academic & Professional. London, Reino Unido.
- M**
- Maijala, R., Eerola, S. (1993).** Contaminant lactic acid bacteria of dry sausages produce histamine and tyramine. *Meat Science*, 35, 387-395.
- Maijala, R.L., Eerola, S.H., Aho, M.A., Hirn, J.A. (1993).** The effect of GDL-induced pH decrease on the formation of biogenic amines in meat. *Journal of Food Protection*, 50, 125-129.
- Marco, A., Navarro, J.L., Flores, M. (2006).** The influence of nitrite and nitrate on microbial, chemical and sensory parameters of slow dry fermented. *Meat Science*, 73, 660-673.
- Marsh, K., Bugusu, B. (2007).** Food packaging roles, materials and environmental issues. *Food Science*, 72, 39-55.
- Martin, A., Colin, B., Aranda, E., Benito, M.J., Córdoba, M.G. (2007).** Characterization of *Micrococcaceae* isolated from Iberian dry-cured sausage. *Meat Science*, 75, 696-708.
- Martínez, L., Djenane, D., Cilla, I., Beltrán, J.A., Roncalés, P. (2006).** Effect of varying oxygen concentrations on the shel-life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere. *Food Chemistry*, 94, 219-225.
- Martínez, L., Djenane, D., Cilla, I., Beltrán, J.A., Roncalés, P. (2005).** Effect of different concentrations of carbon monoxide on the shel-life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere. *Meat Science*, 71, 563-570.
- Mateo, J., Caro, I., Figueira, A.C., Ramos, D., Zumalacárregui, J.M. (2009).** Meat processing in Ibero-American countries: a historical view. En: Noronha V, T., Nijkamp, P., and Rastoin, J.L. (Coord.) Traditional food production and rural sustainable. A European challenge. Ashgate publishing limited. Farnham, Surrey, Reino Unido, 121-134.

- Mateo, J., Domínguez, M.C., Aguirrezábal, M.M., Zumalacárregui, J.M. (1996).** Taste compounds in chorizo and their changes during ripening. *Meat Science*, 44, 245-254.
- Mateo, J., Zumalacárregui, J.M. (1996a).** Volatile compounds in chorizo and their changes during ripening. *Meat Science*, 44, 255-273.
- Mateo, J., Zumalacárregui, J.M. (1996b).** El flavor de los embutidos crudos-curados. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, 15, 59-70.
- McKee, L.H. (1995).** Microbial contamination of spices and herbs: A review. *Lebensm.-Wissenschaft und Technologie*, 28, 1-11.
- McMillin, K.W. (2008).** Where is MAP Going? A review and future potential of modified atmosphere packaging for meat. *Meat Science*, 80, 43-65.
- McMillin, K.W., Huang, N.Y., Ho, C.T., Smith, B.S. (1999).** Quality and shelf-life of meat in case-ready modified atmosphere packaging. En: Xiong, Y.L., Shahidi, F., Ho, C.T. (Coord.) Publishing Corporation Quality attributes in muscle foods. ACS. Symposium Series, Plenum, New York, EEUU, 73-93.
- Mendoza, E., García, M.L., Casas, C., Selgas, M.D. (2001).** Inulin as fat substitute in low fat, dry fermented sausage. *Meat Science*, 57, 387-393.
- Mendoza, M.J.E., Quiroz Bravo, M., Pacheco Puc, O. (2007).** Tecnología de productos cárnicos. Editorial Limusa, México D.F., México.
- Mínguez, M.I., Jarén, M., Garrido, J. (1992).** Color quality in paprika. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 2384-2392.
- Molly, K., Demeyer, D., Johansson, G., Raemaekers, M., Ghistelinck, M., Geenen, I. (1997).** The importance of meat enzymes in ripening and flavour generation in dry fermented sausages. First results of a European project. *Food Chemistry*, 59, 539-545.
- Monín, A. (1991).** Chacinados caseros. 2ª edición. Editorial Albatros, Buenos Aires, Argentina.
- Montel, M.C., Masson, F., Talon, R. (1998).** Bacterial role in flavour development. *Meat Science*, 49, 111-123.
- Montel, M.C., Talon, R., Berdagué, J.L., Cantonnet, M. (1993).** Effects of starter cultures on the biochemical characteristics of French dry sausages. *Meat Science*, 35, 229-240.
- Moore, S., Stein, W.H. (1948).** Photometric ninhydrin method for use in the chromatography. *Journal of Biological Chemistry*, 176, 367-388.

Moreno, B., González Fandos, M.E., González, C., Román, M.C. (1993). Procedimientos para asegurar la inocuidad y la calidad higiénica de los embutidos crudos curados. *Cárnica 2000*, 112, 33-39.

Moretti, V.M., Madonia, G., Diaferia, C., Mentasti, T., Paleari, M.A., Panseri, S., Pirone, G., Gandini, G. (2004). Chemical and microbiological parameters and sensory attributes of a typical salami ripened in different conditions. *Meat Science*, 66, 845-854.

N

Navarro, J.L., Nadal, M.I., Izquierdo, L., Flores, J. (1997). Lipolysis in dry cured sausages as affected by processing conditions. *Meat Science*, 45, 161-168.

Newman, P.B. (1981). The separation of meat from bone – a review of the mechanics and the problems. *Meat Science*, 5, 171-200.

Nielsen, H.J.S. (1983). Influence of nitrite addition and gas permeability of packaging film on the microflora in a sliced vacuum-packed whole meat product under refrigeration. *Journal of Food Technology*, 18, 573-585.

NOM-110-SSA1-1994. Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Secretaría de Salud. México.

NOM-111-SSA1-1994. Norma Oficial Mexicana NOM-111-SSA1-1994, bienes y servicios. Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos. Secretaría de Salud. México.

NOM-145-SSA1-1995. Norma Oficial Mexicana NOM-145-SSA1-1995. Productos cárnicos troceados y curados. Productos cárnicos curados y madurados. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Secretaría de Salud. México.

NOM-213-SSA1-2002. Norma Oficial Mexicana NOM-213-SSA1-2002. Productos y servicios. Productos cárnicos procesados. Especificaciones sanitarias. Métodos de prueba. Secretaría de Salud. México.

Nychas, G.J.E., Tassou C.C. (1997). Spoilage processes and proteolysis in chicken as detected by HPLC. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 74, 199-208.

O

Olivares, A., Navarro, J.L., Salvador, A., Flores, M. (2010). Sensory acceptability of slow fermented sausages based on fat content and ripening time. *Meat Science*, 86, 251-257.

Ordóñez, J.A., Hierro, E.M., Bruna, J.M., de la Hoz, L.M. (1999). Changes in the components of dry-fermented sausages during ripening. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 39, 329-367.

P

Papadima, S.N., Arvanitoyannis, I., Bloukas, J.G., Fournitzis, G.C. (1999). Chemometric model for describing Greek traditional sausages. *Meat Science*, 51, 271-277.

Parry, R.T. (1993). Principles and applications of modified atmosphere packaging of food. 1st edition, Chapman and Hall, New York, EEUU.

Pearson, A.M., Tauber, F.W. (1984). Processed meats. 2nd edition. Avi Publishing Company. Westport, Connecticut, EEUU.

Pérez, L., Rubio, M.S., Méndez, D., Feldman, J., Iturbe, F. (1999). Evaluación química y sensorial del chorizo tipo Pamplona, elaborado a partir de carne de Cerdo Pelón Mexicano y de Cerdo Mejorado. *Veterinaria México*, 30, 33-40.

Pérez-Alvarez, J.A. (1996). Contribución al estudio objetivo del color en productos cárnicos crudo-curados. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Valencia. Valencia, España.

Pérez-Álvarez, J.A., Sayas-Barberá, M.E., Fernández-López, J., Aranda-Catalá, V. (1999). Physicochemical characteristics of Spanish-type dry-cured sausage. *Food Research International*, 32, 599-607.

Pérez-Dubé, D., Andújar-Robles, G. (2000). Cambios de coloración de los productos cárnicos. *Revista Cubana de Alimentación y Nutrición*, 14, 114-123.

Porcela, M.I., Sánchez, G., Vaudagna, S.R., Zanelli, M.L., Descalzo, A.M., Meichtri, L.H., Gallinger, M.M., Lasta, J.A. (2001). Soy protein isolate added to vacuum-packaged chorizos: effect on drip loss, quality characteristics and stability during refrigerated storage. *Meat Science*, 57, 437-443.

Prändl, O., Fischer, A., Schmidhofer, T., Sinell, H.J. (1994). Tecnología e higiene de la carne. Editorial Acribia, Zaragoza, España.

Presidencia del gobierno. (1979). Métodos oficiales de análisis de productos cárnicos. BOE n° 207 del 29 de agosto de 1979. España.

Presidencia del gobierno. (1980). Orden de 7 de febrero de 1980 por la que se aprueba la norma de calidad para los productos cárnicos embutidos crudos-curados en el mercado interior. BOE No. 70 de 21/3/1980. España.

Prieto, B., Carballo, J. (1997). El control analítico de la calidad en los productos cárnicos crudos curados. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 5, 112-120.

Pyrz, J., Pezacky, W. (1974). Die technologische Steuerung der Rohwurstreifung. III. Einfluss verschiedener Arten von kohlenhydraten auf die dynamik der prozesse einer ansammlung von sauren fermentationserzeugnissen. *Fleischwirtschaft*, 54, 203-205, 208-211.

R

Raes, K., Haak, L., Balcaen, A., Claeys, E., Demeyer, D., De Smet, S. (2004). Effect of linseed feeding at similar linoleic acid levels on the fatty acid composition of double-muscled Belgian Blue young bulls. *Meat Science*, 66, 307-315.

Ramos, D., González, A.E., San Martín, V., Arbaiza, T., Salvá, B.K., Romero, M., Caro, I., Mateo, J. (2011). Composición y características fisicoquímicas de la salchicha de cerdo tradicional elaborada en el Departamento de Tumbes (Perú) *Anales Científicos de la Universidad Nacional Agraria La Molina* (en prensa).

Real Decreto 1376 /2003 (2003). Condiciones sanitarias de producción, almacenamiento y comercialización de las carnes frescas y sus derivados en los establecimientos de comercio al por menor. BOE N° 273, de 14 de Noviembre de 2003, 40094-40101.

Reddy, N.R., Armstrong, D.J., Rhodehamel, E.J., Kautter, D.A. (1992). Shelf-life extension and safety concerns about fresh fishery products packaged under modified atmospheres, a review. *Journal of Food Safety*, 12, 87-118.

Reuter, G. (1970). Untersuchungen zur microflora von voverpackten, aufgeschnittenen Brüh- und Kochwürsten. *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 21, 257-264.

Reuter, H. (1981). La tecnología de embutidos en Alemania. *Fleishwirtschaft Español*, 2, 46-49.

Revilla, I., Vivar, A.M. (2005). The effect of different paprika types on the ripening process and quality of dry sausages. *International Journal of Food Science and Technology*, 40, 411-417.

Reyes-García, M., Gómez-Sánchez, I., Espinosa-Barrientos, C., Bravo-Rebatta, F., Ganoza-Morón, L. (2009). Tablas peruanas de composición de alimentos. Disponible en: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Tabla%20de%20Alimentos.pdf> (Acceso: Diciembre de 2010).

Roca, M., Incze, K. (1990). Fermented sausages. *Food Reviews International*, 6, 91-118.

- Rocha McGuire, A.E. (2008).** El uso de soya texturizada como extensor de productos cárnicos. *Carnetec*, artículos técnicos, disponible en: www.carnetec.com (Acceso: Junio de 2011).
- Rocha McGuire, A.E. (2010).** Fabricación básica de chorizo. *Carnetec*, artículos técnicos, disponible en: www.carnetec.com (Acceso: Junio de 2011).
- Rödel, W., Stiebing, A., Kröckel, L. (1995).** Parámetros de maduración para embutidos secos tradicionales con cobertura de mohos. *Fleischwirtschaft*, 1, 21-29.
- Roig-Sagués, A., Eerola, S. (1997).** Biogenic amines in meat inoculated with *Lactobacillus sake* starter strains and an amine-positive lactic acid bacterium. *Zeitschrift-fuer-Lebensmittel-Untersuchung-und-Forschung-A*. 205, 227-231.
- Roncalés, P. (1995).** Tecnología, cambios bioquímicos y calidad sensorial de los embutidos curados. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, 1, 73-82.
- Roseiro, L.C., Gomes, A., Gonçalves, H., Sol, M., Cercas, R., Santos, C. (2010).** Effect of processing on proteolysis and biogenic amines formation in a Portuguese traditional dry-fermented ripened sausage "Chouriço Grosso de Estremoz e Borba PGI". *Meat Science*, 84, 172-179.
- Rubio, B., Martínez, B., Sánchez, M.J., García-Cachan, M.D., Rovira, J., Jaime, I. (2007).** Study of the shelf life of a dry fermented sausage "salchichon" made from raw material enriched in monounsaturated and polyunsaturated fatty acids and stored under modified atmospheres. *Meat Science*, 76, 128-137.
- Ruiz-Capillas, C., Jiménez-Colmenero, F. (2004a).** Biogenic amines in meat and meat products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 44, 489-499.
- Ruiz-Capillas, C., Jiménez-Colmenero, F. (2004b).** Biogenic amine content in Spanish retail market meat products treated with protective atmosphere and high pressure. *European Food Research and Technology*, 218, 237-241.
- Ruiz-Capillas, C., Jiménez-Colmenero, F. (2010).** Effect of an argon-containing packaging atmosphere on the quality of fresh pork sausages during refrigerated storage. *Food Control*, 21, 1331-1337.
- Rust, R.E. (1994).** Productos embutidos. En: Price, J.F., Schweigert, B.S. (Coord.) *Ciencia de la carne y de los productos cárnicos*. 2nd ed. Editorial Acribia, Zaragoza, España. 415-440.

Ruusunen, M., Puolanne, E. (2005). Reducing sodium intake from meat products. *Meat Science*, 70, 531-541.

S

Salgado-Mancha, J., Jaramillo-Arango, C.J., Núñez-Espinosa, J.F., Mora-Medina, P. (1999). *Salmonella* sp en tres tipos de chorizos, como peligro dentro de un sistema de análisis de riesgos e identificación de puntos críticos de control (HACCP), en una empacadora de la ciudad de México. *Veterinaria México*, 30, 2, 157-164.

Samelis, J., Stavropoulos, S., Kakouri, A., Metaxopoulos, J. (1994). Quantification and characterization of microbial populations associated with naturally fermented Greek dry salami. *Food Microbiology*, 11, 447-460.

Sánchez Villarraso, M.P., León Crespo, F. (1989). Los parámetros de estabilidad en el chorizo tradicional. *Cárnica 2000*, 71, 38-44.

Santamaría, I., Lizarraga, T., Astiasarán, I., Bello, J. (1992). Contribución al problema del desarrollo del color en el chorizo de Pamplona: comportamiento de nitritos, nitratos y pigmentos cárnicos. *Alimentaria*, 92, 23-26.

Sanz, A., Martín, R., Mayoral, M.B., Hernández, P.E., González, I., García-Lacarra, T. (2005). Development of a PCR-culture technique for rapid detection of yeast species in vacuum packed ham. *Meat Science*, 71, 230-237.

Sanz, Y., Flores, J., Toldrá, F., Feria, A. (1997a). Effect of pre-ripening on microbial and chemical changes in dry fermented sausages. *Food Microbiology*, 14, 575-582.

Sanz, Y., Vila, R., Toldrá, F., Nieto, P., Flores, J. (1997b). Effect of nitrate and nitrite curing salts on microbial changes and sensory quality of rapid ripened sausages. *International Journal of Food Microbiology*, 37, 225-229.

Savic, I., Savic, Z. (1996). Sausages ultimate flavor - a complex interplay of ingredients, processing procedures and spice formulation. *Fleischwirtschaft*, 4, 17-29.

Shalaby, A.R. (1996). Significance of biogenic amines to food safety and human health. *Food Research International*, 29, 675-690.

Silla Santos, M.H. (1996). Biogenic amines: their importance in foods. *International Journal of Food Microbiology*, 29, 213-231.

Smith, D.R. (1987). Sausage - a food of myth, mystery and marvel. *CSIRO Food Research Quart*, 47, 1-18.

- Sorheim, O., Ofstad, R., Lea, P. (2004).** Effect of carbon dioxide on yield, texture and microstructure of cooked ground beef. *Meat Science*, 67, 231-236.
- Soriano, A., Cruz, B., Gómez, L., Mariscal, C., García Ruiz, A. (2006).** Proteolysis, physicochemical characteristics and free fatty acid composition of dry sausages made with deer (*Cervus elaphus*) or wild boar (*Sus scrofa*) meat: A preliminary study. *Food Chemistry*, 96, 173-184.
- Spaziani, M., Del Torre, M., Stecchini, M.L. (2009).** Changes of physicochemical, microbiological, and textural properties during ripening of Italian low-acid sausage. Proteolysis, sensory and volatile profiles. *Meat Science*, 81, 77-85.
- Stazione Sperimentale per le Industria delle Conserve Alimentari (SSICA; 1992).** Ricerca sulle caratteristiche chimiche, chimico-fisiche e microbiologiche del salame "Napoli" prodotto nella zona di mugnano del cardinale (Avellino). Camera di Commercio di Avellino, Italia.
- Stiebing, A., Rödel, W. (1988).** Influence of relative humidity on the ripening of dry sausage. *Fleischwirtschaft*, 68, 1287-1291.
- Stiebing, A., Rödel, W. (1990).** Influence of the pH on the drying pattern in dry sausage. *Fleischwirtschaft*, 70, 1039-1043.
- Summo, C., Caponia, F., Pasqualone, A. (2006).** Effect of vacuum-packaging storage on the quality level of ripened sausages. *Meat Science*, 74, 249-254.
- Sunesen, L.O., Trihaas, J., Stahnke, L.H. (2004).** Volatiles in a sausage surface model-influence of *Penicillium nalgiovense*, *Pediococcus pentosaceus*, ascorbate, nitrate y temperature. *Meat Science*, 66, 447-456.
- Suzzi, G., Gardini, F. (2003).** Biogenic amines in dry fermented sausages: a review. *International Journal of Food Microbiology*, 88, 41-54.
- Szczesniak, A.S. (1962).** Classification of textural characteristics. General foods corporation, Technical Center. Tarrytown, New York, EEUU.

T

- Townsend, W.E., Davis, C.E., Lyon, C.E., Mescher, S.E. (1980).** Effect of pork quality on some chemical, physical and processing properties of fermented dry sausage. *Journal of Food Science*, 45, 622-626.

Tremonte, P., Sorrentino, E., Succi, M., Reale, A., Maiorano, G., Coppola, R. (2005). Shelf life of fresh sausage stored under modified atmospheres. *Journal of Food Protection*, 68, 2686-2692.

U

Üren, A., Babayigit, D. (1997). Colour parameters of Turkish-type fermented sausage during fermentation and ripening. *Meat Science*, 45, 539-549.

USDA, U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service. (2010). USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release 23. Nutrient Data Laboratory Home Page, <http://www.ars.usda.gov/ba/bhnrc/ndl>. (Acceso: Octubre, 2010).

V

Valsta, L.M., Tapanainen, H., Männistö, S. (2005). Meat fats in nutrition. *Meat Science*, 70, 525-530.

Varnam, H.A., Sutherland, J.P. (1998). Carne y productos cárnicos. Tecnología, química y microbiología. Editorial Acribia, Zaragoza, España.

Vermeiren, L., Devlieghere, F., De Graef, V., Debevere, J. (2005). In vitro and in situ growth characteristics and behavior of spoilage organisms associated with anaerobically stored cooked meat products. *Journal of Applied Microbiology*, 98, 33-42.

Vidal-Carou, M.C., Izquierdo-Pulido, M.L., Martín-Morro, M.C., Mariné-Font, A. (1990). Histamine and tyramine in meat products: relationship with meat spoilage. *Food Chemistry*, 37, 239-249.

Vitacel™ (2011). Disponible en: www.jrs.de/cgi-bin/wPermission.cgi?file=/wSpanisch/anwend/food/weizen.shtml&navid=48, (Acceso: Febrero de 2011).

Vösgen, W. (1994). Dry sausage- New and stablsh production methods. *Fleischwirtschaft*, 74, 62-63.

Vösgen, W. (1995). Embutidos secos, métodos probados y nuevas técnicas de producción. En: *Fleischwirtsch Español* 1, 17-21.

W

Warriss, P.D. (2003). Ciencia de la carne. Editorial Acribia, Zaragoza, España.

Weber, H. (1994). Elaboración de embutidos secos. La importancia de los denominados cultivos protectores y sus productos metabólicos. *Fleischwirtsch Español*, 2, 34-38.

Wood, J.D., Enser, M., Fisher, A.V., Nute, G.R., Sheard, P.R., Richardson, R.I., Hughes, S.I., Whittington, F.M. (2008). Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: a review. *Meat Science*, 78, 343-358.

Wood, J.D., Richardson, R.I., Nute, G.R., Fisher, A.V., Campo, M.M., Kasapidou, E., Sheard, P.R., Enser, M. (2003). Effects of fatty acids on meat quality: a review. *Meat Science*, 66, 21-32.

Wright, C.A. (1999). A Mediterranean Feast: The story of the birth of the celebrated cuisines of the Mediterranean from the merchants of Venice to the Barbary corsairs. Morrow Cookbooks, New York, EEUU.

Y

Yam, K.L., Takhistov, P.T., Miltz, J. (2005). Intelligent packaging: Concepts and applications. *Journal of Food Science*, 70, 1-10.

Yousef, A.E., Carlstrom, C. (2006). Microbiología de los alimentos: Manual de Laboratorio. Editorial Acribia, Zaragoza, España.

Z

Zaika, L.L., Kissinger, J.C. (1984). Fermentation enhancement by spices: identification of active component. *Journal of Food Science*, 49, 5-9.

Zanardi, E., Dorigoni, V., Badiani, A., Chizzolini, R. (2002). Lipid and colour stability of Milano-type sausages: effect of packing conditions. *Meat Science*, 61, 7-14.

Zapata, M., Bañon, S., Cabrera, P. (1992). El pimiento para pimentón. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España.

Zeuthen, P. (1995). Historical aspects of meat fermentation. En: Campbell-Platt, G., and Cook, P.E. (Coord.) Fermented Meats. Blackie Academic and Professional. Suffolk, Reino Unido, 53-68.

Zumalacárregui, J.M., Domínguez, M.C., Mateo, J. (2000). La oxidación de la grasa en la carne y los productos cárnicos. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, 19, 3, 67-71.

Zumalacárregui, J.M., Mateo, J. (1997). Elaboración de productos cárnicos frescos y embutidos. Características de las materias primas, procesos de elaboración, calidad y control de calidad. En: González, I., Otero, A., Rodríguez, R., y Sanz, J.J. (Coord.). Productos cárnicos y lácteos. Aspectos tecnológicos, sanitarios y legislación. Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.

7 PUBLICACIÓN

Título de capítulo: Comparative assessment of the mineral content of a Latin American raw sausage made by traditional or non-traditional processes

Título del libro: Atomic Absorption Spectroscopy

Autores: Roberto González-Tenorio, Ana Fernández-Díez, Irma Caro, Javier Mateo

ISBN: 979-953-307-123-6

Editor: M. Akhyar Farrukh

Publica: InTech Open Access Publisher, Rijeka, Croacia,
www.intechweb.org

Estado: Aceptado para su publicación

NOTIFICATION OF ACCEPTANCE

August 17, 2011

Dear Dr. Mateo,

On behalf of the Editorial Board it is my pleasure to inform you that the manuscript titled "Comparative assessment of the mineral content of a Latin American raw sausage made by traditional or non-traditional processes" has been accepted for publication in the book "Atomic Absorption Spectroscopy", ISBN 979-953-307-123-6.

We firmly believe that your contribution will be of great importance for the scientific community.

Sincerely yours,

Aleksandar Lazinica, CEO

Lazinica Aleksandar

INTECH
d.o.o. Rijeka

Comparative assessment of the mineral content of a Latin American raw sausage made by traditional or non-traditional processes

¶(12pt)

Roberto González-Tenorio^a, Ana Fernández-Díez^b, Irma Carob^b, Javier Mateo^b

^a *University Autónoma del Estado de Hidalgo*

Mexico

University of León

Spain

¶(20pt)

1. Introduction

¶(6pt)

Mineral content of food in general, and of meat and meat products in particular, has been widely studied mainly due to its essential role in human nutrition and implication on safeness issues, i.e., mineral toxicity and deficiencies. Furthermore, since a few decades ago, instrumental analytical techniques based on atomic absorption or emission spectrometry applied to the determination of the mineral content coupled to multivariate statistical analysis have been proved to produce suitable methods to characterise food products, discriminate between food quality categories and control food authenticity, i.e., determination of the geographical origin of food, discrimination between cultivation methods (e.g. organic vs convenience crops), varieties of fruits and vegetables, or food processing practices (Grembecka et al., 2007; Kelly & Bateman, 2010; Luykx & van Ruth, 2008; Sun et al., 2011).

Inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy (ICP-AES) is a prevailing instrumental technique utilised for the simultaneous determination of a considerably high number of metal and some non-metals in biological samples at ppm or ppb levels. As well as in AES conventional techniques, in ICP-AES technique, analyte atoms in solution are aspirated into the excitation region where they are desolvated, vaporised, and atomised, and finally the optical emission measurement from excited atoms is used to determine analyte concentration. However, ICP-AES provides higher reproducibility and quantitative linear range compared to conventional AES, and reduces molecular interferences due to a higher temperature (7000-8000 K) in the excitation source (plasma). On the other hand, ICP-AES is more expensive than conventional AES, and in complex samples emission patterns can be of difficult interpretation (Ibáñez & Cifuentes, 2001; Luykx & van Ruth, 2008).

There is a wide variety of meat products all over the world and, among them, fresh sausages represent an important part. Two types of fresh sausages can be found in shops or markets: emulsion-type and minced comminuted meat products. Fresh sausages are sold without having suffered any heat treatment, and they are generally stored and commercialised chilled or frozen (Feiner, 2006). However, many times, in Latin America fresh sausages are slightly dried at room temperature during some hours as part of the making-process and afterwards the sausages are stored and commercialised for short periods (few days) at room temperature, without the use of the cool chain. During those periods additional drying and lactic acid fermentation can take place (Kuri, 1995). In this case, sausages can be considered to be raw-semidry sausages instead of fresh sausages.

Meat products are generally made from various meat and non-meat matters (from different origins and suppliers), which are combined at the formulation stage in obedience to criteria of composition, technological factors, sensory characteristics, legal regulations, functionality and also production cost (Jiménez-Colmenero et al., (2010). In view of that, fresh sausages (and eventually the raw-semidry sausages derived from them) are made from different types of meat such as beef, pork, mutton, chicken, turkey, etc. and usually pork fat or fatty tissues. Moreover, numerous non-meat ingredients (salt, herbs, spices, juices, vinegar, etc.) and additives (nitrites, phosphates, sorbates, etc.) can be added depending on each sausage type, geographical traditions or manufacturing practices (Feiner, 2006).

Current fresh sausage making process includes both traditional and non-traditional methods. On the one hand, there is an increasing attention in natural products, sometimes proceeding from a particular region, elaborated

according to traditional methods. On the other hand, the demand for non-traditional commercial food products is steadily increasing due to different factors, namely, cheapness, extended-shelf life or convenience. Variations in meat and non-meat ingredients and the processing conditions, with respect to traditional methods, can result in changes in nutritional composition. In order to avoid drastic and negative impact on consumers, those changes are controlled or limited by regulations. As common examples, the fat (maximum) and lean meat (minimum) content is generally legally established in most countries. Furthermore, usually it is required a minimum protein content; however, proteins could originate from meat or cheaper sources such as wheat gluten or soy protein (Feiner, 2006). In this way, low cost sausages are largely sold in many countries.

Chorizos are sausages extremely popular in Latin American countries. These sausages can be considered as variations of those that were brought to America by colonizers, usually Iberians (Mateo et al., 2008). In fact, at present there are sausages in Spain (chorizo) or Portugal (Chouriço) that resemble those from Latin America and vice versa. Chorizos are usually made from pork meat and fat. Grounded meat and fat are normally added and mixed with salt, herbs and spices and, optionally, vinegar or lemon juice, sugar and suitable additives (curing agents, phosphates, etc.). Finally, the mixture is stuffed into casings, commonly natural casings. Chorizos are made with different herbs and spices in different Latin American regions, with garlic, clove, cumin and dry *Capsicum* spp. fruits (named as chile) being typically used in Mexican chorizo. Once stuffed, these sausages are dried for a short period of time (from four to few days) at room temperature before selling or consuming.

The mineral content of fresh or raw-semidry chorizo is the result of the sum of the contributions from all the ingredients, i.e., lean meat, fatty tissues, common salt, dry *Capsicum* spp. fruits, textured soy flour, etc., and additives included in their formulations. Moreover, mineral content can be further increased due to the solute concentration by evaporation which takes place during an eventual drying.

Lean meat is the main ingredient of a sausage and therefore the mineral composition of a raw sausage it is closely related to the meat content. Meat is considered as a significant dietary source of several minerals, specifically highly-available Fe and Zn (Hazell, 1982; McAfee et al., 2010). Average mineral composition of raw lean pork is shown in Table 3. The mineral content of meat is rather stable under conditions of normal supply; however, this depends on pre-mortem factors such as animal genetic, physiological and environmental, e.g., age and feeding (Jiménez-Colmenero et al., 2006), and post-mortem factors such as meat cuts, meat processing and preparation (Jiménez-Colmenero et al., 2010; Lombardi-Boccia et al., 2005). Fat is the second ingredient in importance of sausages. Conversely, compared to meat, the contribution of fat to the mineral content of a sausage is poor due to the relatively low mineral content in fat or fatty tissues (Table 3).

Regarding the non-meat ingredients, common salt is the major source of Na in sausages. Apart from Na, common salt contains other minerals but at trace levels (Table 3). Nevertheless, common salt can be a notorious source of Mg or Ca because these mineral salts are on occasion added to common salt as anti-caking agents at the food industry level. Dry *Capsicum* spp. fruits (in paste or powdered form) are extensively used in Latin American and also Iberian raw sausages. The amount usually added in chorizos is approximately 2-3% of the weight of the initial mixture of sausage. An addition of dry capsicum fruits at that amount represents an appreciable source of some mineral elements, i.e., Mg, Ca, Fe and Mn, in sausage mixtures (Aguirrezábal et al., 1998; Fonseca et al., 2011).

Textured soy flour is used as filler or meat extender in a large variety of commercially prepared meat products. The use of soy-derived ingredients results in increased yields and lower cost of production (Hoogenkamp, 2008). The amount of soy flour added to those meat products range from 2 to 10% (Rocha McGuire, 2008). In Mexico, the use of textured soy flour in raw sausages is common, particularly in low-cost sausages commercialized in wholesale markets (Personal communication: technical personnel, Fabpsa Corporation, www.fabpsa.com.mx). In accordance with the mineral content of textured soy flour (Table 3) and the amount used, the contribution of this ingredient to the levels of some minerals, i.e., Ca, Mg, Cu and Mn, in raw sausages appears to be relevant. Finally, the additives commonly used for commercial fresh sausages (Feiner, 2006), such as antioxidants (erythorbate or ascorbate), preservatives (nitrite, sorbate) or others (phosphates, etc.) provides Na, P and K to the raw sausages.

	Pork Lean	Pork Backfat	Salt	Paprika, Capsicum annuum	Defatted soy flour
Sodium	59	11	38758	68	20
Potassium	364	65	8	2280	2384
Phosphorus	217	38	0	314	674
Calcium	13	2	24	229	241
Magnesium	24	2	1	178	290
Zinc	2.2	0.4	0.1	4.3	2.5
Iron	0.8	0.2	0.3	21.1	9.2
Copper	0.1	0.0	0.0	0.7	4.0
Manganese	0.0	0.0	0.1	1.6	3.0

Table 1. Mineral composition of the main ingredients used in the sausage making process expressed as mg/100 g of fresh weight. Source: U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Centre {USDA} (2010).

As far as the authors are aware, there is great interest about the usefulness of mineral content analysis in meat industry. Apart from nutritive and safety issues, to assessing the differences in minerals between sausages from different qualities could reflect fraudulent manufacturing practices. The aim of the present study is therefore to determine the mineral composition of a popular Latin American raw sausage (Mexican chorizo) using ICP-AES, and to compare the mineral contents between sausages made using traditional and those made using non-traditional making processes in order to explore differences among both groups regarding nutritive value and discrimination purposes.

¶(14pt)

2. Material and methods

2.1 Samples and sampling procedure

Forty sausages belonging to two different groups (twenty per group) were used in the present study. One group consisted of Mexican chorizos elaborated in a traditional manner by small-sized producers (traditional sausages) and the other was comprised of mass-produced commercial Mexican chorizos (non-traditional sausages).

Ten samples of sausages from the first group were purchased from randomly-chosen butcherries in the Hidalgo State largest cities: Tulancingo and Pachuca (approximately 150 and 300 thousands inhabitants, respectively). The sausages from this type were locally produced by the butchers. The other ten traditional sausages sampled were purchased from rural street markets in ten randomly-chosen small villages (5 to 20 thousands inhabitants) in Hidalgo State (one sample per village). These were homemade sausages which were produced by local small-sized farmers.

On the other hand, ten out of the twenty samples of the non-traditional sausages were purchased from supermarkets at Tulancingo and Pachuca cities. These sausages were manufactured by nationwide companies and were characterised by their long shelf life. The other ten samples were purchased from wholesale large-city markets in Tulancingo, Pachuca and Mexico City. The sausages were manufactured by ten different medium-sized companies to be sold at low price. All sausage samples weighted about 1 kg each. Once taken, samples were immediately transported to the laboratory in Tulancingo, where they were first blended in a domestic food processor and then frozen and stored at -18 °C until further analysis.

2.2 Chemical analysis

Determinations of moisture, fat, protein and ash contents in the sausage samples were performed in duplicate according to methods recommended by the AOAC International {AOAC} (AOAC, 1999) – Official Methods nos. 950.46, 991.36, 981.10 and 920.153, respectively.

The analysis of mineral composition of sausages was performed ICP-AES on wet digested samples. Duplicate aliquots of approximately 1 g (± 0.01) of the previously homogenised samples were digested with 10 ml of concentrated HNO₃ in tightly closed screw cap glass tubes for 16 h at room temperature, and then for a further 4 h at 90 °C. For the analysis of sodium, potassium and phosphorus, 1 ml of the mineralised solution was added with 8 ml of deionised water and 1 ml of scandium solution as internal standard. In order to determine the levels of calcium, copper, iron, magnesium, and zinc, 3 ml of the digested solution was added with 6 ml of deionised water and 1 ml of Sc solution.

The instrumental analysis was performed with a Optima 2000 DV ICP optical emission spectrometer (PerkinElmer, Waltham, MA, USA). Instrument operating conditions were: radiofrequency power, 1400 W; plasma gas flow, 15.0 l/min; auxiliary gas flow, 0.2 l/min; nebulizer gas flow 0.75 l/min, crossed flow; standard axial torch with 2.0 mm i.d. injector of silica; peristaltic pump flow, 1 ml/min; no. of replicates, 2. The spectrometer was calibrated for Cu, Mn, Zn, Fe, Ca and Mg determinations (at 224.7, 257.61, 213.9, 238.2, 393.4 and 279.6 nm, respectively) with nitric acid/water (1:1, v/v) standard solutions of 2, 5 and 10 ppm of each element, and for Na, P and K (at 589.6, 213.6 and 766.5, respectively) with nitric acid/water (1:9, v/v) standard solutions of 30, 50 and 100 ppm, respectively.

¶(14pt)

2.4 Statistical analysis

A one-way analysis of variance was performed; the values obtained for each variable (moisture, fat, protein ash or mineral elements) on all fresh weight (FW), dry matter (DM) and nonfat dry matter (NFDM) basis were compared between groups (traditional and non-traditional) and types (as function of the place where the sausages were purchased from) of sausages. Moreover, linear correlation coefficients were calculated to describe the degree of correlation between each variable (only values expressed on DM basis were considered). A principal component (PC) analysis, unrotated method, was also performed to obtain a better perception of differences in mineral composition between the groups and types of sausages. In the PC-analysis model the contents of the mineral elements determined, except for Cu, were included. The software STATISTICA for Windows (StatSoft Inc., 2001) was used for the statistical treatment of data.

¶(14pt)

3. Results and discussion

¶(14pt)

3.1 Proximate composition

The proximate composition of the sausages studied on all FW, DM, and NFDM basis is shown in Table 2. Most of the sausages can be assigned to the category of semidry sausages according to the scheme proposed by Adams (1986), because their humidity content was inside or near the range of 40 to 50%. According to that author, weight (drying) losses for this type of sausages are estimated to be between 10 and 20%.

	Trad n=20	Non-Trad n=20	P-level	Btch n=10	RuSM n=10	Smkt n=10	WhCM n=10	SEM n=40
FW								
Moisture	42.8±11.4	37.6±7.6	NS	42.9	42.7	36.5	38.7	1.6
Fat	33.4±12.0	36.7±9.0	NS	34.9	31.9	33.3	40.2	1.7
Protein	18.2±3.8	16.3±4.1	NS	16.3 ^b	20.2 ^a	19.5 ^a	13.1 ^c	0.6
Ash	2.9±0.8	3.9±1.1	**	2.8 ^b	2.9 ^b	4.6 ^a	3.2 ^b	0.2
Carbohydrate [#]	2.7±1.8	5.4±2.6	***	3.2 ^{bc}	2.3 ^b	6.1 ^a	4.7 ^c	0.4
DM								
Fat	57.6±11.5	58.5±10.4	NS	60.1 ^{ab}	53.2 ^b	52.2 ^b	64.8 ^a	1.7
Protein	33.7±12.4	26.4±6.6	*	29.6 ^{ab}	37.8 ^a	30.9 ^{ab}	21.9 ^b	1.7
Ash	5.1±1.4	6.3±1.7	*	5.0 ^b	5.2 ^b	7.3 ^a	5.3 ^b	0.3
Carbohydrate [#]	4.5±3.1	8.8±4.4	**	5.3 ^{bc}	3.7 ^b	9.6 ^a	7.9 ^{ab}	0.7
NFDM								
Protein	76.2±9.4	63.9±7.4	***	73.0 ^{ab}	79.5 ^a	65.6 ^{bc}	62.3 ^c	1.7
Ash	12.1±2.6	15.3±1.9	***	12.7 ^b	11.5 ^b	15.4 ^a	15.3 ^a	0.4
Carbohydrate [#]	11.6±8.3	20.8±7.5	***	14.3 ^{bc}	9.0 ^b	19.0 ^{ab}	22.4 ^a	1.4

Table 2. Proximate composition expressed as g/100 g of fresh weight (FW), dry matter (DM) and non-fat dry matter (NFDM) in traditional (Trad) and non-traditional (Non-Trad) sausages, and in the individual types of sausages as a function of the places where they were purchased from (Btch, traditional sausages from butcherries; RuSM, traditional sausages from rural street markets; Smkt, non-traditional sausages from supermarkets; WhCM, non-traditional sausages from wholesale city markets). SEM: Standard error of the mean. P-level: Level of significance found by analysis of variance; NS, no significant; *, $P<0.05$; **, $P<0.01$ and ***, $P<0.001$. #: Carbohydrate content calculated by difference. abc: Significant differences are marked with different superscript (Duncan-test, $P<0.05$).

The variability observed within each group of sausage (as assessed by standard deviations) was high. This could be mainly attributed to large variations among samples in the amount of fat used the sausage making process and the degree of sausage drying. In spite of the variability, statistical differences ($P<0.05$) in the proximate composition between sausage groups were observed. Traditional sausages had lower ash and carbohydrate

(calculated by difference) contents than the non-traditional ones. Furthermore, protein content on DM and NFDM basis were higher in traditional than in non-traditional sausages.

Differences in ash content, assuming that common salt is the principal source of ash in sausages, is indicative of higher amounts of common salt being used in non-traditional than in traditional sausages. The amount of carbohydrate (which include lactate formed by lactic acid fermentation) found in traditional sausages (around 2-3% on FW basis) was the expected for a conventional fermented sausage, i.e., Polish sausage or summer sausage (USDA, 2010). However, the amount found in non-traditional sausages (6% on FW basis) was higher. This increase must be the result of the inclusion of hydrocolloids (gums, starches, dextrins) or other fillers in the formulations of this group of sausages (Personal communication: technical personnel, Fabpsa Corporation). Finally, the higher proportion of protein found in traditional sausages on both DM and NFDM basis is related to a higher proportion of lean meat used in this group compared to the non-traditional sausages. Lean meat is the main ingredient in sausage formulations and has a protein content relatively high, of approximately 65% of DM (USDA, 2010).

¶(14pt)

3.2 Mineral composition

Mineral composition, expressed as mg per 100 g on FW, DM and NFDM basis of the two groups and four types of sausages is reported in Table 3. The Table shows that there were statistically significant differences between both groups of sausages for practically all the minerals studied (all except for K). These differences could be attributed to variations in the ingredients and additives used, and in the dryness level of sausage samples. From nutritional value point of view – minerals are essential nutrients –, FW-basis data provide useful information to what consumers are eating. On the other hand, DM- and NFDM-basis results could be related with type and amount of meat and non-meat ingredients and additives used in the making process and hence could be useful for sausage characterization and discrimination purposes.

In the sausages studied, considering the results expressed on FW basis, traditional sausages contained higher amounts of Fe and Zn, which are the mineral micronutrients most significantly related to the benefits to health of meat consumption (McAfee et al., 2010). On the contrary, non-traditional sausages presented higher Na, P, Ca and Mg levels than traditional ones. The increased levels of Na and P in the non-traditional sausages are not considered as advantageous. Excessive intake of Na derived from meat products consumption, and of P from the consumption of phosphate-added meat products have been linked to health risks: hypertension-derived pathologies and anomalous bone metabolism, respectively (Calvo & Park, 1996; Ruusunen and Poulanne, 2005).

Having into account the results expressed on DM basis, the concentrations of the mineral elements detected in the Mexican sausages (Mexican chorizos) were generally into de range of values reported for other chorizos from Latin America and Spain – all of them including dry capsicum fruits as characteristic ingredient (Table 4). Furthermore, in general, chorizos had notable higher levels of Na, K, Mg and Fe than those reported for a mixture of ground pork, lean and fat, at a similar percentages than that used in sausage making (72% to 28%, respectively). This could be explained by the presence, apart from lean and fat, of non-meat ingredients, i.e., salt and spices, and additives, in the sausage mixtures. Moreover, comparing the mineral content of ground pork, lean and fat (Table 4), with that of the traditional and non-traditional Mexican sausages (DM basis; Table 3), it can be noted that the composition of non-traditional sausages was more distant from ground pork, lean and fat, than that of traditional sausages. This leads to the suggestion that the first type of chorizo would include larger proportions of non-meat ingredients and additives than the second group.

	Trad n=20	Non-Trad n=20	P-level	Btch n=10	RuSM n=10	Smkt n=10	WhCM n=10	SEM n=40
FW								
Sodium	856±279	1287±453	***	845 ^b	867 ^b	1528 ^a	1047 ^b	68
Potassium	395±117	440±119	NS	376 ^b	414 ^b	519 ^a	361 ^b	19
Phosphorus	188±64	268±110	**	185 ^b	191 ^b	319 ^a	217 ^b	15
Calcium	36.8±22.2	60.5±34.8	*	40.5 ^{ab}	33.1 ^b	62.5 ^a	58.6 ^{ab}	4.9
Magnesium	32.2±12.9	43.0±11.4	**	28.0 ^b	36.7 ^{ab}	40.9 ^a	45.1 ^a	2.1
Zinc	3.32±0.81	2.64±0.71	**	3.19 ^{ab}	5.41 ^a	2.95 ^{ab}	2.33 ^b	0.83
Iron	3.05±1.14	2.47±0.45	*	2.55 ^b	3.55 ^a	2.34 ^b	2.60 ^b	0.14
Copper	-	-	-	-	-	-	0.10	-
DM								
Sodium	1482±396	2063±669	**	1448 ^b	1476 ^b	2399 ^a	1727 ^a	97.6
Potassium	720±291	710±181	NS	685	755	817	602	37.8
Phosphorus	344±148	432±175	NS	336 ^b	352 ^{ab}	501 ^a	362 ^{ab}	26.3
Calcium	63.2±34.3	100±66.6	*	71.4	55.0	103.0	97.0	8.8
Magnesium	57.1±20.6	69.7±21.1	NS	49.4 ^b	64.9 ^{ab}	64.4 ^{ab}	75.0 ^a	3.4
Zinc	6.05±2.06	4.27±1.17	**	5.83 ^a	6.26 ^a	4.65 ^b	3.88 ^b	0.30
Iron	5.50±2.29	4.01±0.91	*	4.52 ^a	6.47 ^a	3.70 ^b	4.32 ^a	0.30
Copper	-	-	-	-	-	-	0.17	-
NFDM								
Sodium	3632±1166	4997±1069	***	3839 ^b	3424 ^b	5017 ^a	4976 ^a	206
Potassium	1666±460	1717±188	NS	1668	1663	1716	1718	55
Phosphorus	787±234	1026±312	**	815 ^{ab}	759 ^b	1051 ^a	1003 ^{ab}	47
Calcium	159±101	243±131	*	180 ^{ab}	138 ^b	208 ^{ab}	278 ^a	19
Magnesium	137±54	175±55	*	126 ^b	148 ^b	136 ^b	214 ^a	9
Zinc	14.0±3.0	10.6±2.4	***	14.3 ^a	13.7 ^a	10.1 ^b	11.0 ^b	0.5
Iron	12.7±3.6	10.1±2.8	*	11.5 ^a	13.9 ^a	7.9 ^b	12.4 ^a	0.5
Copper	-	-	-	-	-	-	0.42	-

Table 3. Mineral content, expressed as mg/100 g of fresh weight (FW), dry matter (DM) and non-fat dry matter (NFDM) in traditional (Trad) and non-traditional (Non-Trad) sausages, and in the individual types of sausages as a function of the places where they were purchased from (Btch, traditional sausages from butcherries; RuSM, traditional sausages from rural street markets; Smkt, non-traditional sausages from supermarkets; WhCM, non-traditional sausages from wholesale city markets). SEM: Standard error of the mean. P-level: Level of significance found by analysis of variance; NS, no significant; *, $P<0.05$; **, $P<0.01$ and ***, $P<0.001$. ^{ab}: Significant differences are marked with different superscript (Duncan-test, $P<0.05$). -: Value under the detection limit (0.1 mg/100 g).

As shown in Table 3, non-traditional sausages had higher levels (on DM basis) of Na and Ca and lower of Zn and Fe than the traditional counterparts. When results were expressed on a NFDM basis, the differences between both groups of sausages were more pronounced than when results were expressed on DM. This is because there was considerable variation in the fat content of sausages, and mathematically removing the fat from the dry sausage eliminates the fat dilution effect on mineral concentrations – fat is the ingredient with lower mineral content. Thus, differences between traditional and non-traditional sausages when results being expressed as NFDM, were detected for all the mineral elements except for K. Non-traditional sausages had higher amounts of Na, P, Ca and Mg and lower of Zn and Fe than traditional sausages – differences in Na and Zn being the more statistically significant ($P<0.001$; Table 3).

	Traditional Peruvian fresh chorizo ^a	Spanish fresh chorizo ^b	Spanish dry- ripened chorizo ^b	Traditional Spanish dry- ripened chorizo ^c	Ground pork, raw (72% lean/28% fat) ^d
Sodium	1401	2364	1675	2504	157
Potassium	nd	842	593	1106	404
Phosphorus	311	Nd	Nd	431	300
Calcium	117.4	19.7	22.7	27.4	36.4
Magnesium	Nd	50.6	32.3	58.2	29.5
Zinc	Nd	5.5	3.0	7.4	4.3
Iron	8.4	2.5	2.1	3.5	2.0

Table 4. Mineral composition (mg/100 g of dry matter) of several Latino American and Iberian sausages (chorizos) which include dry capsicum fruits as characteristic ingredient, and of pork ground, lean and fat. Nd: Not determined. ^{a,b,c,d}: Adapted from Reyes-García et al. (2009), Jiménez-Colmenero et al. (2010), Fonseca et al. (2011), USDA (2010), respectively.

Differences between the two groups of sausages regarding Na content can be explained considering that higher salt amounts are usually used in non-traditional making processes. A similar trend to that of Na was observed for

P concentrations. Physiological P of animal tissues is a constituent of protein structures, and its concentration in meat products may be estimated from the concentration of protein. P to protein content ratio has been estimated as approximately 0.01 for pork (Tyszkiewicz et al., 2001). Consequently, the ratio found in traditional sausages was 0.010 (0.011 in sausages purchased from butcheries and 0.009 in those purchased from rural street markets; data not shown in Tables). However, the mean ratio in non-traditional sausages was 0.016 in the sausages from supermarkets and 0.017 in those from wholesale city markets. The addition of phosphates and textured soy flour (a non-meat proteinaceous ingredient with high P content), that are frequently used in commercial sausage making (Feiner, 2006; Personal communication: technical personnel, Fabpsa Corporation), could be responsible for the higher P concentrations in non-traditional sausages. The phosphate addition to meat products is regulated by national and international standards, for example, USDA-FSIS (2007), EC (1995), or the Codex Alimentarius (2009). As an illustration, the maximum level of addition of phosphates, as established by the European Union (EC, 1995), is 5 g/kg (expressed as P_2O_5). With respect to the textured soy flour, its P to protein ratio is higher than that of meat and has been calculated to be 0.015 (USDA, 2010).

The concentrations of Ca and Mg were also higher in non-traditional sausages and among them those from wholesale city markets (sausages commercialized at the lowest cost) contained the higher amounts. Those increased concentrations could be related to the use of the following ingredients: mechanically recovered meat (residual meat recovered using mechanical equipment from animal bones), texture soy flour and/or mineral fillers. Mechanical recovered meat is cheaper than convectional meat and, thus, its use in sausages is aimed to decrease production costs. Mechanically recovered meat has higher Ca content than the conventional manually deboned meat, from 40 to 500 mg depending on the raw matter and equipment used (Newman, 1981; USDA, 2010). Texture soy flour (compared to meat) can be considered as a relatively Ca- and Mg-rich ingredient (Table 3). Finally, mineral fillers such as Hubersorb (Akrochem, Akron, OH, USA) are included in some of the formulations commercialised for sausages (Personal communication: technical personnel, Fabpsa Corporation). That filler (Hubersorb) contains Ca silicate at a large proportion and it is used in sausages for its high absorbency properties.

On the contrary, levels of Zn and Fe were higher in traditional sausages than in non-traditional ones. This could be the result of a higher proportion of lean used and additionally the use of meat from older animals (with higher Fe content) for the first group of sausages. Fe content was especially high in sausages from rural street markets. This finding can be related not only to the age of animals but also to the feasible migration of Fe ions to meat and sausage mixture from the surfaces of cast iron equipment, i.e., pans, mincers (Quintaes et al., 2004), which are frequently present at small homemade sausage producing facilities in small villages. In spite of the lower amounts of Fe found in non-traditional sausages, the Fe concentration in sausages from wholesale city markets was comparable to that of traditional sausages. This could be indicative of the use of mechanically recovered meat, which contains higher amounts of Fe, approximately twice higher, than manually deboned meat (Newman, 1981).

3.3 Correlations and principal component analysis

Table 5 shows the correlation coefficients between the composition variables studied considering the values expressed in DM basis, for traditional and non-traditional sausages separately. Regardless the sausage group, significant correlations ($P < 0.05$) detected for the two groups of sausages were as follows: fat content was inversely correlated with protein and ash contents and with some of the mineral elements studied, namely K and P. As said before, fat has relatively low mineral content, therefore, the more the fat proportion is, the lower the mineral content will be. Conversely, protein was positively correlated with ash and with K, P and Zn; and ash was positively correlated with several minerals but mainly with Na. Furthermore, K was positively correlated with P, and Ca with Mg.

The comparison of coefficients between each group of sausages can be useful for a better understanding of the group-related differences found as described above. The correlation coefficient between protein and fat in non-traditional sausages was lower than that in traditional sausages. This denotes that in some of non-traditional sausages carbohydrate sources or mineral fillers were used. Moreover, lower correlation coefficients were detected between protein and both Zn and Fe (which appeared to be mineral elements mainly provided by meat to sausages) and between K and all P, Ca, Mg, Zn and Fe in non-traditional sausages, with respect to the traditional sausages. This leads to the suggestion that proteinaceous non-meat ingredients were used in a number of non-traditional sausages. The really high coefficient (0.92) between Na and ash observed in non-traditional sausages indicates that Na exerted a heavy significant weight on ash content for sausages of this group, and that ash explained a great part of ash-content variance. Finally, the higher correlations found between Na and P in non-traditional sausages could be partially explained by the use of phosphates as additives, which contain in their molecules not only of P but also of Na (Fonseca et al., 2011).

	Protein	Ash	Na	K	P	Ca	Mg	Zn	Fe
Fat									
Trad	-0.96*	-0.57*	0.01	-0.70*	-0.70*	0.14	-0.43	-0.68*	-0.61*
Non-Trad	-0.88*	-0.90*	-0.75*	-0.92*	-0.70*	-0.38	-0.30	-0.39	-0.24
Protein									
Trad	1.00	0.42	-0.19	0.73*	0.64*	-0.13	0.46*	0.68*	0.59*
Non-Trad	1.00	0.75*	0.58*	0.83*	0.56*	0.13	0.19	0.47*	0.12
Ash									
Trad		1.00	0.61*	0.22	0.52*	-0.09	-0.04	0.52*	0.17
Non-Trad		1.00	0.92*	0.87*	0.74*	0.45*	0.29	0.19	0.22
Na									
Trad			1.00	-0.13	0.20	0.03	-0.11	0.17	-0.07
Non-Trad			1.00	0.76*	0.75*	0.29	0.20	0.05	0.12
K									
Trad				1.00	0.69*	0.48*	0.74*	0.70*	0.48*
Non-Trad				1.00	0.64*	0.39	0.42	0.28	0.26
P									
Trad					1.00	0.17	0.54*	0.43	0.41
Non-Trad					1.00	0.40	0.16	0.41	0.20
Ca									
Trad						1.00	0.48*	0.25	-0.14
Non-Trad						1.00	0.48*	0.23	0.51
Mg									
Trad							1.00	0.25	0.42
Non-Trad							1.00	0.11	0.87*
Zn									
Trad								1.00	0.49*
Non-Trad								1.00	0.30

Table 5. Simple linear correlation coefficients between the composition variables studied considering the values expressed in dry matter basis for the traditional and non-traditional sausages (n=20 for each group). * Coefficient statistically significant ($P<0.05$).

Results of PC analysis are shown in Table 6 and Figs. 1 to 3. PC analysis was carried out for all FW-, DM- and NFDM-basis data. Table 6 shows the factor loadings and cumulative variance explained by PC1 and PC2. The first PC accounted for a variance from 36 to 43% and the sum of both PCs from 61 to 66%. In absolute values, the elements with higher loading scores (>0.7) for PC1 were Na, K, P and Mg using data on FW basis; K, P, Mg using data on DM basis; and Ca and Mg using data on NFDM. For PC2, Zn and Fe were the elements showing higher loading scores using all FW, DM and NFDM basis data.

Figs. 1, 2 and 3, obtained from FW, DM and NFDM results, respectively, show that samples from each group of sausage are located in two defined sets of results. Among them, the neatest separation between traditional and non-traditional samples can be observed in the plot of NFDM results (Fig. 3), where moisture and fat effect in mineral concentrations were avoided by mathematically removing those components. Thus, following the NFDM results, PC1 seemed to relate to the use of ingredients comparatively rich (with respect to meat) in Ca and Mg such as textured soy, mechanically recovered meat and PC2 with the proportion of lean meat, which is relatively rich in Zn and Fe.

	Fresh weight		Dry matter		Non-fat dry matter	
	PC1	PC2	PC1	PC2	PC1	PC2
Sodium	0.792	-0.187	-0.480	0.654	-0.601	0.472
Potassium	0.845	0.263	-0.867	-0.221	-0.681	-0.382
Phosphorus	0.805	-0.031	-0.791	0.246	-0.551	0.442
Calcium	0.679	-0.257	-0.598	0.419	-0.818	-0.092
Magnesium	0.750	-0.036	-0.721	0.098	-0.827	-0.294
Zinc	0.050	0.834	-0.435	-0.727	0.128	-0.723
Iron	0.051	0.835	-0.445	-0.722	-0.052	-0.780
Cumulative variance	43.37	64.88	41.04	66.38	35.75	61.30

Table 6. Loading scores and cumulative variance explained for the two principal components (PC1 and PC2) obtained from fresh weight, dry matter, non-fat dry matter mineral composition data.

¶(9pt)

Fig. 1. Principal component (PC) score plot considering mineral composition on fresh weight basis (PC 1 and PC 2, horizontal and vertical axis, respectively), and showing sausage samples according to group (traditional, non-traditional) and place where they were purchased from: (○) Traditional, from butcheries; (□) traditional, from rural street markets; (◆) non-traditional, from supermarkets; (▲) non-traditional, from wholesale city markets. ¶(9pt)

Fig. 2. Principal component score plot considering mineral composition on dry matter basis (PC 1 and PC 2, horizontal and vertical axis, respectively), and showing sausage samples according to group (traditional, non-traditional) and place where they were purchased from: (○) Traditional, from butcheries; (□) traditional, from rural street markets; (◆) non-traditional, from supermarkets; (▲) non-traditional, from wholesale city markets. ¶(9pt)

Fig. 3. Principal component score plot considering mineral composition on non-fat dry matter basis (PC 1 and PC 2, horizontal and vertical axis, respectively and showing sausage samples according to group and place (traditional, non-traditional) where they were purchased from: (○) Traditional, from butchereries; (□) traditional, from rural street markets; (◆) non-traditional, from supermarkets; (▲) non-traditional, from wholesale city markets.

¶(14pt)

4. Conclusion

¶(6pt)

The nutritional composition (the proximate composition and mineral content, in the case of this study) of mass-produced commercial raw sausages (non-traditional) undertakes changes by reason of variations in meat and non-meat ingredients and additives used with respect to the traditional production manners. Differences in ash content and in the concentrations of most of the mineral elements studied were found between traditional and non-traditional sausages. Among those, Na and Zn had the highest statistical significance. Those changes in mineral composition can represent a disadvantage regarding nutritive value of sausages associated with lower Zn and Fe contents and higher Na and P higher in non-traditional in mass-produced commercial sausages. Differences between traditional and non-traditional sausages are presumably due to the use of textured soy flour, mechanically recovered meat, and higher amounts of common salt in non-traditional sausages, and, conversely, higher proportion of lean meat in traditional sausages.

Determination of mineral content of raw-semidry or fresh sausages could be useful for sausage characterization purposes. Moreover, mineral content analysis performed by inductively coupled plasma atomic emission spectroscopy together with multivariate statistical analysis (chemometrics) seems to be a useful tool for discrimination purposes regarding the control of sausage authenticity (traditional vs non-traditional sausages) – with the term traditional being used for sausages made with lean and fat, salt and spices and eventually sodium nitrite, if appropriate. It seems more appreciate to conduct the multivariate analysis with the data expressed on nonfat dry matter.

In order to complete this study, further research would be needed to a) determine the mineral composition of raw-semidry or fresh sausages from other regions and countries and b) to determine mineral elements not included in this study such as manganese, selenium, sulphur, iodine, chlorine and heavy metals (arsenic, lead, mercury, and cadmium).

¶(14pt)

5. Acknowledgment

¶(6pt)

This study was supported by a pre-doctoral grant (Programa de Mejoramiento del Profesorado, PROMEP) from the Subsecretaría de Educación Superior, Secretaría de Educación Pública (SEP). México, 2008, Folio No. UAEH-112. Moreover, the authors would like to thanks the University of Leon (Spain) and the University Autónoma del Estado de Hidalgo (Mexico) for funding the analysis on with this study is based. We also thank Mrs. Tania Trinidad Enrique for her technical laboratory support and the Instrumental Techniques Laboratory of the University of León where the mineral analysis was carried out.

¶(14pt)

6. References

¶(6pt)

- Adams, M.R. (Ed.) (1986). *Progress in Industrial Microbiology, Vol.23 : Microorganisms in the Production of Food*, Elsevier, ISBN 0-444-42661-2, Amsterdam, Netherlands
- Aguirrezábal, M., Mateo, J., Domínguez, C., & Zumalacárregui, J.M. (1998). Spanish paprika and garlic as sources of compounds of technological interest for the production of dry fermented sausages. *Sciences des Aliments*, Vol.18, No.4, pp. 409-414, ISSN 1684-5615
- AOAC (1999). Official Methods 920.153 ash, 950.46 moisture, 981.10 crude protein, and 991.36 fat (crude) contents in meat and meat products. In: *Official methods of nalysis of the AOAC International* P.A. Cunniff (Ed.), Vol. II, 16th ed., 1-15, AOAC International, ISBN 0-935-58454-4, Gaithersburg, MD, United States of America
- Calvo, M.S., & Park, Y.K. (1996). Changing phosphorus content of the U.S. diet: potential for adverse effects on bone. *The Journal of Nutrition*, Vol.126, No.4 Sup., pp. 1168S-1180S, ISSN 0022-3166
- Codex Alimentarius (2009). *General Standard for Food Additives*. Food Agriculture Organization and World Health Organization, Retrieved from <http://www.codexalimentarius.net/gsfaonline/foods/index.html?id=127>
- EC (1995). *Council Directive 95/2/EC, February 20th 1995, on Food Additives Other than Colours and Sweeteners*. Official Journal of the European Union, No L 61, pp. 1-56, Amended by Directive 96/85/EC, Directive 98/72/EC, and corrected by C1 Corrigendum, No. L 248, pp. 60, European Union, Luxembourg
- Feiner G. (2006). *Meat Products Handbook: Practical Science and Technology*. Woodhead Publishing Ltd., ISBN 1-845-69050-8, Cambridge, United Kingdom
- Fonseca, B., Kuri, V., Zumalacárregui, J.M., Fernández-Diez, A., Salvá, B.K., Caro, I., Osorio, M.T., Mateo, J. (2011). Effect of the use of a commercial phosphate mixture on selected quality characteristics of 2 Spanish-style dry-ripened sausages. *Journal of Food Science*, Vol.76, No.5, pp. S300-S305, ISSN 0022-1147
- Grembecka, M., Malinowska, E., & Szefer, P. (2007). Differentiation of market coffee and its infusions in view of their mineral composition. *Science of the Total Environment*, Vol.383, No.1-3, pp. 59-69, ISSN 0048-9697
- Hazell, T. (1982). Iron and zinc compounds in the muscle meats of beef, lamb, pork and chicken. *Journal of the Science and Food Agriculture*, Vol.33, No.10, pp. 1049-1056, ISSN 1097-0010
- Hoogenkamp, H.W. (2005). *Soy Protein and Formulated Meat Products*. CABI Publishing, ISBN 0-851-99864-X, Oxfordshire, United Kingdom
- Ibáñez, E., & Cifuentes, A. (2001). New analytical techniques in food science. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, Vol.41, No.6, pp. 413-450, ISSN 1040-8398
- Jiménez-Colmenero, F., Reig, M., & Toldrá, F. (2006). New Approaches for the Development of Functional Meat Products. In: *Advanced Technologies for Meat Processing*, L.M.L. Nollet & F. Toldrá (Eds.), pp. 275-308, CRC Press-Taylor & Francis Group, ISBN 1-574-44587-1, Boca Raton, FL, United States of America
- Jiménez-Colmenero, F., Pintado, T., Cofrades, S., Ruíz-Capillas, C., & Bastida, S. (2010). Production variations of nutritional composition of commercial meat products. *Food Research International*, Vol.43, No.10, pp. 2378-2384, ISSN 0963-9969
- Kelly S. D., & Bateman, A. S. (2010). Comparison of mineral concentrations in commercially grown organic and conventional crops - Tomatoes (*Lycopersicon esculentum*) and lettuces (*Lactuca sativa*). *Food Chemistry* Vol.119, No.2, pp. 738-745, ISSN 0308-8146
- Kuri, V., Madden, R.H., & Collins, M.A. (1995). Hygienic quality of raw pork and chorizo (raw pork sausage) on retail sale in Mexico city. *Journal of Food Protection*, Vol.59, No.2, pp. 141-145, ISSN 0362-028X
- Lombardi-Boccia, G., Lanzi, S., & Aguzzi, A. (2005). Aspects of meat quality: trace elements and B vitamins in raw and cooked meats. *Journal of Food Composition and Analysis*, Vol.18, No.1, pp. 39-46, ISSN 0889-1575
- Luykx, D.M.A.M., & van Ruth, S.M. (2008). An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products. *Food Chemistry*, Vol.107, No.2, pp. 897-911, ISSN 0308-8146
- Mateo, J., Caro, I., Figueira, A.C., Ramos, D., & Zumalacárregui, J.M. (2008). Meat Processing in Ibero-American Countries: a Historical View. In: *Traditional food production and rural sustainable. A European challenge*, V.T. Noronha, P. Nijkamp, & J.L. Rastoin (Eds.), 121-134, Ashgate Publishing Ltd., ISBN 0-754-67462-2, Surrey, Reino Unido
- McAfee, A.J., McSorley, E.M., Cuskelly, G.J., Moss, B.W., Wallace, J.M.W., Bonham, M.P., & Fearon, A.M. (2010). Red meat consumption: An overview of the risks and benefits. *Meat Science*, Vol.84, No.1, pp. 1-13, ISSN 0309-1740
- Newman, P.B. (1981). The separation of meat from bone - a review of the mechanics and the problems. *Meat Science*, Vol.5, No.3, pp. 171-200, ISSN 0309-1740
- Quitaes, K.D., Amaya-Farfan, J., Tomazini, F.M., Morgano, M.A., & Mantovani, D.M.B. (2004). Mineral migration from stainless steel, cast iron and soapstone pans (steatite) onto food simulants. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, Vol.24, No.3, pp. 397-402, ISSN 0101-2061
- Reyes García, M., Gómez-Sánchez Prieto, I., Espinoza Barrientos, C., Bravo Rebatta, F., & Ganoza Morón, L. (2009). *Tablas Peruanas de Composición de Alimentos*, Instituto Nacional de Salud, Retrieved from <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Tabla%20de%20Alimentos.pdf>
- Rocha McGuire, A.E. (2008). El uso de soya texturizada como extensor de productos cárnicos. Carnetec, artículos técnicos, Retrieved from <http://www.carnetec.com>

- Ruusunen, M., & Poulanne, E. (2005). Reducing sodium intake from meat products. *Meat Science*, Vol.70, No.3, pp. 531-541, ISSN 0309-1740
- StatSoft Inc. (2001). *STATISTICA* (data analysis software system), version 6. www.statsoft.com
- Sun, S., Guo, B., Wei, Y., & Fan, M. (2011). Multi-element analysis for determining the geographical origin of mutton from different regions of China. *Food Chemistry*, Vol.124, No.3, pp. 1151-1156, ISSN 0308-8146
- Tyszkiewicz, S., Wawrzyniewicz, M., & Borys, A. (2011). Factors influencing physiological phosphorus content in pork meat. *Acta Agrophysica*, Vol.17, No.2, pp. 387-393, ISSN 1234-4125
- USDA (2010). *USDA National Nutrient Database for Standard Reference, release 23*, U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Retrieved from <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/>
- USDA-FSIS (2007). *Safe and Suitable Ingredients Used in the Production of Meat and Poultry Products*. Food Safety and Inspection Service Directive 7120.1, amendment 10, attachment 1, January 18th 2007. U. S. Department of Agriculture, Washington D.C., United States of America

8 ANEXOS

Anexo 1

Grain Processing Corporation

Product Specification

MALTRIN® M100 Maltodextrin

MALTRIN® M100 maltodextrin is a 10 DE, bland, low sweetness, white carbohydrate powder. MALTRIN® M100 is an ideal carrier, filler, and product extender. It is readily dispersible and readily soluble, yet has very low hygroscopic characteristics.

STANDARD SPECIFICATIONS

Dextrose Equivalent	9.0-12.0
Moisture, %	6.00 max.
Ash, %	0.50 max.
pH (20% solution)	3.9- 5.1
Bulk Density (packed), lb/cu ft	30.0-- 39.0
Aerobic Plate Count, CFU/g	100 max.
Yeast, CFU/g	50 max.
Mold, CFU/g	50 max.
Coliforms, MPN	<3/10 g
E. coli	Negative/10 g
Salmonella	Negative/25 g

TYPICAL CARBOHYDRATE PROFILE (Dry Basis)

Monosaccharides	0.8%
Disaccharides	2.9%
Trisaccharides	4.4%
Tetrasaccharides	3.8%
Pentasaccharides & Above	88.1%

SOLUBILITY

MALTRIN® M100 disperses easily to produce a clear solution at 30% solids.

VISCOSITY

MALTRIN® M100 has Newtonian viscosity when initially put into solution. At high levels (above 40%), it will contribute significantly to solution viscosity.

APPLICATIONS

MALTRIN® M100 is suggested for use in dry mixes, spray-dried foods, frozen foods, confections, bakery items, nondairy products, and snack foods.

LABELING

MALTRIN® M100 is a food grade carbohydrate. The correct labeling is "Maltodextrin." Label declarations should be cleared with your legal counsel.

PACKAGING

MALTRIN® M100 maltodextrin is packaged in 50-pound net, multiwall, individually shrink-wrapped bags for maximum moisture resistance.

STORAGE CONDITIONS AND SHELF LIFE

Store in cool, dry area, preferably less than 90°F and less than 60% relative humidity. Under these conditions, shelf life of unopened bags should be a minimum of two years. Retesting moisture and microbiological values at shorter intervals may be recommended if ambient conditions exceed above.

LOT CODES

Each lot contains 180,000 pounds. Example: M0101801. The first alpha character is the product, M=MALTRIN®; the next two numbers are the year, 01=2001; the following three numbers are the Julian date, 018=January 18; characters following the Julian date indicate the product line and the lot of the day, 01=first lot.

Contacts:

Hong Kong:
Premium Development Co., Ltd.
Office 4A, Crawford Tower,
99-101, Jervios Street, Sheung Wan.
Tel: 852-25599967 Fax: 852-25599289
email: sales@premiumd.com

China:
Staple Flavour & Fragrance Co., Ltd.
Rm. 1407, Ming Yue Ge, No.20 Ming Yue #1 Road,
Guangzhou Da Dao, Guangzhou, China.
Tel: 020-87358046, 87358801 Fax: 020-87358047
Email: staple@21cn.com

This information is presented in good faith but it is not warranted as to accuracy of results. Also, freedom of patent infringement is not implied. This information is offered solely for your investigation, verification and consideration.

255 FOUNTAIN STREET AKRON, OHIO 44304-1991
330-535-2100 • 800-321-2260 • FAX 330-535-8947

MINERAL FILLERS -ADDITIONAL FILLERS-

HUBERSORB®

DESCRIPTION:

Hubersorb is a fine, precipitated amorphous calcium silicate powder. The product line consists of a select range of particle sizes and surface areas. Calcium silicate has FDA status listed in CFR 21, section 182.2227, GRAS – Anti-caking Agents. The production of these powders is under constant quality surveying by statistical process and quality controls to insure the highest quality possible.

Hubersorb is noted for its high absorbency and anti-caking properties. These products are utilized in the manufacturing dry liquid concentrates. In elastomeric compounds, Hubersorbs find their niche in formulations with high plasticizer content. These fillers help keep batches dry and improve processing, with little or no effect on physical properties. If a small decrease in physical properties is experienced, add 1-3 phr of PEG, DEG or TEA.

TYPICAL PROPERTIES:

<i>Grade: Hubersorb</i>	<i>250</i>	<i>600</i>	<i>5121</i>
Form	powder	powder	spray-dried powder
Oil Absorption cc/100 gms	280	475	100
Average Particle Size, μ	20.0	6.0 ³	33.0
pH (5%)	9.8	10.0	9.0
Surface Area (BET), m ² /gm	120	300	50
Bulk Density, lbs./ft ³	16	10	23
Heat Loss, 105°C/2 hr, %	7.0	6.0	6.0
Sieve Residue, %	5.0 (#100 sieve)	0.7 (#325 sieve)	na
Carry Capacity (DBEEA)	5.0 (#100 sieve)	71 (#325 sieve)	na

wd - 709
Hubersorb

Included with its product literature and upon the request of its customers, Akrochem provides product specifications and evaluations, suggested formulations and recommendations and other technical assistance, both orally and in writing (collectively the "Technical Information"). Although Akrochem believes all Technical Information to be true and correct, it makes no warranty, either express or implied, as to the accuracy, completeness, or fitness of the Technical Information for any intended use, or the results which may be obtained by any person using the Technical Information. Akrochem will not be liable for any cost, loss or damage, in tort, contract or otherwise, arising from customer's use of Akrochem products or Technical Information. It is the customer's sole responsibility to test the products and any Technical Information provided to determine whether they are suitable for the customer's needs. Before working with any product, the

customer must read and become familiar with available information concerning its hazards, proper use, storage and handling, including all health, safety, and hygiene precautions recommended by the manufacturer. Nothing in the Technical Information is intended to be a recommendation to use any product, method, or process in violation of any intellectual property rights governing such product, method, or process. No license is implied or granted by Akrochem as to any such product, method, or process. AKROCHEM CORPORATION DISCLAIMS ANY AND ALL WARRANTIES, EXPRESS AND IMPLIED, INCLUDING WITHOUT LIMITATION, WARRANTIES OF MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR ANY PARTICULAR PURPOSE, RELATED TO ANY PRODUCTS OR TECHNICAL INFORMATION PROVIDED BY AKROCHEM.

Anexo 3

Technical Information

Date : April 18, 2005

RE : 3MIL VAC BAG

Material : COPA/TIE/MPE/TIE/PA/TIE/MPE
[7LAYER CO-EX FILM, PA20%+TIE24%+MPE56%]

Properties		Unit	Typical Value	Test Method
Thickness		Mil (MIC)	3 (75)	FTM
Thickness Deviation		%	+11% / -5%	FTM
Tensile Strength @Break Point	MD	Mpa	24	ASTM D882
	TD	Mpa	24	ASTM D882
Elongation @Break Point	MD	%	320	ASTM D882
	TD	%	320	ASTM D882
C.O.F. (IN / IN)	US		0.35	ASTM D1894
	UK		0.30	ASTM D1894
Haze		%	15.0	ASTM D1003
Recommendable Heat Seal Temperature Range		°C (°F)	150 – 180 (302 – 356)	FTM
Heat Seal Strength		N /15mm	20@160°C (320°F)	FTM
Tear Strength(90°)	MD	KN / m	100	FTM
	TD	KN / m	110	FTM
Gel Size		mm	1.0 less	FTM
Gel Counts		No./m ²	15 less	FTM
O2TR (At 23 ± 2 °C, Dry)		cc / 100in ² .24hr (cc / m ² .24hr)	4.52 (70.0)	ASTM D3985
WVTR (At 38.2 ± 2 °C, 90% RH)		g / 100in ² .24hr (g / m ² .24hr)	0.48 (7.5)	ASTM F1249

Disclaimer : This data should be used as average typical properties and not as a specification. This data is offered for information purposes and does not represent any type of guarantee or warranty of performance. Flair assumes no liability for any incidents that may arise from use of this data.

Anexo 4

PRUEBA HEDONICA

Producto: Chorizo

Nombre _____ Código _____ Fecha _____ (R. INT) _____

A continuación se presentan 6 muestras de chorizo, por favor evalúe su nivel de agrado y marque su resultado en la escala (marque x en el número correspondiente) justifique su respuesta en caso de que su sea igual o menor a dos

Apariencia externa

1	2	3	4	5

Justifique: _____

Olor

1	2	3	4	5

Justifique: _____

Gusto

1	2	3	4	5

Justifique: _____

Por su colaboración, muchas gracias.

Anexo 5

HOJA TÉCNICA DE PRODUCTO		
Material:	FCT/3	Edición:
Descripción:	FILM CATERING 300	C-4,5-2-05 Rev 1

PROPIEDAD	UNIDADES	METODO	VALOR	VALOR
Espesor Medio	Micras (μm)	D374	8,5	$\pm 5\%$
Tamaño Mandril - (Diámetro Interior)	Milímetros (mm)	N/A	50	50
Permeabilidad al Oxígeno	$\text{cc}/\text{m}^2/24\text{hr}$	D1434	4000	4500
Permeabilidad al Dióxido de Carbono	$\text{cm}^3/(\text{m}^2 \cdot 24\text{H} \cdot \text{bar})$	D1434	35000	36000
Permeabilidad al vapor de agua	$\text{g}/(\text{m}^2 \cdot 24\text{H})$	E96	140	145
Resistencia a la Tracción (MD)	Kg/cm^2	D882	250	260
Resistencia a la Tracción (TD)	Kg/cm^2	D882	260	270
Resistencia a la Rotura (MD)	N/mm	ASTM D1922	90	110
Resistencia a la Rotura (TD)	N/mm	ASTM D1922	95	99
Estiramiento (MD)	%	D882	220	240
Estiramiento (TD)	%	D882	270	280
Potencia	-	m^2/Kg	73	67
Fuerza Interna (MD)	N/mm	ASTM D1922	84	88
Fuerza Interna (TD)	N/mm	ASTM D1922	96	98
M.V.T.R. Propiedades Barrera (38°C 90% u.r.)	$\text{g}/(\text{m}^2 \cdot 24\text{H})$	ASTM F1249.90	702	678

Mantiene los alimentos frescos,
Alta permeabilidad al vapor de agua
Resistente a las perforaciones
Antiempañamiento
Brillante y transparente

DIN EN ISO 9002
Certificado N° 01 100
028058