

UNIVERSIDAD DE LEÓN
FACULTAD DE VETERINARIA
DEPARTAMENTO DE HIGIENE Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS



universidad
de león

**ESTUDIO DEL EFECTO DE DIVERSOS FACTORES
TECNOLÓGICOS SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS DE
CALIDAD DEL CHARQUI, EL CHORIZO Y UN EMBUTIDO
CRUDO-CURADO BAJO EN GRASA, CON ESPECIAL
INTERÉS EN LOS COMPUESTOS VOLÁTILES**

**EFFECT OF SELECTED TECHNOLOGICAL FACTORS ON
THE QUALITY TRAITS OF CHARQUI, CHORIZO SAUSAGE,
AND A REDUCED FAT DRY-RIPENED SAUSAGE, WITH
PARTICULAR INTEREST IN VOLATILE COMPOUNDS**

Memoria presentada por:

Ana Fernández Diez,

Licenciada en Farmacia y Licenciada en Ciencia y Tecnología de los Alimentos,
para optar al grado de Doctora por la Universidad de León

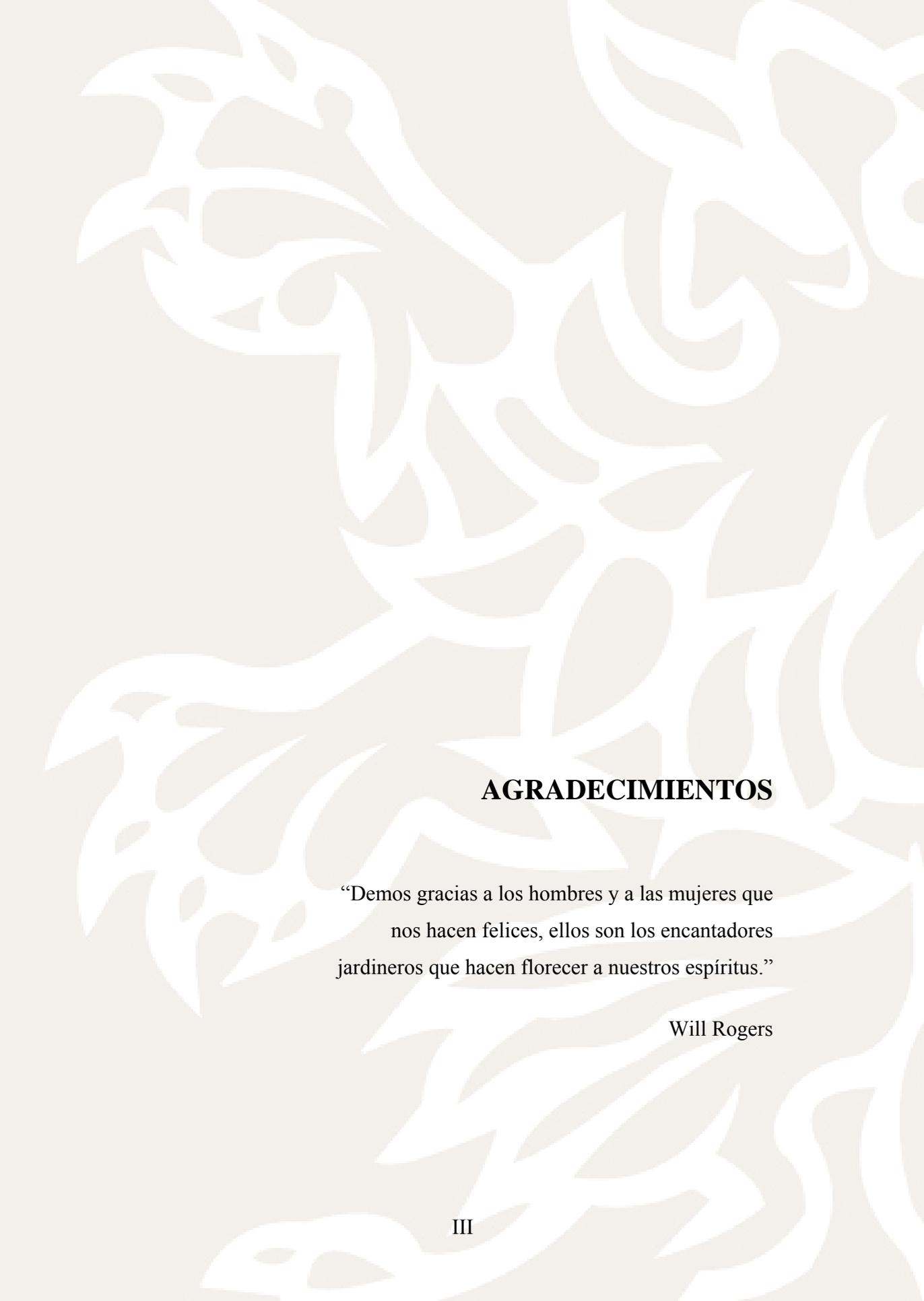
Dirigida por:

Dr. Javier Mateo Oyagüe

Profesor Titular del Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos

León, mayo de 2013

Esta tesis Doctoral ha sido desarrollada con apoyo de la Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo, con el proyecto titulado “Capacitación en estrategias de mejora para el aprovechamiento de carne de alpaca y desarrollo de productos cárnicos apropiados y funcionales con el fin de diversificar la oferta y dar un mayor agregado” del Programa de Cooperación Interuniversitaria e Investigación Científica para Latinoamérica A/020112/08, de la Fundación Carolina – España, y de los fondos de investigación del Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de León.



AGRADECIMIENTOS

“Demos gracias a los hombres y a las mujeres que nos hacen felices, ellos son los encantadores jardineros que hacen florecer a nuestros espíritus.”

Will Rogers

El desarrollo de esta tesis doctoral ha sido posible gracias a la colaboración de muchas personas, que han aportado su tiempo, sus conocimientos, su experiencia, su ayuda y su apoyo.

En primer lugar, mi más sincero agradecimiento a mi director de tesis, el Dr. Javier Mateo Oyagüe, de quien he aprendido y sigo aprendiendo a nivel académico y personal, por darme la oportunidad de iniciarme en la investigación y guiarme durante todo este tiempo, por su confianza, por su gran capacidad de trabajo y por su constante apoyo y ayuda.

A Tania Trinidad Enrique, por la colaboración y ayuda en el laboratorio y porque podría escribir otra tesis sobre los buenos momentos que hemos pasado y seguiremos pasando juntas.

A Domingo Fernández García, por realizar el diseño de la portada de esta tesis, por poner a mi disposición su conocimiento y experiencia en el manejo de equipos y trabajo de laboratorio, contribuyendo así a mi formación además de ayudarme y apoyarme en este proyecto y, lo más difícil, por su gran entereza soportándome durante horas sin perder su sonrisa, por las risas, las bromas y las largas conversaciones durante las que se convirtió en un gran amigo.

A los muchos becarios que han colaborado en el desarrollo de esta tesis, aportando su trabajo y ganas de aprender, en especial Ceci y Amaya.

A Pedro González Martínez, por leerse hojas y hojas disimulando el aburrimiento, colaborar en el diseño y maquetado, ayudar en las correcciones y apoyarme en todo momento.

A Alicia Fernández Díez y Guillermo Calvo Flores, por su labor como “coche de apoyo” en el aspecto informático, diseño, formato, etc.

A la Universidad de Cáceres, donde recibí parte de los cursos durante el periodo de docencia.

A la Universidad de León, por haberme permitido utilizar y disponer de sus instalaciones y equipos.

Al personal del Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos. En especial a Dolores, por facilitarme el trabajo, por el cariño y afecto que me ha regalado, por su apoyo y por convertirse en una buena amiga. A Daphne, por sus

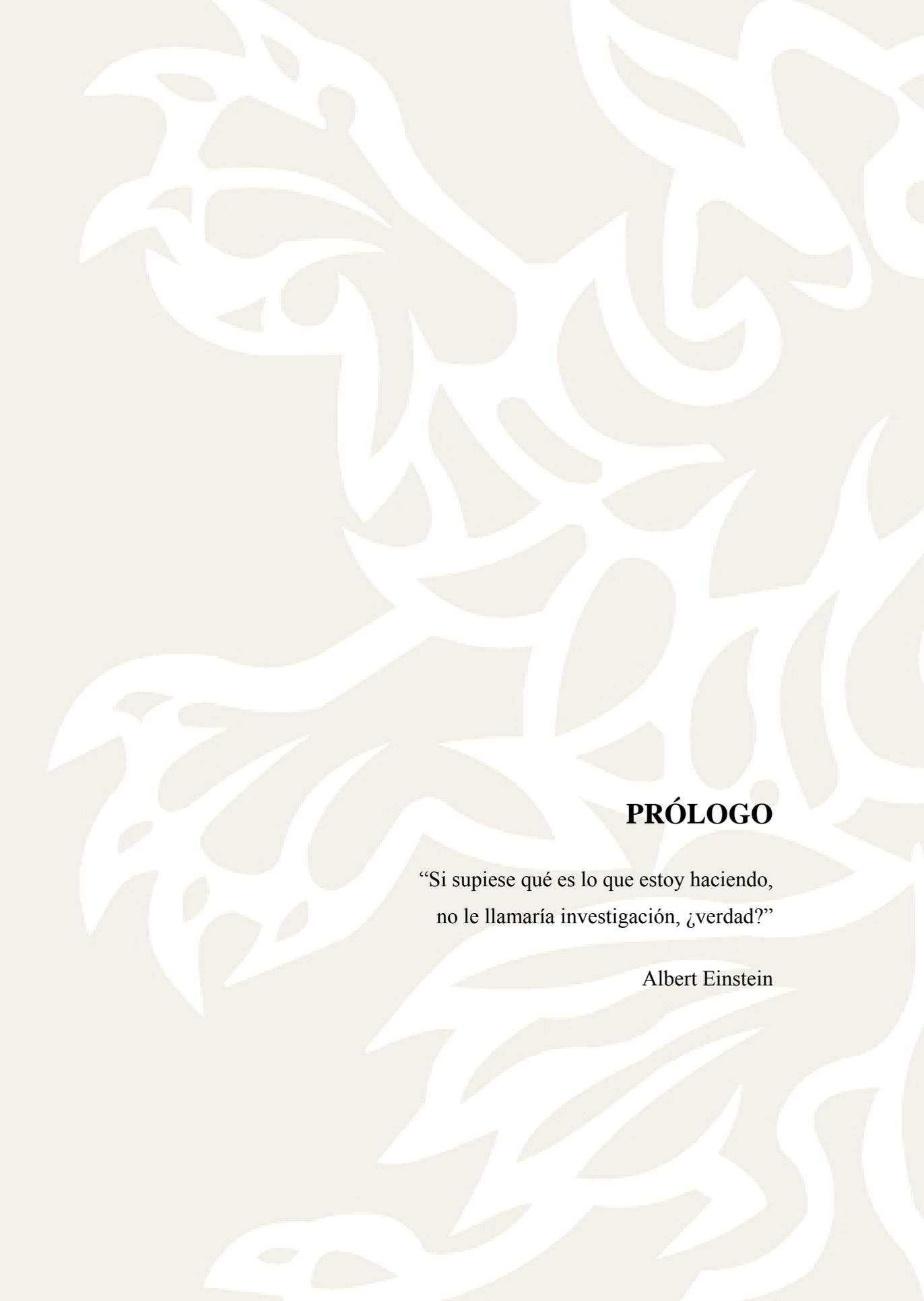
buenos consejos, en lo académico y en lo personal y por seguir cerca aun estando lejos. A Roberto, por enseñarme trucos informáticos durante horas de agradable compañía. A Bettit, por la dulzura y cariño con la que me permitió aprender a trabajar en el laboratorio a su lado. A Avelino, por animarme a iniciar esta etapa y los muchos buenos momentos vividos. A Isa, que ha sido mi compañera en esta locura desde el principio. A Bernardo, por estar siempre dispuesto a ayudar y hacer que trabajar sea más agradable en buena compañía. A Ricardo, por ser uno de los mejores docentes con los que he tenido la suerte de aprender, por su ayuda y buenos consejos de laboratorio y por su alegría y buen humor. A Irma, por su constante ánimo y apoyo. A Montse, por todo lo que me enseñó como alumna y los agradables ratos de conversación. A Leti, que además de facilitarme el trabajo, contribuye a que éste sea más grato con su cariño y buena compañía. A Noelia, Patri y Bea, por los viajes, los cafés y los buenos momentos. A Chema Fresno, gran profesor y mejor compañero. A Sergio, Luz, Lucia y Aída, que desde la visión de quien comparte mi misma experiencia, me han apoyado en este proyecto. A Julio, siempre dispuesto a ayudar y alegrarte el trabajo con muchos conocimientos, buen carácter y un poco de música. A Merche, Pepa y Ana, por las horas de formación y por los buenos momentos de distensión. A Maria Eugenia, Araceli, Chema Castro, y Dori, por apoyarme y por los muchos ratos de amena conversación.

A mis compañeros en el Instituto de Ciencia y Tecnología de los alimentos (ICTAL): a Javier Sanz, por toda la ayuda y colaboración en el laboratorio y los agradables ratos de conversación, a Tiquio, por su ayuda en el laboratorio, por preocuparse de que no me “quedara tonta con los ultrasonidos”, por su forma de ser, su alegría y su cariño, a Eugenia, porque me llevo muy buenos recuerdos y una amiga, a Rosana, Servi, Maria Jose, María, Camino, Miguel, Cristina y Diana, por su apoyo y buena compañía.

A mi familia, por su apoyo incondicional.

A mis amigos, a los que siempre han estado ahí y a los que fueron llegando para quedarse, en especial a Laura, Pilar, Coral, Rocío, Raquel, Ana, Laura, Juan, Teresa, Corchero, Andrea, Michelo, Ángela, Álvaro, Azu y Sonia.

*A mis padres, a mi hermana
y a Pedro, por su apoyo, su
paciencia y su cariño.*



PRÓLOGO

“Si supiese qué es lo que estoy haciendo,
no le llamaría investigación, ¿verdad?”

Albert Einstein

Cuando comemos, nuestros sentidos entran en acción, y son las sensaciones que percibimos, apariencia, olor, textura, aroma, sabor, incluso el sonido al masticar un alimento, las responsables de nuestras preferencias. De entre estas sensaciones, el aroma es uno de los atributos más importantes en la calidad sensorial de un alimento. Entendido como la sensación producida por las sustancias aromáticas de un alimento después de haberse puesto en la boca, el aroma condiciona en gran medida el grado de aceptación o el rechazo a su consumo. En los productos cárnicos, el aroma viene determinado por una compleja mezcla de compuestos de distinta estructura química, que en muchos casos son generados a partir de sus correspondientes precursores, por medio de reacciones químicas, enzimáticas, procesos microbiológicos, etc. La formación de compuestos aromáticos está condicionada por diversos factores como la especie animal, la dieta que recibe, las condiciones de sacrificio, el procesado del producto, las condiciones de envasado y/o almacenamiento y el cocinado. La contribución de cada una de las sustancias volátiles al aroma de un producto cárnico dependerá de su concentración en el alimento, de las interacciones que haya entre ellas y la matriz que los contiene y de su umbral de percepción.

Dentro de este complejo contexto, el presente trabajo contribuye al conocimiento de los compuestos volátiles de diversos productos cárnicos (charqui andino, chorizo fresco y crudo-curado, embutido crudo-curado de bajo calibre) y de cómo afectan a su perfil volátil determinados factores tecnológicos del proceso de elaboración, almacenamiento y/o preparación culinaria. En el trabajo, se describen cuatro experimentos, cada uno con un producto cárnico diferente, en los que se identifican y cuantifican los compuestos volátiles del espacio de cabeza de los correspondientes productos. En de cada experimento se compara el perfil aromático de los productos estudiados entre distintos tratamientos tecnológicos a los que han sido expuestos, relacionados con la forma de elaboración o las condiciones de almacenamiento. El análisis de compuestos volátiles se ha llevado a cabo

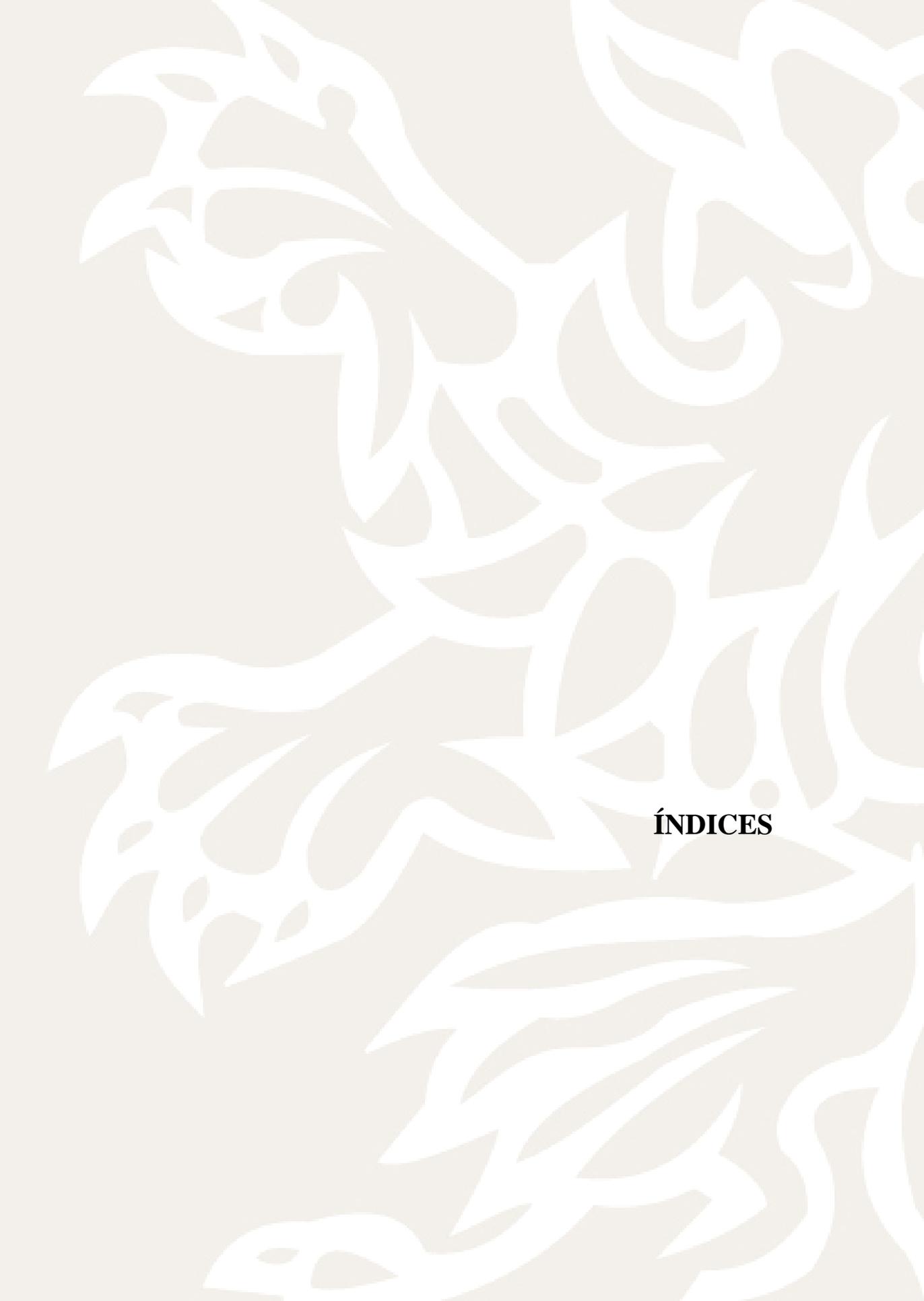
mediante la técnica de extracción de espacio de cabeza o mediante microextracción en fase sólida (SPME), dependiendo del experimento y su posterior separación e identificación mediante métodos basados en la técnica de cromatografía gaseosa acoplada a espectrometría de masas.

La tesis doctoral consta de tres capítulos. En el primer capítulo se ha llevado a cabo el análisis de volátiles del charqui andino de alpaca, un producto tradicional elaborado con carne de alpaca salada y secada a la intemperie, que es consumido en comidas típicas regionales, por ejemplo en sopas, cocido o frito, y ha sido muy poco estudiado hasta el momento. En este capítulo, por una parte se ha comparado el contenido en volátiles del charqui en función de su forma de elaboración, según las dos técnicas más empleadas en Perú (principal país productor de charqui en la actualidad): charqui de filetes de carne y charqui de piezas de carne con hueso. Esta parte del capítulo se ha publicado en la revista *Food Chemistry* (Salvá, B.K, Fernández-Diez, A., Ramos, D. D., Caro, I., Mateo, J., 2012, *Food Chemistry*, 130, 329-334). Por otra parte, se ha estudiado la influencia de un periodo de almacenamiento del charqui (5 meses) a temperatura ambiente sobre su contenido en compuestos volátiles. Esta segunda parte se ha publicado en la revista *Anales de Veterinaria de Murcia* (Fernández-Diez, A. Salvá-Ruiz, B. K., Ramos-Delgado, D. D., Caro, I., Mateo, J., *Anales de Veterinaria de Murcia*, 2012, 28, 93-105).

El segundo capítulo está dedicado al contenido en volátiles del chorizo y se ha estructurado en dos partes. En la primera se ha estudiado el contenido en volátiles de chorizo fresco mexicano y en la segunda los volátiles de chorizo crudo-curado español. Este embutido, tanto fresco como crudo-curado presenta un aroma característico. En este capítulo se ha evaluado el efecto de diversos factores de la elaboración (elaboración artesanal o industrial, grado de secado) y almacenamiento (uso de vacío y atmósfera modificada, temperatura y tiempo) sobre el contenido en volátiles de los chorizos y su evolución durante el almacenamiento. En relación al

chorizo fresco, además, se ha comparado el contenido en volátiles entre el chorizo sin cocinar y cocinado.

Por último, el tercer capítulo se ha dedicado al desarrollo de un embutido crudo-curado de pequeño calibre bajo en grasa apropiado para su elaboración en la zona Andina. Se elaboraron embutidos con una relación carne:grasa convencional y embutidos en los que se sustituyeron distintas proporciones de grasa por un ingrediente vegetal, quinua o patata. Para conocer los efectos de la reducción y sustitución de grasa, se monitorizaron los valores de actividad de agua y pH y la pérdida de peso durante la fase de secado y se determinaron composición proximal, sustancias reactivas al ácido barbitúrico, compuestos volátiles, color, textura, análisis microbiológicos y análisis sensoriales en el embutido final. Los compuestos volátiles se extrajeron mediante la técnica de microextracción en fase sólida, a diferencia de los capítulos anteriores, en los que se empleó la técnica de espacio de cabeza estático sin ningún tipo de concentración.



ÍNDICES

ÍNDICE GENERAL

AGRADECIMIENTOS.....	III
PRÓLOGO.....	VI
CAPÍTULO 1. Compuestos volátiles del charqui andino de alpaca...	1
RESUMEN.....	3
1. INTRODUCCIÓN.....	5
1.1. Charqui andino. Proceso de elaboración y composición.....	5
1.2. Compuestos volátiles del charqui de alpaca.....	10
1.2.1. Generalidades.....	10
1.2.2. Compuestos volátiles en los productos cárnicos crudo curados de pieza entera.....	11
1.2.3. Compuestos volátiles de la carne de rumiante cocinada.....	14
1.3. Objetivos del estudio.....	16
2. MATERIAL Y MÉTODOS.....	16
2.1. Muestras, muestreo, conservación y preparación de muestras para análisis	16
2.2. Determinación de compuestos volátiles del charqui.....	20
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	23
3.1. Compuestos volátiles del charqui recién elaborado.....	23
3.2. Compuestos volátiles del charqui deshilachado después de 5 meses de almacenamiento.....	29
4. CONCLUSIONES.....	36
5. BIBLIOGRAFÍA.....	37
CAPÍTULO 2. Evolución de los compuestos volátiles de un chorizo fresco y otro crudo-curado durante su almacenamiento.....	45
RESUMEN.....	47
1. INTRODUCCIÓN.....	50
1.1. Embutidos crudos, generalidades.....	50
1.2. Embutidos frescos.....	52
1.2.1. Proceso de elaboración.....	52
1.2.2. Conservación de los embutidos frescos.....	52

1.2.3. El chorizo en México, un embutidos fresco y fermentado.....	54
1.3. Embutidos crudo-curados.....	56
1.3.1. Proceso de elaboración.....	56
1.3.2. Envasado a vacío y con atmósferas modificadas de los embutidos crudo-curados.....	60
1.3.3. El chorizo crudo-curado en España.....	63
1.4. Compuestos volátiles de los embutidos crudos.....	64
1.4.1. Generalidades.....	64
1.4.2. Compuestos volátiles de los embutidos en función de su origen.....	67
1.4.2.1. Derivados de hidratos de carbono/fermentación.....	67
1.4.2.2. Lipólisis y oxidación de los ácidos grasos.....	67
1.4.2.3. Derivados de proteínas y aminoácidos.....	68
1.4.2.4. Especies y condimentos.....	69
1.4.2.5. Cocinado.....	69
1.5. Objetivos.....	70
1.5.1. Objetivos parte I.....	71
1.5.2. Objetivos parte II.....	71
<i>2. CAPÍTULO 2. PARTE I: Evolución de los compuestos volátiles del chorizo mexicano durante su almacenamiento a refrigeración en distintas condiciones (a_w y atmósfera).....</i>	<i>72</i>
2.1. MATERIAL Y MÉTODOS.....	72
2.1.1. Muestras, condiciones de almacenamiento, muestreo y preparación de muestras para el análisis.....	72
2.1.2. Análisis del contenido en volátiles de los chorizos.....	75
2.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	76
2.2.1. Chorizo crudo.....	76
2.2.1.1. compuestos volátiles detectados.....	76
2.2.1.2. Cambios en los volátiles durante el almacenamiento.....	82
2.2.2. Chorizo cocinado.....	91
2.2.2.1. Compuestos volátiles del chorizo cocinado.....	91
2.2.2.2. cambios en los volátiles durante el almacenamiento.....	94
2.2.3. Efecto del cocinado sobre los compuestos volátiles del chorizo.....	100

2.3. CONCLUSIONES.....	102
<i>3. CAPÍTULO 2. PARTE II: Evolución de los compuestos volátiles del chorizo crudo-curado durante su almacenamiento a vacío o con atmósferas modificadas. Efectos de la temperatura, la presencia de CO₂ y la a_w.....</i>	104
3.1. MATERIAL Y MÉTODOS.....	104
3.1.1. Elaboración de los chorizos, condiciones de almacenamiento, muestreo y preparación de las muestras para análisis.....	104
3.1.1.1. Experimento 1. Efecto de la temperatura (4 vs 12 °C) sobre la evolución de los componentes volátiles del chorizo crudo-curado durante su almacenamiento a vacío.....	104
3.1.1.2. Experimento 2. Efecto de la inclusión de CO ₂ sobre la evolución de los componentes volátiles del chorizo crudo-curado con valores de a _w de 0,88 y 0,84 durante su almacenamiento a 12 °C en AM de N ₂	107
3.1.2. Análisis del contenido en volátiles de los chorizos.....	108
3.2. RESULTADOS.....	111
3.2.1. Experimento 1. Evolución de los componentes volátiles del chorizo crudo-curado durante su almacenamiento a vacío a dos temperaturas diferentes (4 y 12 °C).....	111
3.2.2. Experimento 2. Evolución de los componentes volátiles del chorizo crudo-curado con valores de a _w de 0,88 y 0,84 durante su almacenamiento a 12 °C en AM de N ₂ con o sin inclusión de CO ₂	115
3.3. DISCUSIÓN.....	122
3.3.1. Compuestos volátiles en el espacio de cabeza de los chorizos crudos-curados.....	122
3.3.2. Efecto del tipo de chorizo y la temperatura de almacenamiento en los compuestos volátiles de los chorizos envasados a vacío.....	126
3.3.3. Efecto de la a _w del chorizo y la presencia de CO ₂ (20%) en la atmósfera sobre los volátiles del chorizo almacenado a 12 °C.....	127
3.3.4. Efecto del tiempo de almacenamiento sobre los volátiles del chorizo.....	128
3.4. CONCLUSIONES.....	131
3.5. BIBLIOGRAFÍA.....	132

CAPÍTULO 3. Sustitución de grasa por patata o quinua en un embutido crudo-curado de pequeño calibre.....	155
RESUMEN.....	157
1. INTRODUCCIÓN.....	159
1.1. Generalidades.....	159
1.2. Estrategias seguidas para la reducción del contenido en grasa de los embutidos crudo-curados.....	161
1.3. Efectos de la reducción del contenido en grasa sobre la calidad sensorial de los embutidos crudo-curados.....	163
1.3.1. Reducción del contenido en grasa sin adición del reemplazante.....	163
1.3.2. Reducción del contenido en grasa con inclusión de reemplazantes.....	167
1.4. Objetivos del presente estudio.....	173
2. MATERIAL Y MÉTODOS.....	174
2.1. Elaboración de los embutidos, monitorización de la pérdida de peso, el pH y la a_w durante el secado de los mismos, muestreo y preparación de muestras para análisis.....	174
2.2. Determinación de la humedad.....	178
2.3. Determinación de la grasa.....	179
2.4. Determinación de la proteína.....	181
2.5. Determinación de las cenizas.....	182
2.6. Determinación de las sustancias reactivas al ácido-2-tiobarbitúrico (ATB)..	183
2.7. Determinación del contenido en compuestos volátiles.....	185
2.8. Determinación del color.....	188
2.9. Análisis de perfil de textura.....	189
2.10. Análisis microbiológicos (microbiota aerobia mesófila viable, bacterias ácido lácticas y micrococáceas).....	190
2.10.1 Microbiota aerobia mesófila viable (MAMV).....	191
2.10.2 Bacterias ácido lácticas (BAL).....	192
2.10.3. Cocos Gram + halotolerantes.....	192
2.11. Análisis sensorial.....	193
2.11.1. Análisis descriptivo.....	193
2.11.2. Prueba hedónica.....	197

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	198
3.1. Pérdida de peso, a_w y pH durante la maduración de los embutidos.....	198
3.2. Composición proximal y contenido de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico de los embutidos.....	205
3.3. Recuentos microbiológicos.....	206
3.4. Compuestos volátiles.....	212
3.5. Medidas instrumentales de la textura y color.....	222
3.6. Análisis sensorial.....	226
4. CONCLUSIONES.....	230
5. BIBLIOGRAFÍA.....	231

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1.1. Concentración (ng de undecano por g) de los compuestos volátiles detectados en los dos tipos de charqui de alpaca estudiados.....	24
TABLA 1.2. Concentración (ng de undecano por g) de alcanos y alquenos de cadena ramificada no identificados (se muestran los iones principales y entre paréntesis las abundancias relativas correspondientes) en los dos tipos de charqui de alpaca estudiados.....	25
TABLA 1.3. Concentración (ng de undecano por g) de los compuestos volátiles detectados en el charqui de alpaca deshilachado tras 5 meses de almacenamiento y su incremento respecto al charqui recién elaborado..	30
TABLA 1.4. Concentración (ng de undecano por g) de alcanos y alquenos de cadena ramificada no identificados (se muestran los iones principales y entre paréntesis las abundancias relativas correspondientes) en el charqui deshilachado de alpaca tras 5 meses de almacenamiento y su incremento respecto al charqui recién elaborado.....	32
TABLA 2.1. Clasificación de embutidos crudo-curados según el grado de secado.....	51
TABLA 2.2. Clasificación de embutidos de acuerdo a su intensidad de acidificación.....	51
TABLA 2.3. Contenido de ingredientes y aditivos expresados en g/kg de masa inicial para cada uno de los embutidos.....	73
TABLA 2.4. Condiciones de oreo, secado y almacenamiento.....	75
TABLA 2.5. Concentración (ng de undecano por g) de los compuestos volátiles detectados en los chorizos artesanales e industriales antes de su cocinado (n=48).....	80
TABLA 2.6. Niveles de significación en la comparación de medias de los compuestos volátiles de los chorizos (antes de su cocinado) agrupados según las distintas familias químicas, los no identificados y la suma total de compuestos volátiles en función de los distintos factores estudiados.....	82
TABLA 2.7. Evolución de la cantidad de hidrocarburos alifáticos no terpénicos (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado) envasados a distintos valores de a_w	83

(0,96, 0,94 y 0,92) con atmósfera normal (control) o modificada (AM) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=2).....	
TABLA 2.8. Evolución de la cantidad de aldehídos alifáticos de cadena lineal (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado) envasados a distintos valores de a_w (0,96, 0,94 y 0,92) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=4).....	84
TABLA 2.9. Coeficientes de correlación de los principales aldehídos alifáticos de cadena lineal en los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado).....	85
TABLA 2.10. Evolución de la cantidad de alcoholes alifáticos (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=12).....	85
TABLA 2.11. Evolución de la cantidad de ácidos y ésteres (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=12).....	86
TABLA 2.12. Coeficientes de correlación mostrados por los ácidos grasos mayoritarios en los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado).....	86
TABLA 2.13. Evolución de la cantidad de furanos (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado) envasados a distintos valores de a_w (0,96, 0,94 y 0,92) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=4).....	86
TABLA 2.14. Evolución de la cantidad de aldehídos alifáticos de cadena ramificada (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado) envasados a distintos valores de a_w (0,96, 0,94 y 0,92) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=4).....	87
TABLA 2.15. Evolución de la cantidad de compuestos terpénicos (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=12).....	87
TABLA 2.16. Coeficientes de correlación mostrados por los dos terpenos mayoritarios detectados en los chorizos artesanales e industriales	87

(antes del cocinado).....	
TABLA 2.17. Evolución de la cantidad de compuestos azufrados (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=12).....	88
TABLA 2.18. Evolución de la cantidad de compuestos bencénicos (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=12).....	88
TABLA 2.19. Evolución de la cantidad compuestos volátiles totales (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado) envasados con atmósfera normal (control) o modificada (AM) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=6).....	89
TABLA 2.20. Concentración (ng de undecano por g) de los compuestos volátiles detectados en los chorizos artesanales e industriales después de su cocinado (n=48).....	92
TABLA 2.21. Niveles de significación en la comparación de medias de los compuestos volátiles de los chorizos (después de su cocinado) agrupados según las distintas familias químicas, los no identificados y la suma total de compuestos volátiles en función de los distintos factores estudiados.....	94
TABLA 2.22. Evolución de la cantidad de hidrocarburos alifáticos no terpénicos (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (después de su cocinado) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=12).....	95
TABLA 2.23. Evolución de la cantidad de aldehídos alifáticos de cadena lineal (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (después de su cocinado) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=12).....	96
TABLA 2.24. Correlación de aldehídos alifáticos de cadena lineal mayoritarios en los chorizos artesanales e industriales (después de su cocinado).....	96
TABLA 2.25. Evolución de la cantidad de alcoholes alifáticos (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (después de	96

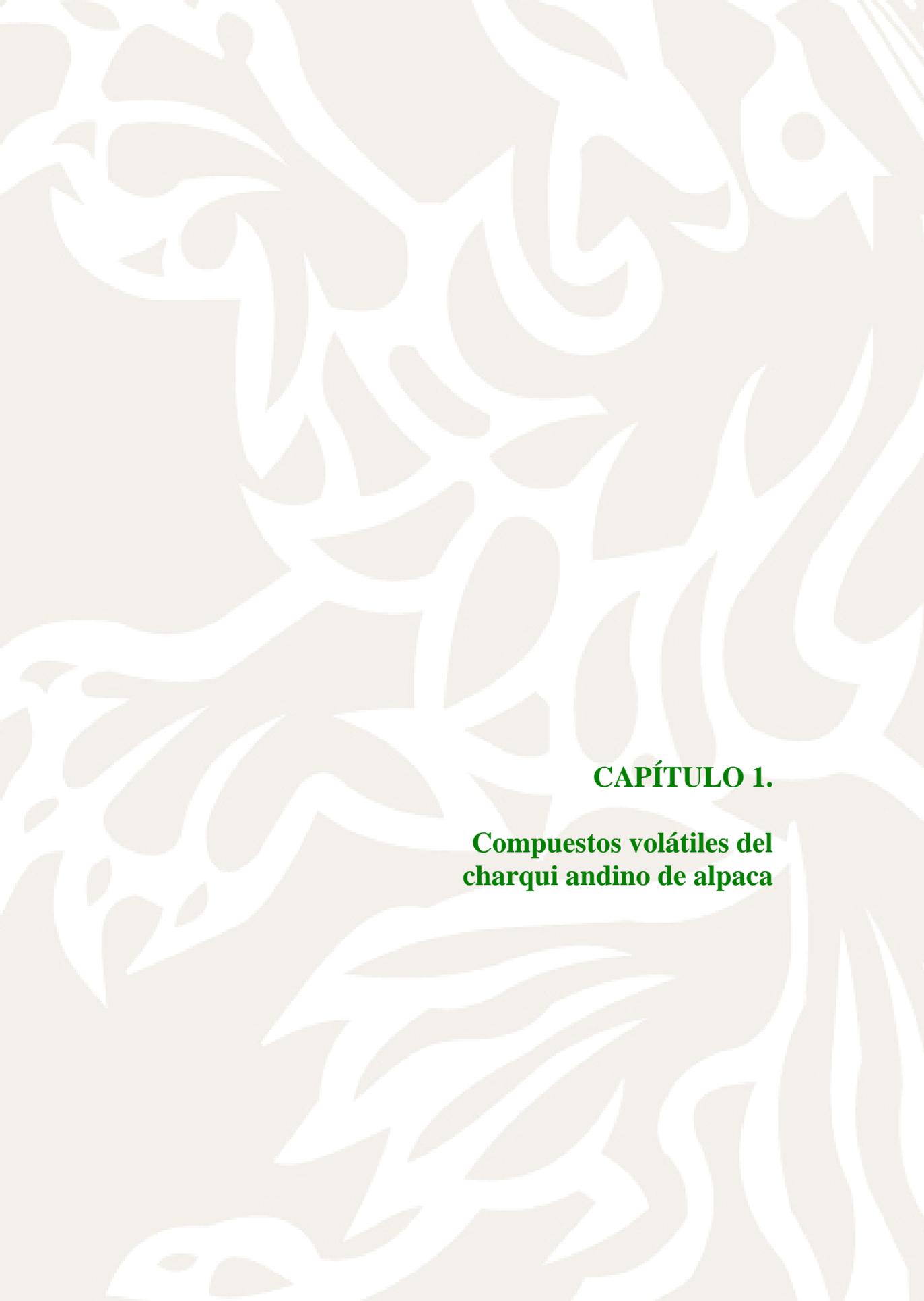
su cocinado) ^s a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=12)...	
TABLA 2.26. Evolución de la cantidad de ácidos y ésteres (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (después de su cocinado) envasados con atmósfera normal (control) o modificada (AM) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=6).....	96
TABLA 2.27. Coeficientes de correlación de los ácidos grasos mayoritarios en los chorizos artesanales e industriales (después de su cocinado).....	97
TABLA 2.28. Evolución de la cantidad de furanos (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (después de su cocinado) envasados a distintos valores de a_w (0,96, 0,94 y 0,92) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=4).....	97
TABLA 2.29. Evolución de la cantidad de aldehídos alifáticos de cadena ramificada (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (después de su cocinado) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=12).....	97
TABLA 2.30. Evolución de la cantidad de compuestos terpénicos (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (después de su cocinado) envasados con atmósfera normal (Control) o modificada (AM) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=6).....	98
TABLA 2.31. Evolución de la cantidad de compuestos azufrados (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (después de su cocinado) envasados a distintos valores de a_w (0,96, 0,94 y 0,92) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=4).....	98
TABLA 2.32. Evolución de la cantidad de compuestos bencénicos (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (después de su cocinado) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=12).....	99
TABLA 2.33. Evolución de la cantidad de compuestos volátiles totales (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (después de su cocinado) envasados con atmósfera normal (Control) o modificada (AM) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=6).....	99
TABLA 2.34. Valores medios de los contenidos de los compuestos volátiles de	102

las distintas familias químicas en chorizos artesanales e industriales, antes y después de su cocinado, expresados como ng de undecano por g de chorizo (entre paréntesis se muestra el % de cada grupo respecto al total de volátiles).....	
TABLA 2.35. Contenido de ingredientes y aditivos expresados en g por kg de masa inicial de cada tipo de chorizo.....	105
TABLA 2.36. Condiciones de oreo, secado, envasado y almacenamiento.....	107
TABLA 2.37. Variables utilizadas en el plan experimental (divisiones experimentales).....	108
TABLA 2.38. Concentración (ng de undecano por g de chorizo) de los compuestos volátiles detectados en el espacio de cabeza de los chorizos artesanales e industriales, almacenados a vacío a temperaturas de 4 y 12 °C hasta 240 días.....	118
TABLA 2.39. Concentración (ng de undecano por g de chorizo) de los compuestos volátiles detectados en el espacio de cabeza de los chorizos industriales, almacenados a temperaturas de 12 °C en AM de N ₂ y N ₂ + CO ₂ durante 240 días.....	120
TABLA 3.1. Contenido de ingredientes mayoritarios de los embutidos expresados en g por kg de masa inicial.....	175
TABLA 3.2. Composición proximal (%) y contenido de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (SRATB; mg de malonaldehído/kg) de los embutidos según el grado de sustitución de grasa y tipo de ingrediente utilizado para dicha sustitución.....	206
TABLA 3.3. Concentración (ng de undecano por g de embutido) de los compuestos volátiles detectados en el espacio de cabeza de los embutidos en función del grado de sustitución de grasa e ingrediente utilizado para dicha sustitución.....	218
TABLA 3.4. Valores del análisis de perfil de textura y de los parámetros del color en los embutidos en función del grado de sustitución de grasa y del ingrediente utilizado para dicha sustitución.....	226
TABLA 3.5. Resultados del análisis sensorial en los embutidos en función del grado de sustitución de grasa y del ingrediente utilizado para dicha sustitución.....	229

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.1.A. Prensado y B. secado de los filetes de alpaca.....	6
FIGURA 1.2. Presentaciones de charqui, deshilachado y cortado en cubos.....	7
FIGURA 1.3.A. Charqui vacuno y B. jerked beef.....	8
FIGURA 1.6. A. Cecina B. Bresaola y C. Pastirma.....	9
FIGURA 1.5.A. Charqui de alpaca deshilachado de Puno y B. Charqui de alpaca con hueso de Sicuani.....	17
FIGURA 1.6. Muestras de charqui deshilachado envasadas para su almacenamiento.....	19
FIGURA 2.1.A Chorizos expuestos en el punto de venta en una carnicería y B. en un mercado rural.....	55
FIGURA 3.1. Carne y grasa de cerdo y patata cocida antes del picado.....	175
FIGURA 3.2. Adición del resto de ingredientes y aditivos a la mezcla picada de carne y grasa o de carne, grasa y sustituto de la grasa (quinua o patata). ..	176
FIGURA 3.3. Masa inicial del embutido.....	176
FIGURA 3.4. Embutidos colgados durante el secado en la cámara de maduración.....	177
FIGURA 3.5. Porciones de embutido envasadas a vacío.....	178
FIGURA 3.6. Esquema de los procesos de extracción de volátiles en el espacio de cabeza de la muestra y su desorción en el cromatógrafo de gases (CG) mediante la técnica de SPME.....	186
FIGURA 3.7. Colorímetro Minolta.....	189
FIGURA 3.8. A. Ficha de cata utilizada para el análisis descriptivo de intensidad de aroma y jugosidad y B. Ficha de cata utilizada para el análisis descriptivo de intensidad de sabor y sensación picante.....	196
FIGURA 3.9. Ficha de cata utilizada para la prueba de grado de satisfacción.....	198
FIGURA 3.10. Evolución de la pérdida de peso (%) en los embutidos de acuerdo al grado de sustitución de grasa (A: —○—: 0%; --□--: 50%; ··◇··: 85%); e ingrediente utilizado para dicha sustitución (B: — - — ☀— - —: quinua; —▲—: patata).....	202
FIGURA 3.11. Evolución de la a_w en los embutidos de acuerdo al grado de sustitución de grasa (A: —○—: 0%; --□--: 50%; ··◇··: 85%); e	203

<p>ingrediente utilizado para dicha sustitución (B: — — ☼ — — — : quinua; —▲—: patata).....</p>	
<p>FIGURA 3.12. Evolución del pH en los embutidos de acuerdo al grado de sustitución de grasa (A: —○—: 0%; -□-: 50%; ·◇·: 85%); e ingrediente utilizado para dicha sustitución (B: — — ☼ — — — : quinua; —▲—: patata).....</p>	204
<p>FIGURA 3.13. Recuentos en PCA obtenidos de embutidos de acuerdo al grado de sustitución de grasa (A) e ingrediente utilizado para dicha sustitución (B), en los días 1 (barra punteada) y 17 (barra rayada) del secado.....</p>	209
<p>FIGURA 3.14. Recuentos en MRS obtenidos de embutidos de acuerdo al grado de sustitución de grasa (A) e ingrediente utilizado para dicha sustitución (B), en los días 1 (barra punteada) y 17 (barra rayada) del secado.....</p>	210
<p>FIGURA 3.15. Recuentos en MSA obtenidos de embutidos de acuerdo al grado de sustitución de grasa (A) e ingrediente utilizado para dicha sustitución (B), en los días 1 (barra punteada) y 17 (barra rayada) del secado.....</p>	211

A large, stylized white alpaca is depicted against a light beige background. The alpaca is shown in profile, facing right, with its head turned slightly towards the viewer. The wool is rendered in thick, flowing white lines, and the body is also defined by these lines, creating a high-contrast, graphic effect. The alpaca's legs are visible, and its tail is slightly raised. The overall style is clean and modern, typical of contemporary graphic design.

CAPÍTULO 1.

Compuestos volátiles del charqui andino de alpaca

RESUMEN

El charqui andino de alpaca es un producto de origen ancestral en la región de los Andes, siendo Perú el principal país productor, que es actualmente elaborado siguiendo dos técnicas de elaboración diferentes en función de la preparación de la carne: charqui elaborado a partir de filetes y charqui en piezas con hueso. En el presente trabajo se ha estudiado el contenido en volátiles del charqui andino de pierna de alpaca recién elaborado. Para ello, se ha realizado un muestreo a 52 productores de charqui de alpaca de Perú: 30 del departamento de Puno (provincia de Azángaro), donde se elabora charqui a partir de carne fileteada, y 22 del departamento de Cusco (provincia de Sicuani), donde se elabora el charqui en piezas con hueso. En una segunda parte del estudio se ha estudiado el contenido en volátiles del charqui de carne fileteada tras un periodo de 5 meses de almacenamiento a temperatura ambiente con el fin de observar posibles cambios en el perfil volátil respecto al charqui recién elaborado. En el estudio se ha empleado un método basado en la extracción de volátiles del charqui cocinado mediante espacio de cabeza estático y su posterior identificación y cuantificación por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas.

En el charqui recién elaborado fueron detectados 67 compuestos volátiles, clasificados en las siguientes familias químicas: hidrocarburos (49 compuestos), aldehídos (8), alcoholes (1) y cetonas (2) alifáticos, alquilfuranos (1), compuestos azufrados (4) y compuestos bencénicos (2). Los hidrocarburos alifáticos (compuestos principalmente por pentano, hexano, heptano y octano), los aldehídos de cadena lineal (hexanal, heptanal y pentanal) y los compuestos azufrados (metanotiol y sulfuro de carbono) constituyeron los grupos más abundantes. Dentro de los hidrocarburos destaca además la presencia de numerosos compuestos (37) de cadena ramificada. Las principales diferencias entre los dos tipos de charqui se encuentran en la cantidad de compuestos derivados de la oxidación lipídica (hidrocarburos y

aldehídos de cadena lineal y 2-pentil-furano), que fueron más abundantes en el charqui elaborado con filetes que en el charqui de piezas con hueso. En el charqui almacenado durante 5 meses a temperatura ambiente, cualitativamente, los volátiles detectados en el espacio de cabeza fueron similares a los del charqui recién elaborado. Sin embargo, las cantidades de gran parte de los compuestos volátiles detectados disminuyeron significativamente durante dicho almacenamiento.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Charqui andino. Proceso de elaboración y composición

El charqui andino es un producto cárnico elaborado con piezas o trozos de carne de poco grosor, que son salados y desecados. El origen del charqui es ancestral y en la actualidad gran parte del mismo se elabora con carne de alpaca, llamas e híbridos de alpaca y llama, en Perú, Bolivia, Argentina y Chile. En Perú, el país productor más importante, la producción de charqui es de unos 450.000 kg anuales y se encuentra focalizada en las zonas rurales del altiplano andino (Pachao, 2006).

Las etapas típicas en el proceso de elaboración del charqui Andino son las siguientes: corte de la carne, salazón, secado al aire y, opcionalmente, cortado final de las piezas de charqui para su comercialización en trozos pequeños (Mateo et al., 2010). Las técnicas de elaboración del charqui andino pueden variar en función de las distintas regiones donde se elabore y el grado de tecnificación (Fernández-Baca, 2005; Pachao, 2006). De acuerdo a la región que se considere, el charqui puede ser típicamente preparado de dos formas diferentes: a) a partir de filetes o laminas de carne a las que se ha eliminado parte de la grasa visible (región de Puno), o b) con piezas enteras de la canal, con hueso incluido (lo que se conoce localmente como "charqui completo"), a las que se retira parte de la grasa y el músculo se abre mediante una serie de incisiones profundas (región de Cusco). El proceso de elaboración detallado de ambos tipos de charqui se describe en el libro de Mateo et al. (2010) y a continuación se resume de forma conjunta para los dos tipos. El salado, ya sea de filetes o piezas de carne "abiertas" se realiza bien en seco por frotación o bien por inmersión en una salmuera concentrada; el salado es intenso y tiene lugar durante 3-7 días. Después, los trozos de carne salada se apilan para su prensado (fig. 1.1. A.) y consecuente secado durante unos días, volteándose las piezas periódicamente. Para su posterior secado

(fig. 1.1.B), las piezas de carne se extienden o colocan en superficies (por ejemplo bandejas) secándose al aire, con o sin sol durante unos días, y eventualmente se apilan de nuevo en las noches o días lluviosos, para luego volver a extenderse. Finalmente, el charqui se prepara mediante cortes para su comercialización y se envasa.

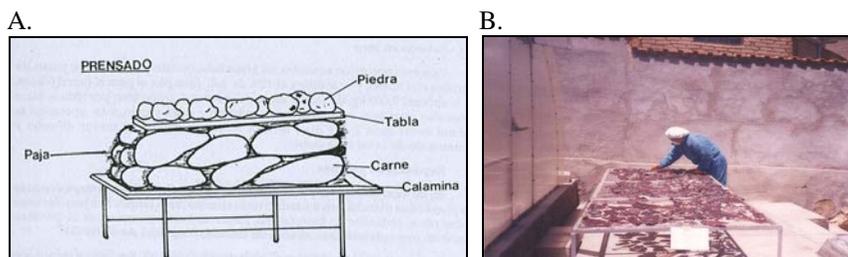


Figura 1.1.A. Prensado y B. secado de los filetes de alpaca.

El charqui puede presentarse para venta en piezas enteras con o sin hueso, fileteado, cortado en cubos o en pequeñas tiras, deshilachado o desmenuzado (fig. 1.2). En cualquier caso, antes de cocinar, el charqui andino debe ser desalado (e hidratado), permaneciendo en remojo en agua durante varias horas. Posteriormente, el charqui hidratado es cortado en trozos pequeños y, posteriormente, es utilizado como ingrediente de comidas regionales, por ejemplo en sopas o en segundos platos, frito, acompañado de preferencia con cebolla, ajos y ají panca (Salvá, 2010). Las características sensoriales del charqui seco son color típico en tonalidades blanco pajizo (color referido por su similitud con la paja proveniente de la especie *Festuca orthophyla*, comúnmente llamada iru ichu o paja brava), olor característico del producto, exento de olores de rancidez y otros olores extraños, y textura seca al tacto sin presentar apariencia viscosa (Norma Técnica Peruana NTP 201.059; INDECOPI, 2006); una vez hidratado y cocinado el charqui presenta un sabor característico, en el que se detecta un ligero sabor salado.



Figura 1.2. Presentaciones de charqui, deshilachado y cortado en cubos

Los requisitos de composición del charqui andino se definen en los reglamentos nacionales, como por ejemplo, la Norma Técnica Peruana 201.059 (INDECOPI, 2006), donde se establecen los niveles mínimos de proteínas (45% de materia seca) y máximo de grasa (12% de materia seca) y de humedad (20%). En el trabajo de Salvá et al. (2012) se muestra una visión más amplia de la composición de este producto, tanto en seco como en charqui hidratado: composición proximal, elementos minerales, colágeno, nitrógeno no proteico, ácidos grasos libres y sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico. De acuerdo a lo encontrado por Salvá et al. (2012), la actividad del agua del charqui de alpaca es inferior a 0,75, con un valor medio de 0,64 y se estima que el contenido de sal promedio es superior a 30%.

En el conjunto de los productos cárnicos de humedad intermedia de pieza entera, el charqui andino tiene un lugar especial debido a su alto contenido en sal y baja humedad. No obstante, este producto guarda cierta relación con otros productos cárnicos de humedad intermedia de pieza entera elaborados con carne de vacuno, bien sean del continente americano, como son el charqui vacuno brasileño y el jerki (Biscontini et al., 1996; Fagundes, 1982; de Felicio, 2002; Picchi, 1991), europeos como la cecina de vacuno en España, la bresaola italiana o la pastirma turca (García et al, 1995; Kaban, 2009; Leistner, 1987; Paleari et al., 2000; Paleari et al., 2003) o africanos como el biltong o el kilishi (Bender, 1992; Chuckwu e Imodiboh, 2009; Lewis et al., 1957). A continuación se describirán de forma somera los principales productos de este tipo elaborados típicamente en los continentes americano y

europeo, con objeto de ofrecer una referencia de con qué se puede comparar el charqui.

En relación a los productos de América, el charqui o charque de la Pampa (fig. 1.3. A.) es un producto típico elaborado principalmente en Brasil, obtenido por salado y secado al sol y al viento de carne de vacuno (de los cuartos traseros o delanteros), que previamente ha sido deshuesada, recortada de grasa y cortada en trozos de gran superficie en comparación con su volumen, conocidos como “mantas” por la forma que adquieren (Fagundes, 1982). Una vez elaborado, el charqui presenta un escaso contenido en humedad, aproximadamente de un 45%, y una actividad del agua (a_w) relativamente baja, entre 0,70 y 0,75 (Norman y Corte, 1985; Lara et al., 2003). Antes de su consumo, el charque se desala y, en caso necesario, se corta, normalmente en piezas pequeñas. Por su parte, el jerki o jerked beef (fig. 1.3.B) es un producto cárnico derivado del charqui tradicional de Brasil, consistente en carne salada y curado con nitritos, y posteriormente secada. La tecnología de procesamiento del jerki se asemeja a la del charqui tradicional, diferenciándose básicamente por estar menos seco, salarse con una salmuera con nitritos mediante el uso frecuente de equipamiento automático para el masaje e inyección de salmuera, empleo de cámaras de secado y envasado a vacío del producto una vez elaborado (Pardi et al., 1996; Pinto et al., 2002).



Figura 1.3.A. Charqui vacuno y B. jerked beef.

En Europa, la cecina es un producto cárnico tradicional de humedad intermedia preparada por salado, secado y ocasionalmente ahumado de piezas de carne. Actualmente, en España existen varias cecinas en función de la especie animal de la que procede la carne: cecina de vacuno (la más conocida;

fig. 1.4.A), la de chivo o castrón, elaboradas ambas con bastante exclusividad en la provincia de León, y la de caballo, que se fabrica a nivel industrial o semi-industrial solamente en Villarramiel-Palencia (Zumalacárregui y Díez, 2001). Por otra parte, la bresaola (fig. 1.4.B) es un producto típico italiano, procedente de forma tradicional de la región de Valtellina (norte de Italia), que se obtiene por salazón y maduración durante varias semanas de diferentes piezas magras del cuarto posterior de vacuno. Actualmente hay una tendencia creciente a la elaboración de este producto con carne de caballo, dado el auge del consumo de esta especie animal en Italia en las últimas décadas (Paleari et al., 2000; Paleari et al., 2003). Finalmente, la pastirma (fig. 1.4.C), también llamada bastirma, basturma o pastrami es un producto cárnico crudo madurado, elaborado a partir de piezas musculares de vacuno principalmente, aunque también se puede hacer de búfalo, ovino, caprino o camello. Su nombre está relacionado con la palabra turca ‘bastirma’ que significa prensado. Para su elaboración la carne se sala con sal y nitritos y se madura en locales adecuados, aplicando durante la misma varios prensados, cubriéndose finalmente la pieza madurada y prensada con una pasta de especias y condimentos (Guner et al, 2008; Leistner, 1987). A diferencia del charqui, todos estos productos se consumen crudos (sin cocinado previo), usualmente en finas rebanadas. Los contenidos de humedad y a_w de estos productos europeos están en el rango de 30 a 60% de humedad y a_w entre 0,70 y 0,95 (Aksu y Kaya, 2001; García et al., 1995; García et al., 1997; Guner et al., 2008; Gutiérrez et al., 1988; Leistner, 1987; Molinero et al., 2008; Molinero, 2009; Paleari et al., 2000; Paleari et al., 2003, Salvá, 2010).



Figura 1.4. A. Cecina B. Bresaola y C. Pastirma.

1.2. Compuestos volátiles del charqui de alpaca

1.2.1. Generalidades

La composición del charqui andino ha sido descrita en el trabajo de Salva et al. (2012). En la presente tesis doctoral se ha incluido, como parte experimental, el estudio de los compuestos volátiles de este producto, que también se recoge como parte del trabajo mencionado, siendo el único estudio encontrado en la bibliografía donde se describen los componentes volátiles del charqui andino. Como se ha mencionado, el charqui de alpaca es un producto cárnico elaborado con carne (con o sin hueso) de alpaca (camélido andino perteneciente al grupo de los rumiantes), que ha sido cortada, salada y secada, y que se desala y cocina antes de su preparación culinaria. Por este motivo, es previsible que en cuanto a composición aromática presente coincidencias, por una parte, con los productos cárnicos crudo curados de pieza entera y humedad intermedia, elaborados con carne de rumiantes y, por otra, con la carne cocinada. No obstante, también es esperable que haya peculiaridades propias de este producto que lo hagan diferente y peculiar.

Los compuestos aromáticos de la carne participan de forma mayoritaria en el sabor característico de la misma, siendo considerado el sabor un atributo sensorial fundamental, que determinará la aceptación o no de la misma por el consumidor (Flores, 2010). En general la carne cruda no tiene aroma, o tiene un ligero aroma como “a sangre” (Mottram, 1998), de modo que los compuestos responsables del aroma y sabor característico de la carne o de los productos cárnicos serán presumiblemente formados durante el procesado y/o cocinado de los mismos.

Por una parte, durante las etapas de salado y posterior secado del charqui andino se producirán cambios en la composición de la carne, responsables del desarrollo de su aroma y sabor característico. Estos cambios vendrán ocasionados por reacciones químicas diversas en las que

presumiblemente la relevancia de los agentes enzimáticos y de los microorganismos es escasa, dado que una gran rapidez e intensidad de salado (Salvá et al., 2012) provoca inactivación microbiana (Leistner y Rödel, 1976) y enzimática proteolítica (Gil et al., 1999). Este hecho diferenciaría, en cierta manera, al charqui de los productos crudo curados de pieza entera europeos como la cecina, bresaola o pastirma en los que durante el salado y el secado, los fenómenos de proteólisis y metabolismo microbiano son fundamentales para el desarrollo del aroma y sabor del producto cárnico (García et al., 1997; Hierro et al., 2004). No obstante, en el charqui, a semejanza de los productos mencionados, habrá compuestos derivados de las grasas formados a partir de reacciones de lipólisis y oxidación, que no parecen frenarse con la baja humedad o a_w , y que de hecho su ocurrencia se ha constatado en el charqui (Salvá et al., 2012).

Por otra parte, como el charqui andino se consume generalmente después de ser hidratado y cocinado (generalmente mediante cocinado en medio acuoso, salsa), durante el cocinado se produce una serie de reacciones complejas mediante las que se desarrollará el aroma típico de la carne cocinada, del que se piensa que son responsables cientos de compuestos volátiles (Calkins y Hodgen, 2007; Dransfield, 2008; Mottram, 1998). De acuerdo a estos autores, las principales vías de formación de volátiles son la reacción de Maillard (degradación de Strecker incluida) y la degradación u oxidación térmica de los lípidos. Por este motivo se puede inferir que serán esas reacciones responsables en gran medida de la generación del aroma característico del charqui una vez cocinado.

1.2.2. Compuestos volátiles en los productos cárnicos crudo curados de pieza entera

Durante la maduración de los productos cárnicos crudo curados europeos se produce una serie de cambios, responsables de la generación del aroma y sabor característicos de los mismos. Las reacciones bioquímicas

implicadas en estos cambios y responsables de la formación del aroma o precursores del mismo en este tipo de productos consisten fundamentalmente en fenómenos de proteólisis y lipólisis (García et al., 1997, 1998; Toldrá, 1998; Zumalacárregui y Díez, 2001). A partir de los fenómenos proteolíticos se liberan diversos compuestos relacionados con el desarrollo del aroma, tales como aminoácidos libres (Córdoba et al., 1994). Por su parte, las reacciones lipolíticas juegan un papel fundamental en el desarrollo de las características sensoriales al originar un incremento de los ácidos grasos libres que son sustrato de reacciones de oxidación de las grasas, de la que se generan muchos compuestos volátiles responsables del aroma (Yang et al., 2005).

El jamón crudo curado ha sido el producto cárnico crudo curado de pieza entera más estudiado hasta el momento en cuanto a su aroma, llegando a ser identificados aproximadamente 240 compuestos volátiles en el espacio de cabeza del mismo (Flores et al., 1998). Los resultados obtenidos varían entre los distintos estudios realizados, dependiendo de la técnica de extracción empleada (Flores, 2010), siendo las más frecuentemente utilizadas, el espacio de cabeza dinámico, la destilación a vacío, o la microextracción en fase sólida (SPME). Los compuestos volátiles detectados en el espacio de cabeza del jamón crudo curado se agrupan en aldehídos, alcoholes, hidrocarburos, compuestos azufrados, cetonas, ésteres, pirazinas, lactonas, ácidos orgánicos, furanos y pirroles. Los grupos más numerosos han sido los hidrocarburos, aldehídos, alcoholes, ésteres, cetonas y ácidos.

Solo son dos los estudios encontrados en los que se ha determinado los compuestos volátiles de productos cárnicos crudo curados de humedad intermedia elaborados con carne de rumiante. Kaban (2009) describió el contenido en volátiles de la pastirma turca. En el momento inicial, antes del proceso de elaboración de la pastirma, la carne presentó un mínimo contenido en volátiles (únicamente fueron detectados 16 compuestos), de modo que fue a lo largo del proceso de elaboración cuando se pudo observar un desarrollo

del aroma característico de este producto cárnico. En el producto final fueron detectados ésteres, hidrocarburos alifáticos, compuestos azufrados, alcoholes, aldehídos, cetonas, hidrocarburos aromáticos, terpenos y furanos. Los compuestos derivados de la oxidación lipídica constituyeron el grupo de compuestos volátiles mayoritario, siendo el hexanal el compuesto más abundante en el espacio de cabeza de la pastirma.

En cuanto a la cecina, en el trabajo de Hierro et al. (2004) se describe el contenido en volátiles de cecina elaborada con carne de distintas especies animales, venado, vaca, caballo y cabra, la mayoría rumiantes. Los compuestos volátiles detectados en el espacio de cabeza fueron hidrocarburos, aldehídos, alcoholes, cetonas, furanos, ácidos orgánicos, ésteres, compuestos azufrados, terpenos, piridinas y pirazinas. Los volátiles identificados más importantes por su abundancia o participación en el aroma de la cecina, fueron aquellos derivados de la oxidación de las grasas, principalmente aldehídos alifáticos de cadena lineal e hidrocarburos alifáticos de entre 5 y 10 átomos de carbono, y los derivados de aminoácidos, principalmente aldehídos ramificados y sus correspondientes alcoholes, generados mediante reacciones de degradación de Strecker (Barbieri et al, 1992; García et al., 1991; Ventanas et al., 1992) o por acción microbiana (Degorce-Dumas et al., 1984; Hinrichsen y Pedersen, 1995).

Tanto en el aroma característico del jamón crudo-curado (Flores et al, 1998; Carrapiso et al., 2002a, 2002b, 2004), como en el de la pastirma y la cecina, destaca el elevado número en hidrocarburos alifáticos. Sin embargo, este tipo de compuestos parece no tener un papel relevante en el aroma de estos productos, debido a sus elevados umbrales de percepción aromática (Drumm y Spanier, 1991; Ramirez y Cava, 2007). Por el contrario, se piensa que la presencia de aldehídos y alcoholes alifáticos de cadena lineal, también con presencia abundante, ejerce un efecto importante en el aroma de los productos crudo curados, al tratarse de compuestos con umbrales de

percepción aromáticas bajos (Drum y Spanier, 1991; Forss, 1972, Sabio et al. 1998; Shahidi et al, 1986). Entre los aldehídos alifáticos lineales destaca el elevado contenido en hexanal, tanto en el jamón crudo curado, como en la pastirma y la cecina (Carrapiso et al, 2002a, 2002b y 2004; Flores et al., 1997; Flores et al, 1998; Hierro et al, 2004; Kaban, 2009; Ramírez y Cava, 2007; Ruiz et al., 1999). El aroma del hexanal ha sido descrito como “a grasa” o “a hierba” (Calkins y Hodgen, 2007; Xie et al., 2008). Unas concentraciones muy elevadas de este compuesto podrían estar relacionadas con un deterioro del aroma y sabor en los productos cárnicos, ocasionando aroma a rancio (Pham et al., 2008; Ramirez y Cava, 2007).

Además de los aldehídos, la presencia de otros compuestos volátiles en el espacio de cabeza de los productos cárnicos crudo curados también ha sido relacionada con aromas característicos concretos de los mismos. Este es el caso de a) los compuestos azufrados, que generalmente aportan notas aromáticas “a carne” (Mottram, 1998; Flores, 2010), b) de algunos aldehídos ramificados, como el 2-metilpropanal, y 2- y 3-metilbutanal, que han sido asociados al aroma a curado en los productos cárnicos curados (Careri et al, 1993; Ruiz et al., 1999; Søndergaard y Stahnke, 2002) y c) los alcoholes 1-pentanol, 1-penten-3-ol, 1-hexanol, 1-octen-3-ol, que han sido también detectados en diversos productos cárnicos crudo curados y presentan un bajo umbral de percepción (García-Esteban et al., 2004; Kaban, 2009; Muriel et al., 2004; Ramírez y Cava, 2007).

1.2.3. Compuestos volátiles de la carne de rumiante cocinada

En relación a los volátiles generados durante el cocinado de la carne, en los estudios realizados sobre compuestos volátiles en el espacio de cabeza de la carne de rumiante cocinada se ha puesto de manifiesto la presencia principalmente de compuestos derivados de la oxidación lipídica –

compuestos recogidos de forma extensa en el trabajo de (Frankel, 1982). En este sentido, Madruga et al. (2000 y 2009) detectaron en carne cocinada de cabra una mayoría de compuestos derivados de la oxidación de las grasas: aldehídos, hidrocarburos, cetonas, alcoholes, ácidos carboxílicos, furanos y ésteres. Entre ellos, los grupos mayoritarios fueron los hidrocarburos y aldehídos de cadena lineal. Igualmente, en diversos estudios realizados sobre carne de ovino cocinada destaca el elevado contenido en aldehídos de cadena lineal (Elmore et al, 2000, Elmore et al., 2005; Shuterland y Ames, 1995; Vieira et al., 2012). Los volátiles más abundantes detectados en carne cocinada de rumiante en diferentes trabajos (Madruga et al., 2009; Mottram, 1998; Vieira et al., 2012) son los siguientes: pentano, pentanal, hexanal, heptanal, octanal, 1-hexanol, 1-octen-3-ol, pentil-furano, metanotiol y disulfuro de carbono. La relevancia de estos compuestos en el aroma es variable. Los hidrocarburos, al tratarse de compuestos con elevados umbrales de percepción aromática (desde 100 a 2000 ppm; Drumm y Spanier, 1991), no participarán de forma notable en el aroma de la carne. Por el contrario, los aldehídos son compuestos con un umbral de percepción muy bajo (Drum y Spanier, 1991; Forss, 1972, Shahidi et al, 1986) y su relativamente elevada concentración condicionará el aroma de la carne. También el pentil-furano, los alcoholes y los compuestos azufrados tienen bajos umbrales de percepción y por lo tanto tendrían importancia en el aroma (Drumm y Spanier, 1991; Forss, 1972; Xie et al., 2008).

Además de lo indicado, el aroma característico de la carne de ovino y caprino ha sido frecuentemente relacionado con la presencia de algunos ácidos grasos ramificados de cadena media, los ácidos metil-octanoico y etil-octanoico, que presentan umbrales de percepción aromática de 0,02 y 4,1 ppm, respectivamente (Brennand et al., 1989; Brennand y Lindsay, 1992). Estos compuestos no son detectables cuando se utiliza la técnica de espacio de cabeza estático como técnica de extracción dada su baja concentración (Comunicación personal: investigadores de los compuestos volátiles de los

alimentos, Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de León).

1.2. Objetivos del presente estudio

Los objetivos del presente trabajo han sido determinar el contenido en volátiles del charqui de alpaca elaborado mediante los dos tipos de procesado representativos de la región andina y valorar los cambios en la composición de volátiles del charqui de alpaca tras un periodo de 5 meses almacenamiento a temperatura ambiente y envasado en atmósfera normal con película impermeable al vapor de agua y de alta permeabilidad al oxígeno (respecto a la composición del charqui recién elaborado).

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Muestras, muestreo, conservación y preparación de muestras para análisis

Las muestras utilizadas en el presente experimento fueron amablemente proporcionadas por diversos productores de charqui durante los 7 primeros días posteriores al procesado, en los meses de junio y julio de 2007. En todos los casos, el charqui fue elaborado a partir de piernas de alpaca. Se obtuvieron muestras de los dos tipos de charqui de alpaca más comúnmente elaborados en la región andina: charqui obtenido salando y secando carne fileteada y posteriormente deshilachada (charqui deshilachado; fig. 1.5.A) y charqui obtenido secando y salando piezas anatómicas enteras, en este caso piernas (charqui con hueso; fig. 1.5.B) Las muestras de charqui deshilachado procedían de la región de Puno, mientras que las muestras del segundo tipo (con hueso) procedían de Cusco. Ambas regiones situadas en Perú y las más representativas respecto a los tipos de charqui mencionados, considerándose los mayores centros de producción de charqui en los Andes

(Pachao, 2006). Con la finalidad de conocer algunas características de las alpacas utilizadas en la elaboración de charqui (raza, edad y zona de crianza) y de la tecnología de elaboración (tipo, tiempo y forma de salado y secado) se pidió a los productores que proporcionaron las muestras de alpaca que llenaran un cuestionario ideado para tal fin (Salvá et al., 2012).

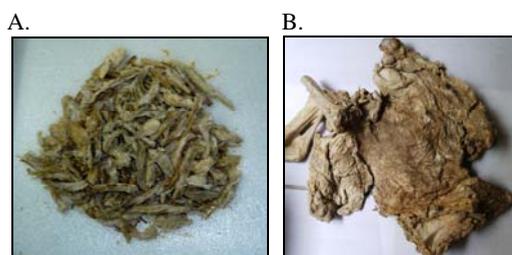


Figura 1.5.A. Charqui de alpaca deshilachado de Puno y
B. Charqui de alpaca con hueso de Sicuani.

Las muestras de charqui deshilachado (pequeñas tiras de charqui) procedían de 30 productores (1 kg de charqui por cada productor) los cuales pertenecían a las dos mayores asociaciones de productores: Aswangari (20 productores) y Azangarinita (10 productores) de la zona. El proceso de elaboración del charqui muestreado (de acuerdo a las encuestas realizadas) es tal y como se describe a continuación. Los productores de charqui deshilachado utilizaron carne de alpacas de raza Huacaya, que fueron localmente criadas en régimen extensivo sobre el pasto característico de la sierra Andina, y posteriormente sacrificadas a los 2-3 años de edad. Las piernas de alpaca fueron deshuesadas y fileteadas (filetes de grosor aproximado de 0,5-1 cm), retirándose el exceso de grasa y tejido conectivo. Posteriormente la carne fue sometida a salado en tanques con una solución saturada de NaCl (el 60% de los productores utilizó sal yodada) en una proporción carne:salmuera de 1:1 a 1:2 (p/p), durante 3-8 días, a temperatura ambiente (10-12 °C). Durante esta etapa los filetes de carne de alpaca fueron agitados y volteados una vez al día o en días alternos. Además en este tiempo de salado, en dos o tres ocasiones, a la salmuera se le adicionó sal o se procedió a la sustitución parcial de la salmuera de los tanques por una

salmuera a saturación recién preparada, con el fin de mantener en la medida de lo posible una concentración de NaCl no inferior al 20% en peso.

Posteriormente los filetes de charqui fueron lavados con agua y, una vez escurrido el agua, se resalaron en superficie espolvoreando sal seca y se apilaron durante 1-2 días. A la mitad de esta etapa, las laminas de carne fueron volteadas de manera que los filetes de arriba pasaron abajo y viceversa. A continuación, los filetes de charqui fueron recubiertos con una capa de sal de grano fino, depositados en bandejas y sometidos a secado al sol durante 4-7 días a la intemperie (temperatura media de secado de 7 °C y humedad relativa del 35%). Finalmente, las láminas de charqui se cortaron en tiras finas o hilachas de aproximadamente 1 g de peso.

Por su parte, las muestras de charqui con hueso (charqui elaborado con las piezas de pierna entera), se obtuvieron de 22 productores de Cusco (1 pierna de charqui de alpaca por cada productor). La carne empleada para su elaboración procedió de alpacas de la raza Huacaya de diferentes rebaños criadas localmente en régimen extensivo, alimentadas con pastos característicos de la sierra Andina, y sacrificadas a los 5-7 años de edad. Las piernas de alpaca fueron desgrasadas en superficie y los bloques de músculo se abrieron en una sola pieza en forma de sábana (aproximadamente 2 cm de grosor) con los huesos incluidos. A continuación, las piezas obtenidas se depositaron en tanques, separadas entre sí por capas de sal yodada (tamaño de partícula de 1-3 mm, utilizando aproximadamente 20 kg por 100 kg de carne). Por lo tanto, fueron saladas en seco durante 2 días a temperatura ambiente (10-12 °C). Durante esta etapa, debido al proceso de ósmosis, las piezas de charqui quedaron cubiertas por una mezcla de sal y jugo expelido de la carne. Posteriormente, las las piezas de charqui (sábanas) fueron retiradas de los tanques y apiladas, separadas unas de otras por una fina capa de sal. Sobre las pilas se colocaron piedras grandes u otros pesos con el fin de prensar la carne. Así se mantuvieron durante 7-11 días, aunque a la mitad de este periodo, las pilas fueron reordenadas cambiando la posición de las piezas de charqui en la

pila, para asegurar una uniforme penetración de sal y pérdida de agua. Finalmente, las piezas de charqui fueron retiradas de las pilas, recubiertas por una fina capa de sal fina (aproximadamente 4%), depositadas en bandejas y sometidas a secado al aire libre (evitando la exposición directa al sol) durante 7-15 días (12 °C y 50% HR).

Las muestras fueron transportadas al laboratorio donde se homogeneizaron en una picadora y una parte representativa (300 g) se envasó a vacío y se congeló -80 °C, manteniéndose congelada hasta su hidratación y posterior análisis. La hidratación del charqui se llevó a cabo sumergiendo 300 g de charqui en 3 l de agua destilada, donde se mantuvieron durante 18 horas a temperatura ambiente (20 °C). Las tiras fueron a continuación escurridas en una hoja de papel de filtro y, posteriormente, utilizadas para el análisis.

Para la determinación del efecto de la conservación (5 meses) sobre el contenido en volátiles del charqui se utilizaron 50 g de las 30 muestras de charqui deshilachado procedentes del departamento de Puno descritas anteriormente. Las submuestras se colocaron en bandejas de poliestireno expandido (poliespán) y se envolvieron con una película plástica de polietileno impermeable al vapor de agua y permeable al O₂ (14.000 ml/(m² 24 h) e impermeable al agua, tal y como se aprecia en la figura 1.6. El almacenamiento de las muestras de charqui se llevó a cabo durante 5 meses a temperatura de 15 °C a oscuridad, efectuándose después de ese tiempo la hidratación del charqui en 500 ml agua siguiendo el procedimiento descrito anteriormente para el análisis de compuestos volátiles.



Figura 1.6. Muestras de charqui deshilachado envasadas para su almacenamiento.

Tanto en el charqui con y sin almacenamiento, después de la hidratación, 20 g de charqui hidratado se envolvieron en papel de aluminio y se introdujeron en una bolsa hermética eliminando el aire de su interior. A continuación se procedió al cocinado de las muestras mediante calentamiento en baño de agua a 75 °C donde se mantuvieron 35 minutos y seguidamente se congelaron a -35 °C durante un día hasta el momento del análisis de los componentes volátiles.

2.2. Determinación de compuestos volátiles del charqui

La identificación y cuantificación de los compuestos volátiles de las muestras de charqui se efectuó mediante extracción mediante la técnica de espacio de cabeza estático y análisis por cromatografía de gases acoplada a un detector de espectrometría de masas.

Reactivos

- Agua destilada calidad milli-Q
- Cloruro de sodio (NaCl)
- Patrones de n-alcanos desde C₅ hasta C₂₀ (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EEUU)

Procedimiento

Análisis cromatográfico

Veinticuatro horas después del cocinado y congelación de las muestras, estas se descongelaron durante 40 minutos a temperatura ambiente, se trocearon con un cuchillo y se trituraron con una picadora doméstica. Seguidamente, se colocaron 5 g de muestra triturada a los correspondientes viales de espacio de cabeza de 20 ml y se añadieron 0,073 g de NaCl y 4,67 ml de agua y los viales se cerraron herméticamente con tapón metálico y con septo de silicona/teflón (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EEUU).

El análisis de los compuestos volátiles fue efectuado en un cromatógrafo de gases CG7890A acoplado a un espectrómetro de masas EMD 5975C (Agilent Technologies), equipado con un autoinyector de espacio de cabeza estático CTC Combi PAL (CTC Analytics AG, Zwingen, Suiza). Los compuestos volátiles fueron separados usando una columna DB-5EM (60 m x 0.25 mm I.D. x 0.25 μm grosor del relleno; J&W Scientific, Folsom, CA, EEUU). Previamente a la inyección se procedió al equilibrado de la muestra con el espacio de cabeza en los viales manteniendo estos a 60 °C en un incubador con agitación intermitente (750 rpm, 5 s de marcha, 2 s de paro) durante un total de 40 minutos. A continuación se extrajo un volumen de 1 ml del gas de espacio de cabeza que fue inyectado en el cromatógrafo con una jeringa de 2,5 ml Combi PAL (CTC Analytics AG). Las condiciones de trabajo utilizadas fueron las siguientes:

- Gas portador: He.
- Velocidad de flujo constante: 1,5 ml.
- Temperatura de la jeringa: 100 °C.
- Velocidad de llenado de la jeringa: 100 $\mu\text{l/s}$.
- Velocidad de inyección: 250 $\mu\text{l/s}$.
- Temperatura del inyector: 260 °C.
- Inyección: Modo split.
- Relación del split: 2:1.
- La programación del horno comenzó a una temperatura de 37 °C durante 1 minuto, posteriormente se incrementó la temperatura hasta 50 °C a una velocidad de 10 °C/min, 4 °C/min hasta 146 °C, 20 °C/min hasta 200 °C y 50 °C/min hasta 250 °C, temperatura a la cual se mantuvo durante 11 minutos.
- Temperatura de transferencia: 280 °C.
- Energía electrónica de impacto: 70 eV.
- Modo: Scan; rango de masas de de m/z 40-400 a 3.94 s/scan.

Identificación

Los volátiles detectados fueron identificados comparando su espectro de masas con los de los compuestos presentes en la base de datos de espectros de masas NIST/EPA/NIH-08 y, en su caso, en diversas referencias bibliográficas (Adams, 2007). Además, se utilizó una serie de n-alcános,

hidrocarburos de cadena lineal de de 5 a 20 átomos de carbono, para calcular los tiempos de retención relativos o experimentales (TRR) o índices de Kovats para cada volátil, y siempre que fue posible las identificaciones se confirmaron por comparación de los valores de TRR estimados en este trabajo con valores de TRR publicados (Kondojan y Berdagué, 1996; Adams, 2007). Para calcular los TRR experimentales de cada uno de los compuestos detectados en el charqui se empleó la siguiente fórmula descrita por David et al. (2002).

$$\text{TRR} = \frac{100 \times (t_{\text{RX}} - t_{\text{RZ}})}{(t_{\text{RZ}+1} - t_{\text{RZ}})} + (Z \times 100)$$

En la que:

TRR = Tiempo de retención relativo o índice de Kovats.

Z = Número de carbonos del n-alcano precedente.

$t_{\text{RZ}+1}$ y t_{RZ} = Tiempos de retención obtenidos para los n-alcanos posterior y precedente al compuesto problema, respectivamente.

t_{RX} = Tiempo de retención obtenido para el compuesto problema.

La mezcla de n-alcanos inyectada se obtuvo adicionando en un vial con cierre hermético 1 ml de n-hexano y 50 μl de los siguientes compuestos: n-pentano, n-heptano, n-octano, n-nonano, n-decano, n-undecano, n-dodecano, n-tridecano, n-tetradecano, n-pentadecano, n-hexadecano, n-heptadecano, n-octadecano, n-nonadecano y n-eicosano. Se mezcló el contenido del vial y se inyectó en el cromatógrafo 1 μl de la mezcla en las mismas condiciones descritas para las muestras.

Cuantificación

La cuantificación se realizó en base a la comparación de las áreas de pico de los compuestos volátiles encontrados con el área de undecano

obtenida inyectando la serie de n-alcenos anteriormente descrita. Las cantidades relativas de los compuestos volátiles fueron así pues expresadas en ng de undecano por g de muestra.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Compuestos volátiles del charqui recién elaborado

Los compuestos volátiles encontrados en las muestras de los dos tipos de charqui (charqui deshilachado y charqui con hueso), después de ser hidratado y cocinado en agua caliente (tabla 1.1) fueron divididos en 7 familias químicas: hidrocarburos (49 compuestos), aldehídos (8), alcoholes (1) y cetonas (2) alifáticos, alquifuranos (1), compuestos azufrados (4) y compuestos bencénicos (2). Además fueron detectados 2 compuestos que no pudieron ser identificados. Los hidrocarburos alifáticos de cadena ramificada, dada su abundancia, se muestran en una tabla aparte (tabla 1.2).

Los hidrocarburos alifáticos constituyeron el grupo más abundante y más numeroso. Dentro de los hidrocarburos alifáticos detectados, el pentano, el hexano, el heptano y el octano mostraron los mayores niveles de presencia. Estos compuestos se forman fundamentalmente a partir de la oxidación y degradación de ácidos grasos poliinsaturados (Frankel, 1982). Además de esos hidrocarburos (de cadena lineal), fueron detectados un total de 37 hidrocarburos alifáticos de cadena ramificada. La estructura de 30 de estos compuestos no pudo ser completamente identificada a través de sus espectros o TRR, por lo que se han denominado en las tablas 1.1 y 1.2 como alcano o alqueno ramificado no identificado. La mayoría de estos compuestos presentó una cadena hidrocarbonada de entre 7 y 13 átomos de carbono (cadena media), lo que se pudo deducir por sus espectros de masa e TRR.

Tabla 1.1. Concentración (ng de undecano por g) de los compuestos volátiles detectados en los dos tipos^a de charqui de alpaca estudiados

	Desh (n=30)	C/hueso (n=22)	EEM	P	TRR	MI ^b
<i>Hidrocarburos alifáticos</i>	210,03	103,86	13,1	***		
Pentano	63,08	50,94	4,15	NS	500	EM+TRR
Ciclopentano	4,29	ND	0,95	-	565	EM+TRR
Hexano	35,95	21,56	2,96	*	603	EM+TRR
Heptano	0,80	0,17	0,14	*	691	EM+TRR
Heptano	12,51	9,52	1,28	NS	700	EM+TRR
3-Metilen-heptano	0,53	1,42	0,15	**	788	EM
Octeno	0,79	0,26	0,13	NS	790	EM+TRR
Octano	12,10	7,14	0,98	*	800	EM+TRR
4-Metil-octano	0,03	0,14	0,04	NS	859	EM+TRR
4-Metil-hepteno	0,16	ND	0,05	-	931	EM
Canfeno	1,77	1,11	0,19	NS	945	EM+TRR
Metil-nonano	0,51	ND	0,07	-	960	EM+TRR
Pentametil-heptano	1,97	6,24	0,51	***	981	EM+TRR
2,2,4,6,6-Pentametil-heptano	6,40	0,55	0,58	***	1011	EM
3-Metil-decano	1,11	ND	0,10	-	1079	EM+TRR
Undecano	0,25	ND	0,05	-	1099	EM+TRR
Dodecano	0,12	ND	0,03	-	1200	EM+TRR
Tetradecano	0,23	ND	0,04	-	1400	EM+TRR
Alcanos ramificados no identificados ^c	67,43	4,65	6,21	***		
Alquenos ramificados no identificados ^c	ND	0,16	0,04	-		
<i>Aldehídos alifáticos</i>	182,99	99,10	12,52	***		
3-Metil-butanal	5,34	4,36	0,38	NS	662	EM+TRR
2-Metil-butanal	ND	1,33	0,15	-	674	EM+TRR
Pentanal	22,33	12,99	1,74	**	704	EM+TRR
Hexanal	111,91	51,45	7,99	***	804	EM+TRR
Heptanal	29,74	18,75	2,52	*	894	EM+TRR
Octanal	6,40	3,26	0,48	**	998	EM+TRR
Nonanal	7,27	3,31	0,44	***	1089	EM+TRR
Decanal	0,33	ND	0,07	-	1210	EM+TRR
<i>Alcoholes alifáticos</i>						
1-Octen-3-ol	1,52	1,05	0,08	**	975	EM+TRR
<i>Cetonas alifáticas</i>	1,49	0,09	0,08	NS		
2-Heptanona	0,79	0,04	0,07	***	885	EM+TRR
2,3-Octanodiona	0,70	0,05	0,09	***	977	EM+TRR
<i>Alquil furanos</i>						
2-Pentil-furano	4,85	1,17	0,33	***	983	EM+TRR

<i>Compuestos azufrados</i>	172,04	122,77	27,74	NS		
Metanotiol	69,29	83,12	3,68	NS	<500	EM
Disulfuro de carbono	101,79	39,65	27,28	NS	544	EM+TRR
Dimetil disulfuro	0,59	ND	0,11	-	746	EM+TRR
Dimetil trisulfuro	0,38	ND	0,08	-	967	EM+TRR
<i>Compuestos bencénicos</i>	5,60	1,80	0,22	***		
Tolueno	3,05	0,87	0,27	***	770	EM+TRR
Benzaldehído	2,55	0,93	0,16	***	962	EM+TRR
<i>No identificados</i>	0,66	ND	0,07	-		
No identificado I						
44, 91(32), 94(31), 53(28), 80(28), 95(28), 55(24), 96(20), 121(18)	0,21	ND	0,05	-	926	
No identificado II						
57, 44(95), 70(90), 55(69), 69(59), 41(53), 71(50), 56(48)	0,45	ND	0,08	-	1094	
Total volátiles	610,79	349,8	41,29	**		

^a Charqui deshilachado (Desh) y charqui con hueso (C/hueso).

^b MI: Método de identificación. EM, espectro de masas coincidente con el espectro de masas de la base de datos NIST/EPA/NIH98 y validado por interpretación personal del mismo. TRR: El TRR experimental coincidente con el TRR encontrado en la bibliografía (Kondjoyan y Berdagué, 1996).

^c La relación de alcanos (28 compuestos) y alquenos (2 compuestos) de cadena ramificada se muestra en la Tabla 1.

EEM: Error estándar de la media.

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

TRR: Tiempo de retención relativo experimental.

ND: Compuesto no detectado ($< 0,03$ ng/g).

Tabla 1.2. Concentración (ng de undecano por g) de alcanos y alquenos de cadena ramificada no identificados (se muestran los iones principales y entre paréntesis las abundancias relativas correspondientes) en los dos tipos^a de charqui de alpaca estudiados

	Desh (n=30)	C/hueso (n=22)	EEM	P	TRR	MI ^b
Alqueno ramificado 55, 83(41), 41(22), 84(18), 56(13), 43(12), 69(11), 77(10)	ND	0,07	0,02	-	756	EM
Alcano ramificado 70, 55(55), 41(35), 71(16), 95(15), 56(13), 97(13), 42(11)	ND	0,17	0,03	-	876	EM
Alcano ramificado 57, 43(88), 41(44), 71(40), 85(33), 70(30), 55(30)	0,59	0,08	0,08	**	888	EM
Alqueno ramificado, 55, 69(96), 84(85), 70(47), 67(38), 83(38), 41(23), 42(20)	ND	0,09	0,03	-	929	EM
Alcano ramificado 57, 56(33), 71(32), 43(27), 41(24), 85(19), 99(11), 55(10)	3,25	0,24	0,30	***	948	EM
Alcano ramificado 57, 56(46), 41(23), 53(13), 85(13), 43(12), 71(11), 44(9)	1,04	ND	0,10	-	971	EM

Alcano ramificado 57, 43(84), 41(46), 21(44), 85(39), 56(23), 42(17), 70(16)	1,36	ND	0,12	-	990	EM
Alcano ramificado 43, 71(89), 57(65), 41(40), 85(26), 70(24), 27(21), 55(18)	3,53	0,75	0,30	***	1018	EM
Alcano ramificado 57, 71(71), 85(50), 43(42), 41(32), 70(26), 55(14), 127(12)	12,53	1,43	1,08	***	1022	EM
Alcano ramificado 57, 71(43), 43(27), 41(22), 56(16), 70(16), 55(12), 85(10)	2,69	0,42	0,24	***	1024	EM
Alcano ramificado 57, 41(21), 56(20), 43(10), 59(10), 71(9), 115(8), 69(8)	0,18	0,25	0,06	NS	1027	EM
Alcano ramificado 57, 43(50), 71(43), 41(39), 98(31), 55(27), 85(26), 56(17)	0,25	ND	0,05	-	1033	EM
Alcano ramificado 71, 57(79), 43(66), 85(65), 41(32), 127(30), 55(30), 69(28)	1,16	ND	0,11	-	1034	EM
Alcano ramificado 57, 71(43), 43(33), 41(26), 70(19), 55(17), 56(17), 85(12)	0,52	0,09	0,06	***	1036	EM
Alcano ramificado 57, 71(50), 43(32), 41(30), 85(26), 56(23), 55(14), 70(10)	2,52	0,04	0,24	***	1038	EM
Alcano ramificado 57, 56(48), 71(29), 41(26), 43(25), 70(17), 55(14), 113(10)	9,51	0,82	0,84	***	1040	EM
Alcano ramificado 57, 56(42), 71(32), 43(26), 41(23), 70(14), 55(11), 112(9)	3,96	0,11	0,36	***	1042	EM
Alcano ramificado 57, 56(37), 71(29), 41(24), 43(23), 85(15), 55(12), 70(10)	6,96	1,04	0,85	***	1044	EM
Alcano ramificado 69, 57(96), 153(80), 41(65), 55(58), 97(57), 83(54), 56(42)	2,21	0,05	0,22	***	1050	EM
Alcano ramificado 57, 85(90), 43(77), 71(70), 41(44), 84(42), 55(29), 56(19)	1,00	ND	0,10	-	1056	EM
Alcano ramificado 57, 56(64), 41(25), 43(11), 11(10), 69(9), 55(7), 71(6)	10,61	1,19	0,85	***	1060	EM
Alcano ramificado 71, 57(81), 43(70), 70(66), 85(44), 41(39), 83(14), 69(14)	2,01	0,04	0,19	***	1068	EM
Alcano ramificado 71, 70(88), 43(76), 57(48), 84(28), 67(27), 51(26), 55(25)	1,65	ND	0,16	-	1070	EM
Alcano ramificado 71, 85(99), 57(88), 43(66), 41(38), 126(32), 69(25), 56(23)	1,49	ND	0,14	-	1073	EM
Alcano ramificado 85, 71(96), 57(91), 43(66), 70(33), 41(30), 69(28), 127(27)	1,28	0,05	0,12	***	1077	EM
Alcano ramificado 71, 57(76), 43(54), 41(39), 85(36), 70(32), 55(20), 127(18)	2,16	0,06	0,20	***	1080	EM
Alcano ramificado 57, 71(68), 43(56), 56(50), 85(40), 55(31), 69(25), 41(25)	0,71	ND	0,10	-	1096	EM
Alcano ramificado 57, 56(36), 71(20), 41(16), 43(15), 55(13), 44(10), 85(10)	1,45	ND	0,16	-	1101	EM
Alcano ramificado 71, 57(92), 41(27), 127(22), 113(21), 43(20), 56(18), 112(13)	1,14	0,04	0,12	***	1151	EM
Alcano ramificado 57, 56(48), 71(30), 55(22), 41(17), 43(16), 85(12), 44(11)	0,86	0,08	0,09	***	1158	EM

^a Charqui deshilachado (Desh) y charqui con hueso (C/hueso).

^b MI: Método de identificación. EM, espectro de masas coincidente con el espectro de masas de la base de datos NIST/EPA/NIH98 y validado por interpretación personal del mismo.

EEM: Error estándar de la media

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

TRR: Tiempo de retención relativo experimental.

ND: Compuesto no detectado ($< 0,03$ ng/g).

Ningún trabajo de investigación sobre productos cárnicos crudo secados de pieza entera y de humedad intermedia, hasta donde conocemos, muestra tal cantidad de hidrocarburos alifáticos ramificados y con tan elevada concentración. En el caso del jamón crudo curado, a lo más, se han detectado alrededor de 10 hidrocarburos ramificados de cadena media (Petrón et al., 2005). Los numerosos hidrocarburos ramificados de cadena media encontrados en el charqui podrían haberse originado como resultado de la oxidación y degradación de ácidos grasos (AG) ramificados, tal y como sugiere MacLeod (1994). Esta vía de formación se apoya en los resultados de un estudio previo (Salvá et al., 2009) en el que fueron detectados diversos AG mono-, di-, tri- y tetrametil-ramificados (conteniendo entre 13 y 18 átomos de carbono) en la grasa intramuscular de la carne de alpaca, con niveles aproximados del 4% respecto al total de AG. Por otra parte, dichos hidrocarburos podrían haber derivado también de la degradación de fitanos (compuestos típicamente encontrados en la carne de rumiantes criados en régimen extensivo de pastoreo; Vasta y Priolo, 2006), como resultado igualmente de reacciones asociadas la oxidación lipídica: ataque de radicales libres e hidroperóxidos sobre estos compuestos. En general, la influencia de los hidrocarburos alifáticos volátiles en el aroma del charqui podría considerarse escasa debido a que estos tienen relativamente altos umbrales de percepción aromática (desde 100 a 2000 ppm; Drumm y Spanier, 1991).

Los aldehídos de cadena lineal de entre 5 y 10 átomos de carbono, el 1-octen-3-ol, la 2-heptanona y el 2-pentilfurano son compuestos detectados en el charqui, que al igual que los hidrocarburos se forman a partir de la oxidación y degradación lipídicas (Frankel, 1982; Hierro et al., 2004). Los aldehídos de cadena lineal de entre 6 y 10 átomos de carbono y el 2-pentilfurano tienen umbrales de detección muy bajos (Drum y Spanier, 1991; Forss, 1972). Por lo tanto, considerando las grandes cantidades encontradas en el charqui, dichos compuestos estarán fuertemente implicados en el sabor del charqui. A continuación se muestran entre paréntesis las notas aromáticas

asociadas a dichos compuestos de acuerdo a lo encontrado en diversos estudios sobre el aroma de la carne (Calkins y Hodgen, 2007; Xie et al., 2008): pentanal (a almendra-a malta-acre-a hierba), hexanal (a grasa-a hierba), heptanal (a grasa-a hierba-a carne asada-a rancio), octanal (a grasa – jabonoso – afrutado - a hierba) y 2-pentil-furano (a hierba).

Otro compuesto detectado en el perfil de volátiles del charqui es la 2,3-octanodiona. Su presencia puede ser explicada por dos posibles causas: origen en la dieta asociada a un sistema de pastoreo extensivo (Vasta y Priolo, 2006) y oxidación de ácidos grasos poliinsaturados durante el calentamiento (Elmore et al., 2002).

También se identificaron en el espacio de cabeza del charqui dos aldehídos ramificados de cadena corta y 4 compuestos azufrados: 2-metilbutanal y 3-metilbutanal, metanotiol, disulfuro de carbono, dimetil y trimetil disulfuro. Estos compuestos han sido también detectados en productos cárnicos crudo curados de humedad intermedia (Hierro et al., 2004) y en carne cocinada (Elmore et al., 2002). Según estos autores, el origen de dichos compuestos ha sido principalmente atribuido a la degradación de Strecker de la leucina, isoleucina y aminoácidos azufrados, como parte de la reacción de Maillard. Además, se ha sugerido que parte de los compuestos azufrados en la carne de rumiantes podrían estar originados en el metabolismo ruminal a partir de aminoácidos azufrados (Schreurs et al., 2008). Todos estos compuestos podrían tener un efecto relevante en el sabor del charqui debido a sus bajos umbrales de percepción (Drumm y Spanier, 1991; Xie et al., 2008).

Finalmente, en el perfil aromático del charqui se detectaron el tolueno y el benzaldehído (compuestos bencénicos). La presencia de tolueno en el charqui puede ser explicada en base a varios posibles orígenes, incluyendo la ciclación de cadenas carboxílicas insaturadas producida por degradaciones lipídicas (Min et al., 1977) o la degradación de aminoácidos aromáticos (Hierro et al., 2004)..

Las principales diferencias en la composición de volátiles entre los dos tipos de charqui estudiados fueron la mayor abundancia en el charqui deshilachado de los siguientes compuestos (todos los aldehídos lineales): el 1-octen-3-ol, la 2-heptanona, el 2-pentilfurano y muchos de los alcanos de cadena lineal y ramificada, considerados todos ellos como derivados de la oxidación y degradación lipídica. Estos resultados pueden estar en relación a la diferencia en el tamaño de las piezas de carne saladas y secadas entre ambos tipos de charqui. En un caso la carne se seca y es salada una vez fileteada y en otro se usan piezas enteras que se salan y secan. Esta diferencia afecta a la relación superficie-volumen y por lo tanto a la accesibilidad del oxígeno al producto cárnico y consecuentemente al nivel de las reacciones de oxidación.

Además, parte de las diferencias en el contenido en volátiles entre los dos tipos de charqui pueden ser debidas a las diferencias en la composición de la carne fresca de alpaca utilizadas por los productores de ambos tipos de charqui (que no ha sido específicamente estudiada). Diferencias principalmente asociadas a la fracción grasa de la carne, atribuibles a los efectos de edad y probablemente sexo de los animales cuya carne fue procesada (animales de menor edad y probablemente más proporción de machos en el caso de los productores de charqui deshilachado). No obstante, probablemente el efecto del tamaño de los cortes de la carne sea más relevante que las características intrínsecas de la carne a la hora de explicar el mayor contenido de compuestos derivados de la oxidación lipídica en el charqui deshilachado.

3.2. Compuestos volátiles del charqui deshilachado después de 5 meses de almacenamiento

En la tabla 1.3 se muestra el contenido de compuestos volátiles en el espacio de cabeza de las muestras de charqui deshilachado tras un periodo de conservación a 15 °C de 5 meses, en bandejas recubiertas de una película de

polietileno permeable al oxígeno y con baja permeabilidad al vapor de agua. También, con objeto de evaluar el cambio en la concentración de compuestos volátiles del charqui almacenado con respecto al recién elaborado, se incluye un coeficiente obtenido de dividir la cantidad de cada compuesto volátil del charqui almacenado (5 meses) entre la cantidad del charqui recién elaborado. Igualmente, para cada compuesto, se indica el nivel de significatividad de la comparación de la concentración de volátiles entre ambos tiempos de almacenamiento (0 y 5 meses).

Como se puede observar en dicha tabla (1.3), se detectó un total de 68 compuestos volátiles. Dichos compuestos fueron clasificados atendiendo a su estructura química en las siguientes familias: hidrocarburos (48 compuestos), aldehídos (8), alcoholes (1) y cetonas (2) alifáticos, alquil-furanos (1), compuestos azufrados (4) y compuestos bencénicos (2). Además, se añadió un octavo grupo de compuestos no identificados (2). Dentro de los hidrocarburos alifáticos se incluyeron 30 alcanos y 1 alqueno ramificados cuya estructura molecular no pudo ser totalmente determinada (tabla 1.4).

Tabla 1.3. Concentración (ng de undecano por g) de los compuestos volátiles detectados en el charqui de alpaca deshilachado tras 5 meses de almacenamiento y su incremento respecto al charqui recién elaborado

	Charqui 5 meses	Cociente	P	EEM	TRR	MI ^b
<i>Hidrocarburos alifáticos</i>	191,10	0,90	NS	11,29		
Pentano	49,20	0,80	*	2,86	500	EM+TRR
Ciclopentano	8,49	2,00	NS	1,20	565	TRR
Hexano	23,35	0,60	**	1,98	603	EM+TRR
Hepteno	1,54	1,90	*	0,18	691	TRR
Heptano	9,13	0,70	NS	1,09	700	EM+TRR
3-Metilen-heptano	4,03	7,60	***	0,18	788	EM
Octeno	ND	0,00	-	-	790	TRR
Octano	8,69	0,70	NS	1,05	800	EM+TRR
4-Metil-octano	0,77	25,70	***	0,07	859	EM+TRR
4-Metil-hepteno	1,06	6,60	***	0,10	931	EM
Canfeno	0,91	0,50	**	0,14	945	EM+TRR
Metil-nonano	0,71	1,40	NS	0,08	960	TRR
Pentametil-heptano	38,15	19,40	***	1,34	981	EM+TRR
2,2,4,6,6-Pentametil-heptano	2,95	0,50	***	0,34	1011	EM
3-Metil-decano	0,34	0,30	***	0,07	1079	TRR
Undecano	0,15	0,60	NS	0,05	1099	
Dodecano	0,10	0,80	NS	0,04	1200	
Tetradecano	0,11	0,50	NS	0,04	1400	

Alcanos ramificados no identificados ^c	no	46,63	0,70	NS	4,22		
Alquenos ramificados no identificados ^c	no	1,53	-	-	-		
<i>Aldehídos alifáticos</i>		117,80	0,60	***	8,78		
3-Metil-butanal		4,87	0,90	NS	0,45	662	EM+TRR
2-Metil-butanal		0,03	-	-	-	674	EM+TRR
Pentanal		16,65	0,70	**	1,25	704	EM+TRR
Hexanal		69,64	0,60	***	5,38	804	EM+TRR
Heptanal		17,92	0,60	***	1,65	894	EM+TRR
Octanal		4,15	0,60	***	0,37	998	EM+TRR
Nonanal		4,54	0,60	***	0,31	1089	EM+TRR
Decanal		0,43	1,30	NS	0,06	1210	TRR
<i>Alcoholes alifáticos</i>							
1-Octen-3-ol		2,19	1,40	*	0,13	975	EM+TRR
<i>Cetonas alifáticas</i>		16,62	1,10	NS	1,05		
2-Heptanona		1,03	1,30	NS	0,09	885	EM+TRR
2,3-Octanodiona		0,22	0,30	***	0,07	977	TRR
<i>Alquil furanos</i>							
2-Pentil-furano		4,06	0,80	NS	0,26	983	EM+TRR
<i>Compuestos azufrados</i>		136,56	0,80	NS	21,79		
Metanotiol		83,06	1,20	NS	4,00		
Disulfuro de carbono		53,01	0,50	NS	20,89	544	EM+TRR
Dimetil disulfuro		0,36	0,60	NS	0,10	746	EM+TRR
Dimetil trisulfuro		0,12	0,30	*	0,06	967	EM+TRR
<i>Compuestos bencénicos</i>		3,98	0,70	NS	0,28		
Tolueno		2,46	0,80	NS	0,23	770	EM+TRR
Benzaldehído		1,52	0,60	***	0,12	962	EM+TRR
<i>Compuestos no identificados</i>	no	1,73	2,60	***	0,12		
44, 91(32), 94(31), 53(28), 80(28), 95(28), 55(24), 96(20), 121(18)		0,43	2,00	NS	0,06	926	
57, 44(95), 70(90), 55(69), 69(59), 41(53), 71(50), 56(48)		1,30	2,90	***	0,09	1094	
<i>Suma total</i>		484,19	0,80	NS	34,86		

^a Cociente obtenido de dividir la cantidad de cada compuesto volátil del charqui almacenado entre la cantidad del charqui recién elaborado

^b MI: Método de identificación. EM, espectro de masas coincidente con el espectro de masas de la base de datos NIST/EPA/NIH98 y validado por interpretación personal del mismo. TRR: El TRR experimental coincidente con el TRR encontrado en la bibliografía (Kondjoyan y Berdagué, 1996).

^c La relación de alcanos (28 compuestos) y alquenos (2 compuestos) de cadena ramificada se muestra en la Tabla 4.

EEM: Error estándar de la media.

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

TRR: Tiempo de retención relativo experimental.

ND: Compuesto no detectado ($< 0,03$ ng/g).

Tabla 1.4. Concentración (ng de undecano por g) de alcanos y alquenos de cadena ramificada no identificados (se muestran los iones principales y entre paréntesis las abundancias relativas correspondientes) en el charqui deshilachado de alpaca tras 5 meses de almacenamiento y su incremento respecto al charqui recién elaborado

	Charqui 5 meses	Cociente ^a	P	EEM	TRR	MI ^b
Alqueno ramificado 55, 83(41), 41(22), 84(18), 56(13), 43(12), 69(11), 77(10)	1,10	-	-	-	756	EM
Alcano ramificado 70, 55(55), 41(35), 71(16), 95(15), 56(13), 97(13), 42(11)	1,12	-	-	-	876	EM
Alcano ramificado 57, 57(10), 43(88), 41(44), 71(40), 85(33), 70(30), 55(30)	0,68	1,20	NS	0,08	888	EM
Alqueno ramificado, 55, 69 (96), 84(85), 70(47), 67(38), 83(38), 41(23), 42(20)	0,43	-	-	-	929	EM
Alcano ramificado 57, 56(33), 71(32), 43(27), 41(24), 85(19), 99(11), 55(10)	1,42	0,40	***	0,18	948	EM
Alcano ramificado 57, 56(46), 41(23), 53(13), 85(13), 43(12), 71(11), 44(9)	0,18	0,20	***	0,06	971	EM
Alcano ramificado 57, 43(84), 41(46), 21(44), 85(39), 56(23), 42(17), 70(16)	2,15	1,60	**	0,15	990	EM
Alcano ramificado 43, 71(89), 57(65), 41(40), 85(26), 70(24), 27(21), 55(18)	3,20	0,90	NS	0,3	1018	EM
Alcano ramificado 57, 71(71), 85(50), 43(42), 41(32), 70(26), 55(14), 127(12)	5,31	0,40	***	0,6	1022	EM
Alcano ramificado 57, 71(43), 43(27), 41(22), 56(16), 70(16), 55(12), 85(10)	3,51	1,30	*	0,21	1024	EM
Alcano ramificado 57, 41(21), 56(20), 43(10), 59(10), 71(9), 115(8), 69(8)	3,37	18,70	***	0,13	1027	EM
Alcano ramificado 57, 43(50), 71(43), 41(39), 98(31), 55(27), 85(26), 56(17)	0,72	2,90	*	0,08	1033	EM
Alcano ramificado 71, 57(79), 43(66), 85(65), 41(32), 127(30), 55(30), 69(28)	0,09	0,10	***	0,06	1034	EM
Alcano ramificado 57, 71(43), 43(33), 41(26), 70(19), 55(17), 56(17), 85(12)	2,09	4,00	***	0,09	1036	EM
Alcano ramificado 57, 71(50), 43(32), 41(30), 85(26), 56(23), 55(14), 70(10)	1,25	0,50	***	0,14	1038	EM
Alcano ramificado 57, 56(48), 71(29), 41(26), 43(25), 70(17), 55(14), 113(10)	4,09	0,40	***	0,48	1040	EM

Alcano ramificado 57, 56(42), 71(32), 43(26), 41(23), 70(14), 55(11), 112(9)	2,08	0,50	***	0,21	1042	EM
Alcano ramificado 57, 56(37), 71(29), 41(24), 43(23), 85(15), 55(12), 70(10)	4,75	0,70	NS	0,58	1044	EM
Alcano ramificado 69(10), 57(96), 153(80), 41(65), 55(58), 97(57), 83(54), 56(42)	0,28	0,10	***	0,14	1050	EM
Alcano ramificado 57, 85(90), 43(77), 71(70), 41(44), 84(42), 55(29), 56(19)	0,24	0,20	***	0,1	1056	EM
Alcano ramificado 57, 56(64), 41(25), 43(11), 11(10), 69(9), 55(7), 71(6)	4,87	-	***	0,32	1060	EM
Alcano ramificado 71, 57(81), 43(70), 70(66), 85(44), 41(39), 83(14), 69(14)	0,98	0,50	***	0,13	1068	EM
Alcano ramificado 71, 70(88), 43(76), 57(48), 84(28), 67(27), 51(26), 55(25)	0,51	0,30	***	0,11	1070	EM
Alcano ramificado 71, 85(99), 57(88), 43(66), 41(38), 126(32), 69(25), 56(23)	0,48	0,30	***	0,09	1073	EM
Alcano ramificado 85, 71(96), 57(91), 43(66), 70(33), 41(30), 69(28), 127(27)	0,58	0,50	***	0,09	1077	EM
Alcano ramificado 71, 57(76), 43(54), 41(39), 85(36), 70(32), 55(20), 127(18)	0,95	0,40	***	0,14	1080	EM
Alcano ramificado 57, 71(68), 43(56), 56(50), 85(40), 55(31), 69(25), 41(25)	0,23	0,30	**	0,08	1096	EM
Alcano ramificado 57, 56(36), 71(20), 41(16), 43(15), 55(13), 44(10), 85(10)	0,42	0,30	***	0,11	1101	EM
Alcano ramificado 71, 57(92), 41(27), 127(22), 113(21), 43(20), 56(18), 112(13)	0,62	0,50	**	0,1	1151	EM
Alcano ramificado 57, 56(48), 71(30), 55(22), 41(17), 43(16), 85(12), 44(11)	0,46	0,50	**	0,07	1158	EM

^a Cociente obtenido de dividir la cantidad de cada compuesto volátil del charqui almacenado entre la cantidad del charqui recién elaborado.

^b MI: Método de identificación. EM, espectro de masas coincidente con el espectro de masas de la base de datos NIST/EPA/NIH98 y validado por interpretación personal del mismo.

EEM: Error estándar de la media.

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

TRR: Tiempo de retención relativo experimental.

ND: Compuesto no detectado ($< 0,03$ ng/g).

Los compuestos identificados fueron muy similares a los observados en el charqui recién elaborado (tablas 1.1 y 1.2). Únicamente se detectó, después de los cinco meses, la aparición de pequeños niveles de 2-metilbutanal y de un alqueno ramificado, que en el charqui recién elaborado no alcanzaron niveles detectables; mientras que ocurrió lo contrario en el caso del octeno, que no llegó a niveles cuantificables en el charqui de cinco meses y sí fue detectado en pequeña cantidad en las muestras de charqui recién elaborado.

Comparando los niveles de los distintos compuestos volátiles entre el charqui almacenado 5 meses y el recién elaborado, se puede decir que las cantidades de la mayoría de los compuestos volátiles fueron menores en el charqui de 5 meses (esto se traduce en cocientes inferiores a uno; tablas 1.3 y 1.4). No obstante, en alguno de los compuestos detectados las cantidades fueron considerablemente superiores después del almacenamiento (cocientes mayores a uno). Aunque se apreciaron diferencias significativas entre los dos tiempos de conservación estudiados en la cantidad de algunos compuestos volátiles considerados de forma individual, no hubo diferencias significativas en la suma o cantidad total de compuestos volátiles.

Ahondando más en esas diferencias, se observó que después de cinco meses de almacenamiento disminuyeron de forma estadísticamente significativa (respecto al charqui recién elaborado) las cantidades de 32 compuestos: pentano, hexano, canfeno, 2,2,4,6,6-pentametil-heptano, 3-metil-decano, pentanal, hexanal, heptanal, octanal, nonanal, 2,3-octanodiona, dimetil trisulfuro, benzaldehído y 19 hidrocarburos ramificados. Por el contrario, se observó un mayor contenido estadísticamente significativo en charqui de 5 meses de 10 compuestos: hepteno, 3-metilen-heptano, 4-metil-octano, 4-metil-hepteno, pentametil-heptano, 1-octen-3-ol y 4 hidrocarburos ramificados no identificados (tablas 1.3 y 1.4). Tanto por el número y la naturaleza de compuestos implicados, como por la magnitud de las diferencias

observadas, durante el almacenamiento del charqui, la disminución de volátiles predomina en importancia sobre el incremento.

Los 32 volátiles del charqui que presentaron menores cantidades tras 5 meses de almacenamiento son en su mayoría compuestos derivados de la oxidación y degradación lipídica. Esto indica que la pérdida de estos compuestos volátiles superó a su formación, ocasionada por la eventual oxidación de las grasas durante el almacenamiento. Esa pérdida de compuestos volátiles se puede atribuir a dos fenómenos: i) la volatilización y permeación de los compuestos a través de la película de envasado, ii) la sorción (con o sin volatilización previa) de los compuestos volátiles en el material de envasado (Nielsen y Jägerstad, 1994) o iii) la reacción de degradación química de los compuestos volátiles o unión (adsorción) con otros componentes de la carne. Al hilo de los dos primeros argumentos, la alta relación superficie/volumen de las hilachas de charqui (de aproximadamente 1 g de peso) favorecería la liberación de compuestos volátiles por evaporación, los cuales atravesarían fácilmente la película de polietileno debido a su permeabilidad.

El descenso en el contenido en volátiles del charqui deshilachado debido a su almacenamiento, podría tener consecuencias desde el punto de vista sensorial a la hora de su consumo. La pérdida de aldehídos lineales (pentanal, hexanal, heptanal, octanal y nonanal), el dimetil trisulfuro y la 2,3-octanodiona, que presumiblemente contribuyen fuertemente al aroma del charqui tanto por sus bajos umbrales como por los elevados niveles presentes (Young et al., 1997), podría llegar a suponer un cambio notable en el sabor característico del charqui. Sin embargo, la disminución de los hidrocarburos tras el periodo de conservación estudiado implicaría escasas modificaciones sensoriales para el charqui debido a su elevado umbral de percepción.

Por el contrario, los compuestos volátiles que aparecen en mayor cantidad en el charqui de 5 meses respecto al recién elaborado son en su mayoría hidrocarburos alifáticos que presentaron cantidades relativamente

bajas, de modo que no estarían prácticamente implicados en el sabor característico del charqui. Únicamente aumentó significativamente un alcohol, el 1-octen-3-ol, asociado con un marcado aroma a champiñón (Calkins y Hodgen, 2007).

4. CONCLUSIONES

Teniendo en cuenta todos los resultados obtenidos en este estudio, se proporcionan nuevos datos sobre la composición química del charqui de alpaca andino. Los tipos de charqui estudiados (charqui hecho de filetes y charqui con hueso) mostraron una razonable similitud entre sí. Sin embargo, se pueden observar algunas diferencias en su composición, lo que demuestra la existencia de la variación en el producto en relación a las características de la materia prima (fundamentalmente la edad de los animales) y el procesamiento (corte, salado y condiciones de secado). La principal diferencia entre tipos de charqui es la mayor abundancia de compuestos derivados de la oxidación lipídica en el charqui deshilachado que en el charqui con hueso, lo que se podría relacionar con el menor tamaño de pieza, y por lo tanto mayor exposición al aire, del charqui deshilachado. Las características del charqui y las diferencias observadas entre los tipos de charqui estudiados pueden ser útiles para el desarrollo de normas de calidad.

El escaso contenido en humedad de agua del charqui andino y su elevado contenido en sal, hacen del mismo un producto muy estable frente al deterioro. Sin embargo, cuando el charqui es sometido a un periodo de conservación prolongado, los resultados obtenidos indican que puede experimentar una pérdida de intensidad aromática. El pequeño tamaño de las típicas hilachas del charqui andino facilita la pérdida de compuestos aromáticos por evaporación.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Adams, R. P. (2007).** Alphabetical listing of compounds with their retention time and arithmetic retention index on DB-5. En: Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, 4th Ed. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois, EEUU.
- Aksu, M. I., Kaya, M. (2001).** The effect of starter culture use in pastirma production on the properties of end product. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 25, 319-326.
- Barbieri, G., Bolzoni, L., Parolai, G., Virgili, R., Buttini, R., Careri, M. (1992).** Flavour compounds of dry-cured ham. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 2389-2394.
- Bender, A. (1992).** Meat and meat products in human nutrition in developing countries. Food and Nutrition. Paper 53. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Roma, Italia. Disponible en <http://www.fao.org/docrep/t0562e/t0562e00.HTM> (consultado el 23 de octubre de 2013.).
- Biscontini, T. M., Shimokomaki, M., Oliveira, S. F., Zorn, T. M. (1996).** An ultrastructural observation on charquis, salted and intermediate moisture meat products. *Meat Science*, 43, 351-358.
- Brennand, C. P. (1989).** Factors affecting contributions of volatile branched-chain fatty acids to the species-related flavours of lamb and mutton. Tesis Doctoral. Universidad de Wisconsin. Madison.
- Brennand, C. P., Lindsay, R. C. (1992).** Distribution of volatile branched-chain fatty acids in various lamb tissues. *Meat Science*, 31, 411-421.
- Calkins, C. R., Hodgen, J. M. (2007).** A fresh look at meat flavor. *Meat Science*, 77, 63-80.
- Careri, M., Mangia, A., Barbieri, G., Bolzoni, L., Virgili, R., Parolari, G. (1993).** Sensory property relationship to chemical data of Italian type dry-cured ham. *Journal of Food Science*, 58, 968-972.

- Carrapiso, A. I., Jurado, A., Timon, M. L., García, C. (2002a).** Odor-active compounds of Iberian hams with different aroma characteristics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6453-6458.
- Carrapiso, A. I., Ventanas, J., García, C. (2002b).** Characterization of the most odor-active compounds of Iberian ham headspace. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 1996-2000.
- Carrapiso, A. I., García, C. (2004).** Iberian ham headspace: Odorants on intermuscular fat and differences with lean. *Journal Science of Food and Agriculture*, 84, 2047-2051.
- Chukwu, O., Imodiboh, L. (2009).** Influence of storage conditions on shelf-life of dried beef product (Kilishi). *World Journal of Agricultural Sciences*, 5, 34-39.
- Córdoba, J. J., Antequera, T., Ventanas, J, López-Bote, C., García, C., Asensio, M. A. (1994).** Hydrolysis and loss of extractability of proteins during ripening of Iberian ham. *Meat Science*, 37, 217-227.
- David, F., Scanlan, F., Sandra, P, Szelewski, M. (2002).** Analysis of essential oil compounds using retention time locked methods and retention time databases, Application. Food and flavors. *Agilent Technologies, Inc.* Santa Clara, C. EEUU. Págs. 1-10.
- Degorce-Dumas, J. R., More, J., Goursaud, J., Leveau, J. Y. (1984).** Aroma production by microorganism. The potentialities. *Industries Agricoles et Alimentaires*, 101, 11-15.
- Dransfield, E. (2008).** The taste of fat. *Meat Science*, 80, 37-42.
- Drumm T. D., Spanier, A. M. (1991).** Changes in the content of lipid autoxidation and sulphur-containing compounds in cooked beef during storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 39, 336-343.
- Elmore, J. S., Campo, M. M., Enser, M., Mottram, D. (2002).** Effect of lipid composition on meat-like model systems containing cysteine, ribose, and polyunsaturated fatty acids. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 50, 1126-1132.

- Elmore, J. S., Cooper, S. L., Enser, M., Mottram, D. S., Sinclair, L. A., Wilkinson, R. G. et al. (2005).** Dietary manipulation of fatty acid composition in lamb meat and its effect on the volatile aroma compounds of grilled lamb. *Meat Science*, 69, 233-242.
- Elmore, J. S., Mottram, D. S., Enser, M., Wood, J. D. (2000).** The effects of diet and breed on the volatile compounds of cooked lamb. *Meat Science*, 55, 149-159.
- Fagundes, S.G. (1982).** *Avaliação de Nova Técnica na Produção de Charque*. Tesis para optar el Título de Doctor, Universidad Federal Fluminense, Río de Janeiro, Brasil.
- Felicio, P. E. de. (2002).** Charque - Um produto típico nacional que deveria receber mais atenção. *Revista ABCZ*, Uberaba MG, Pág. 54.
- Fernández-Baca, S. (2005).** *Situación actual de los camélidos sudamericanos en Perú* (Proyecto de Cooperación Técnica en apoyo a la crianza y aprovechamiento de los Camélidos Sudamericanos en la Región Andina TCP/RLA/2914). Roma: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- Flores, M. (2010).** Flavor of meat products. En: *Sensory analysis of foods of animal origin*. Ed. Nollet, L. M. L., Toldrá, F., Taylor & Francis. Boca Raton, Florida, EEUU.
- Flores, M., Grimm, C. C., Toldrá, F., Spanier, A. M. (1997).** Correlations of sensory and volatile compounds of Spanish "Serrano" dry-cured ham as function of two processing times. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 2178-2186.
- Flores, M., Spanier, A. M., Toldrá, F. (1998).** Flavour analysis of dry-cured ham. En: *Flavor of meat, meat products and seafoods*. Ed. Shahidi F., Blackie Academic & Professional. Londres, Reino Unido. Págs. 320-341
- Forss, D. A. (1972).** Odor and flavor compounds from lipids. *Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids*, 13, 177-258.
- Frankel, E. N. (1982).** Volatile lipid oxidation products. *Progress in Lipid Research*, 22, 1-33.

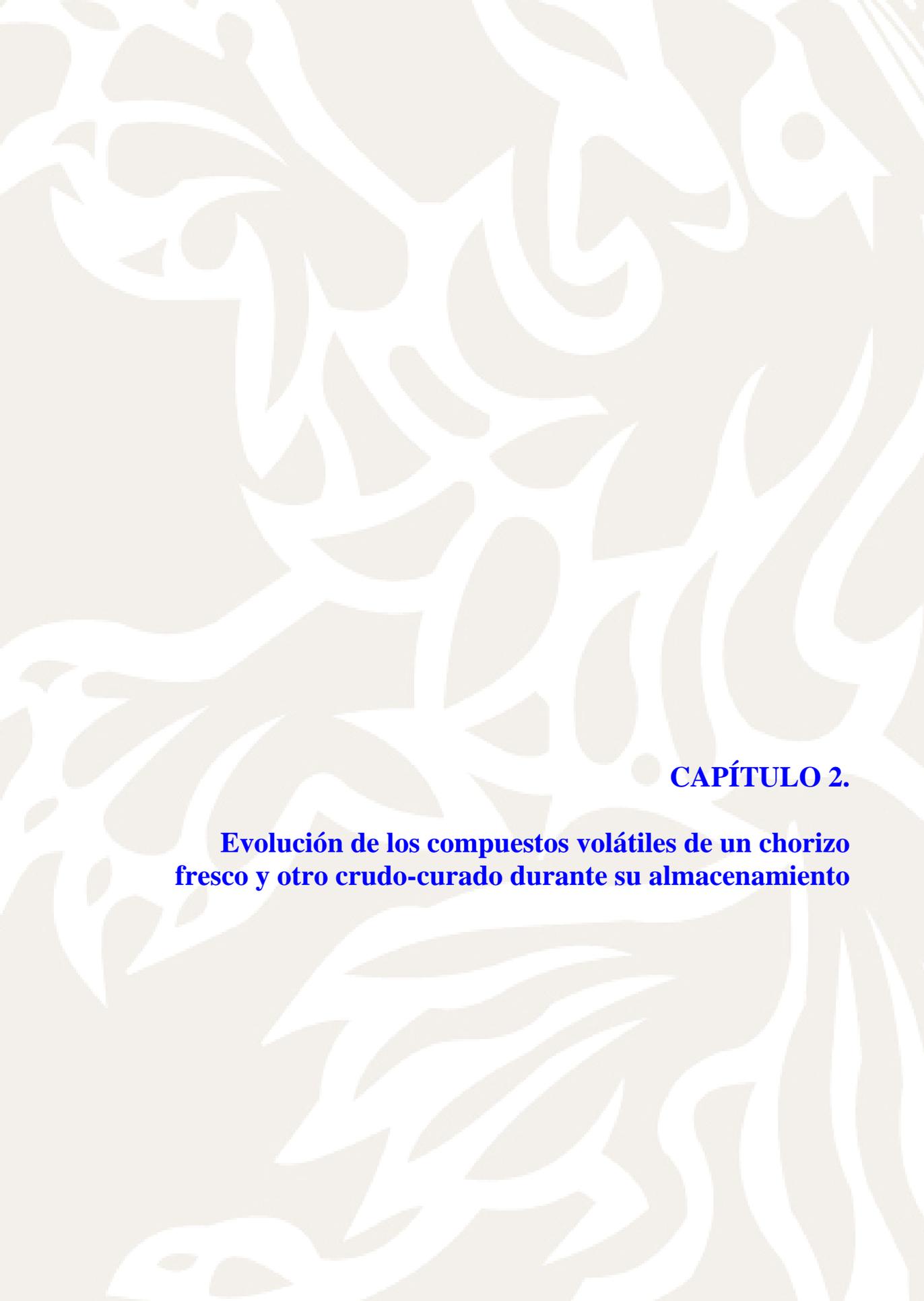
- García, C., Berdagué, J. L., Antequera, T., López-Bote, C., Córdoba, J. J., Ventanas, J. (1991).** Volatile components of dry cured Iberian ham. *Food Chemistry*, 41, 23-32.
- García, I., Díez, V., Zumalacárregui, J. M. (1997).** Changes in proteins during the ripening of Spanish dried beef cecina. *Meat Science*, 46, 379-385.
- García, I., Díez, V., Zumalacárregui, J. M. (1998).** Changes in nitrogen fraction and free aminoacids during ripening of Spanish dried beef cecina. *Journal of Muscle Foods*, 9, 257-266.
- García, I., zumalacárregui, J. M., Díez, V. (1995).** Microbial succession and identification of Micrococcaceae in dried beef cecina, an intermediate moisture meat product. *Food Microbiology*, 12, 309-315.
- García-Esteba, M., Ansorena, D., Astiarrán, I., Ruiz, J. (2004).** Study of the effect of different fiber coatings and extraction conditions on dry cured ham volatile compounds extracted by solid-phase microextraction (SPME). *Talanta*, 64, 458-466.
- Gil, M., Guerrero, L., Sárraga, C. (1999).** The effect of meat quality, salt and ageing time on biochemical parameters of dry-cured *Longissimus dorsi* muscle. *Meat Science*, 51, 329-337.
- Guner, A., Gonulalan, Z., Dogruer, Y. (2008).** Effect of tumbling and multi-needle injection of curing agents on quality characteristics of pastirma. *International Journal of Food Science and Technology*, 43, 123-129.
- Gutiérrez, E., Domínguez, M. C., Zumalacárregui, J. M. (1988).** Caracterización de la Cecina de Vacuno elaborada en la Provincia de León. *Anales de la Facultad de Veterinaria de León*, 34, 111-118.
- Hierro, E., de la Hoz, L., Ordóñez, J. A. (2004).** Headspace volatile compounds from salted and occasionally smoked dried meats (cecinas) as affected by animal species. *Food Chemistry*, 85, 649-657.
- Hinrichsen, L. L., Pedersen, S. B. (1995).** Relationship among flavour, volatile compounds, chemical changes, and the microflora in Italian-type dry-cured ham using processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 2932-2940.

- Kaban, G. (2009).** Changes in the composition of volatiles compounds and in microbiological and physicochemical parameters during pastirma processing. *Meat Science*, 82, 17-23.
- Kondjoyan, N., Berdagué, J. L. (1996).** *A compilation of relative retention indices for the analysis of aromatic compounds.* Laboratoire Flaveur, Institut National de la Recherche Agronomique. Theix, Francia. Págs. 1-234.
- Lara, J. A., Senigalia, S. W., Oliveira, T. C., Dutra, I. S., Pinto, M. F., Shimokomaki, M. (2003).** Evaluation of survival of *Staphylococcus aureus* and *Clostridium botulinum* in charqui meats. *Meat Science*, 65, 609-613.
- Leistner, L. (1987).** Shelf-Stable products and intermediate moisture foods based on meat. En L. B. Rockland, L.R. Beuchat (Eds), *Water Activity: Theory and applications to Food.* Eds. Rockland, L. B., Beuchat, L. R. International Union of Food Science and Technology. New York. EEUU. Págs. 295-323.
- Leistner, L., Rödel, W. (1976).** *Intermediate moisture foods.* Elsevier Applied Science Publishers. Londres, Reino Unido.
- Lewis, H. E., Masterton, J. P. Ward, P. G. (1957).** The food value of biltong (South African dried meat) and its use on expeditions. *British Journal of Nutrition*, 11, 5-12.
- Madruca, M. S., Arruda, S. G. B., Narain, N., Souza, J. G. (2000).** Castration and slaughter age effects on panel assessment and aroma compounds of the “mestico” goat meat. *Meat Science*, 56, 117-125.
- Madruca, M. S., Elmore, Y. S., Dodson, A. T., Mottram, D. S. (2009).** Volatile flavour profile of goat meat extracted by three widely used techniques. *Food Chemistry*, 115, 1081-1087.
- MacLeod, G. (1994).** The flavour of beef. En: *The flavour of meat and meat products.* Ed. Shahidi, F. Glasgow: Blackie Academic & Professional. Págs. 4-37.
- Mateo, J., Salvá, B. K., Ramos, D. D., Caro, I., Prieto, B., González, A. E. (2010).** Características de la carne de alpaca y procesamiento de charqui en los departamentos de Puno y Cusco. Ed. Salvá, B. K. León, España.

- Min, D. B. S., Ina, K., Peterson, R. J., Chang, S. S. (1977).** The alkylbenzenes in roast beef. *Journal of Food Science*, 42, 503–505.
- Molinero, C. (2009).** Caracterización y optimización del proceso tecnológico de elaboración de la Cecina de León. Tesis doctoral. Universidad de Burgos, Burgos, España.
- Molinero, C., Martínez, B., Rubio, B., Rovira, J., Jaime, I. (2008).** The effects of extended curing on the microbiological, physicochemical and sensorial characteristics of Cecina de León. *Meat Science*, 80, 370-379.
- Mottram, D. S. (1998).** Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chemistry*, 62, 415-424.
- Muriel, E., Antequera, T., Petron, M. J., Andres, A. I., Ruiz, J. (2004).** Volatile compounds in Iberian dry-cured loin. *Meat Science*, 68, 391-400.
- Nielsen, T., Jägerstad, M. (1994).** Flavour Scalping by food packaging. Review. *Trends in Food Science & Technology*, 5, 353-356.
- Norman, G. A., Corte, O. O. (1985).** *Dried salted meats: charque and carne-de-sol*. Roma: Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Pachao, N. (2006).** DECAMA-Project: Characteristics of the supply and demand of charqui. En: *South American Camelids Research* (Vol I). Eds. Gerken, M., Renieri, C. Wageningen Academic Publishers. Wageningen, Holanda. Págs. 261-270.
- Palcari, M. A., Beretta, G., Colombo, F., Foschini, S., Bertolo, G., Camisasca, S. (2000).** Buffalo meat as salted and cured product. *Meat Science*, 54, 365-367.
- Palcari, M. A., Moretti, M., Beretta, G., Mentasti, T., Bersani, C. (2003).** Cured products from different animal species. *Meat Science*, 63, 485-489.
- Pardi, M. C., Santos, I. F., Souza, E. R., Pardi, H. S. (1996).** Ciência, higiene e tecnologia da carne (v.2). Goiânia: Universidade Federal de Goiás.
- Petrón, M. J., Tejada, J. F., Muriel, E., Ventanas, J., & Antequera, T. (2005).** Study of the branched hydrocarbon fraction of intramuscular lipids from Iberian dry-cured ham. *Meat Science*, 69, 129-134

- Pham, A. J., Schilling, M. W., Mikel, W. B., Williams, J. B., Martin, J. M., Coggins, P. C. (2008).** Relationships between sensory descriptors, consumer acceptability and volatile flavour compounds of American dry-cured ham. *Meat Science*, 80, 728-737.
- Picchi, V. (1991).** Preparação do charque. *Revista Nacional da Carne*, 16, 37-45.
- Pinto, M. F., Posano, E. H., Franco, B. D., Shimokomaki, M. (2002).** Charqui meats as fermented meat products: role of bacteria for some sensorial properties development. *Meat Science*, 61, 187-191.
- Ramirez, R., Cava, R. (2007).** Volatile profiles of dry-cured meat products from three different Iberian x duroc genotypes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 1923-1931.
- Ruiz, J., Ventanas, J., Cava, R., Andres, A., García, C. (1999).** Volatile compounds of dry-cured Iberian ham as affected by the length of the curing process. *Meat Science*, 52, 19-27.
- Sabio, E., Vidal-Aragon, M. C., Bernalte, M. J., Gata, J. L. (1998).** Volatile compounds present in six types of dry-cured ham from south European countries. *Food Chemistry*, 61, 493-503.
- Salvá, B. K. (2010).** Caracterización de la carne y charqui de alpaca (*Vicugna pacos*). Tesis doctoral. Universidad de León, León, España.
- Salvá, B. K., Fernández-Diez, A., Ramos, D. D., Caro, I., Mateo, J. (2012).** Chemical composition of alpaca (*Vicugna pacos*) charqui. *Food Chemistry*, 130, 329-334.
- Salvá, B. K., Zumalacárregui, J. M., Figueira, A. C., Osorio, M. T., & Mateo, J. (2009).** Nutrient composition and technological quality of meat from alpacas reared in Peru. *Meat Science*, 82, 450-455.
- Schreurs, N. M., Lane, G. A., Tavendale, M. H., Barry, T. N., & McNabb, W. C. (2008).** Pastoral flavour in meat products from ruminants fed fresh forages and its amelioration by forage condensed tannins. *Animal Feed Science and Technology*, 146, 193-221.

- Shahidi, F., Rubin, L. J., D'Souza, L. A. (1986).** Meat flavour volatiles: a review of the composition, techniques of analysis, and sensory evaluation. *CRC Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 24, 141-243.
- Shuterland, M. M., Ames, J. M. (1995).** The effect of castration on the headspace aroma components of cooked lamb. *Journal Science of Food and Agriculture*, 69, 403-413.
- Søndergaard, A. K., Stahnke, L. H. (2002).** Growth and aroma production by *Staphylococcus xylosum*, *S. carnosus* and *S. equorum*—a comparative study in model systems. *International Journal of Food Microbiology*, 75, 99-109.
- Toldrá, F. (1998).** Proteolysis and lipolysis in flavour development of dry-cured meat products. *Meat Science*, 49, 101-110.
- Vasta, V., & Priolo, A. (2006).** Ruminant fat volatiles as affected by diet. A review. *Meat Science*, 73, 218-228.
- Ventanas, J., Córdoba, J. J., Antequera, T., García, C. López-Bote, C., Asensio, M. A. (1992).** Hidrolysis and Maillard reactions during ripening of Iberian ham. *Journal of Food Science*, 57, 813-815.
- Vieira, C., Fernández-Díez, A., Mateo, J., Bodas, R., Soto, S., Manso, T. (2012).** Effects of addition of different vegetable oils to lactating diary ewe's diet on the meat quality characteristics of suckling lambs reared on the ewe's milk. *Meat Science*, 91, 277-283.
- Xie, J., Sun, B., Zheng, F., & Wang, S. (2008).** Volatile flavor constituents in roasted pork of Mini-pig. *Food Chemistry*, 109, 506–514.
- Yang, H., Ma, Ch., Qiao, F., Song, Y., Du, M. (2005).** Lipolysis in intramuscular lipids during processing of traditional Xuanwei ham. *Meat Science*, 71, 670–675.
- Young, O.A., Berdagué, J. L., Viallon, C., Rousset-Akrim, S., Theriez, M. (1997).** Fat-borne volatiles and sheep meat odour. *Meat Science*, 45, 183-200.
- Zumalacárregui, J. M., Díez, V. (2001).** Cecina y tasajo. En: *Enciclopedia de la Carne y de los Productos Cárnicos*. Ed. Martín Bejarano, S. Martín & Macias. Plasencia, España. Págs. 1163-1176.



CAPÍTULO 2.

Evolución de los compuestos volátiles de un chorizo fresco y otro crudo-curado durante su almacenamiento

RESUMEN

Se han estudiado los componentes volátiles de un chorizo fresco y otro madurado y su evolución durante el almacenamiento en distintas condiciones, atmósfera, actividades de agua (a_w) o temperatura. El análisis de volátiles se llevó a cabo por extracción mediante la técnica de espacio de cabeza estático y cromatografía de gases acoplada a un detector de espectrometría de masas

En la primera parte del capítulo (parte I) se analizaron los volátiles de chorizos frescos de estilo mexicano artesanales e industriales (dos lotes de cada tipo), elaborados en la planta piloto de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (México). Los chorizos se mantuvieron en cámara de secado (8 ± 2 °C) hasta conseguir la a_w deseada (0,96, 0,94 ó 0,92) antes de su posterior envasado, que se realizó en bandeja recubierta con film plástico permeable al oxígeno (atmósfera control) o en atmósfera modificada (AM; 20 % CO₂ y 80 % N₂). Los chorizos se almacenaron a refrigeración, tomando muestras para su análisis los días 1, 14, 28 y 42 de almacenamiento. Las muestras fueron analizadas antes (en crudo) y después de su cocinado. En el chorizo crudo se detectaron 52 compuestos volátiles pertenecientes a las siguientes familias químicas (entre paréntesis figura el número de compuestos): hidrocarburos alifáticos de cadena lineal (2), aldehídos alifáticos de cadena lineal (12), ácidos y ésteres (7), alcoholes (3), alquil-furanos (1), aldehídos alifáticos ramificados (1), compuestos terpénicos (16), azufrados (5) y bencénicos (5). En el chorizo cocinado, además de los identificados en crudo se detectaron otros 2 aldehídos ramificados y 1 compuesto bencénico más. El cocinado de los chorizos supuso un incremento del 20-30 % en la cantidad total de volátiles, aumentando las cantidades de todas las familias químicas, excepto la de los compuestos azufrados que disminuyeron ligeramente. Durante el almacenamiento de los chorizos los niveles de ácidos y ésteres mostraron un ligero incremento (tendencia estadística). El chorizo crudo de elaboración industrial presentó niveles más elevados de compuestos

azufrados y terpénicos y aldehídos alifáticos de cadena lineal que el de elaboración artesanal, mientras que después del cocinado los aldehídos alifáticos fueron más abundantes en los artesanales. Los niveles de hidrocarburos alifáticos fueron menores en los chorizos crudos envasados en AM que en los de atmósfera control y los niveles de hidrocarburos, furanos y aldehídos ramificados en chorizo crudo tendieron a ser más altos a menor que a mayor valor de a_w . En el chorizo cocinado, las cantidades de ácidos, ésteres y terpenos fueron superiores con envasado control y los niveles de los compuestos azufrados disminuyeron a medida que disminuyó la a_w de los chorizos.

En la parte II se plantearon a su vez dos experimentos, en el primero se estudió el perfil volátil de chorizos crudo-curados envasados a vacío y almacenados a dos temperaturas diferentes y en el segundo se estudiaron los compuestos volátiles en chorizos almacenados en AM con o sin la presencia de CO_2 y con a_w diferente. Para la realización del primer experimento se emplearon muestras de chorizo elaborado en la Universidad de León siguiendo formulaciones y procedimientos habituales de la región: tres lotes de chorizos de elaboración artesanal y otros tres de acuerdo a procedimientos industriales. Los chorizos se mantuvieron en cámara de maduración hasta alcanzar una de a_w de 0,84. Posteriormente, los chorizos se envasaron a vacío y se almacenaron a 12 o 4 °C, tomando muestras los días 1, 60, 150 y 240. Para la realización del segundo experimento se elaboraron 3 lotes de chorizo de tipo industrial del mismo modo que en el experimento anterior. Los chorizos elaborados se mantuvieron en cámara de maduración hasta alcanzar valores de a_w de 0,88 y 0,84. Los chorizos de cada a_w se envasaron en atmósfera modificada, con N_2 (100 % N_2) o con mezcla de N_2 y CO_2 (80 % N_2 /20 % CO_2) y se almacenaron a 12 °C durante 1, 60, 150 y 240 días.

En los chorizos envasados a vacío fueron detectados 24 compuestos volátiles pertenecientes a 8 familias químicas: hidrocarburos alifáticos no terpénicos (3), aldehídos de cadena lineal (6), ácidos grasos (6), ésteres (2),

aldehídos ramificados (1), compuestos terpénicos (2), compuestos azufrados (3) y compuestos bencénicos (1). El grupo más abundante fue el de los ácidos grasos. Hubo mayores niveles de compuestos azufrados y terpénicos en los chorizos de elaboración artesanal. Se observaron mayores cantidades de alil-mercaptano (compuesto azufrado mayoritario) en los chorizos almacenados a 4 °C (tendencia estadística). Además se produjo un descenso significativo de los niveles de hidrocarburos alifáticos no terpénicos y de compuestos azufrados durante el tiempo de almacenamiento. Por otra parte, el perfil de volátiles detectado en los chorizos industriales envasados en AM fue similar al de los chorizos envasados a vacío. Las condiciones de envasado (presencia de CO₂ y a_w) estudiadas ejercieron únicamente un ligero efecto sobre los niveles de ácidos grasos y ésteres, que fueron superiores en las muestras sometidas a mayor secado y en las envasadas con CO₂.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Embutidos crudos, generalidades

En el término “embutidos crudos” se pueden englobar todos aquellos derivados cárnicos elaborados con carne picada, embutidos en tripa o funda y no sometidos a tratamiento de cocción. Este tipo de embutidos comprende tanto los embutidos frescos como los embutidos crudo-curados.

Los embutidos frescos pertenecen a la categoría de preparados cárnicos frescos (Real Decreto 1376, 2003) definidos como aquellos productos elaborados con la carne picada de animales de abasto, 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 requieren refrigeración en su almacenamiento y se cocinan antes de su consumo. Existen muchas variedades de embutidos frescos en numerosos países, algunos ejemplos son la salchicha y chorizo frescos en España, “bratwurst” en Alemania, “boerewors” en Sudáfrica, “breakfast sausage” en los Estados Unidos o Reino Unido (Feiner, 2006). En la actualidad hay un mercado importante de embutidos frescos de bajo precio, en los que es común emplear ingredientes no cárnicos proteicos (como la proteína de 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.

A diferencia de los anteriores, los embutidos crudo-curados son sometidos a un proceso de secado y maduración y se consumen crudos. Este tipo de embutidos se elabora con 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 garantiza una estabilidad sin necesidad de refrigeración (Flores y Bermell, 1995; Frey, 1985) y le confiere unas propiedades sensoriales características. Son productos cárnicos de larga conservación a temperatura ambiente debido a la acción de varios factores combinados (o barreras) entre los que se incluyen la formación de ácido láctico y descenso del pH, la reducción de la actividad de agua (a_w), el descenso del potencial redox, la presencia de sustancias conservantes como los nitritos o sustancias procedentes de las especias (Leistner, 1992). En base al grado de acidificación y de secado se han propuesto las correspondientes clasificaciones de los embutidos crudo-curados, tal y como se muestra en las tablas 2.1 y 2.2.

Tabla 2.1. Clasificación de embutidos crudo-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
Semisechos (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 2.2. 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)

1.2. Embutidos frescos

1.2.1. Proceso de elaboración

El proceso de elaboración de embutidos frescos incluye el corte y picado de carne y grasa, mezclado y amasado con el resto de ingredientes, embutido, atado, oreo, envasado y almacenamiento. El picado se hace normalmente con picadora o con cúter (Leistner, 1995) y tiene como objetivo la reducción de tamaño de la carne, de manera que se permita la incorporación y mezcla homogénea de los ingredientes y aditivos no cárnicos, la introducción de la masa en tripas y, en su caso, la fermentación en el seno del embutido (Feiner, 2006). El picado debe de hacerse a bajas temperaturas evitando que durante la fragmentación de la carne y grasa se produzca calentamiento (Frey, 1985). Tras el picado se procede a la adición del resto de los ingredientes y al amasado de la mezcla con el fin de homogeneizar los componentes y activar las proteínas miofibrilares para que haya ligazón entre partículas de carne y grasa (Feiner, 2006). La masa cárnica obtenida se introduce en tripas naturales o artificiales. Durante el llenado es importante que la masa esté fría ya que, de lo contrario, la grasa podría fusionarse ocasionando problemas de embarrado o de indeseable proliferación microbiana. También es necesario evitar la entrada de aire en la tripa, ya que el oxígeno presente en el producto puede desestabilizar el color del embutido y facilitar la oxidación de la grasa. A continuación, el embutido normalmente se ata en porciones de distinto tamaño y posteriormente se orea durante unas horas, generalmente a temperatura ambiente, para que se pierda el exceso de humedad superficial. Después del oreo, los embutidos se almacenan refrigerados hasta su consumo (Zumalacárregui y Mateo, 1997).

1.2.2. Conservación de los embutidos frescos

El uso obligatorio del frío en los embutidos frescos responde principalmente al propósito de preservar la calidad inicial del producto,

retrasando su alteración y reduciendo los peligros asociados al desarrollo de microorganismos patógenos. Los efectos del deterioro de los productos cárnicos incluyen decoloración, pérdida de nutrientes, putrefacción y cambios de textura y otros (Skibsted et al., 1994).

La alteración de los embutidos frescos es predominantemente de origen microbiano, de forma que su vida útil depende en gran medida de la carga microbiana inicial, que a su vez viene dada por la higiene en su elaboración (Carballo y Jiménez, 2001; Han, 2005). La masa inicial del embutido tiene una carga microbiana variable, entre 10^2 - 10^6 UFC/g, dependiendo de la historia previa de la materia prima y las condiciones de procesado. Durante el almacenamiento a refrigeración de los embutidos tiene lugar un crecimiento microbiano que depende de sus características intrínsecas y de las condiciones de almacenamiento (Church y Parsons, 1995). Respecto a las características intrínsecas cabe destacar la a_w y el pH. Además, el contenido de azúcares puede afectar a la vida útil de los embutidos. Las bacterias presentes en el embutido utilizan en sus rutas metabólicas de crecimiento glucosa, aminoácidos y otros compuestos de bajo peso molecular (Gill, 1976). Los microorganismos utilizan glucosa como primera fuente de energía, y cuando ésta se ha consumido, utilizan otros compuestos presentes, cuyo metabolismo genera sustancias que a su vez provocan un aumento del pH y la formación de olores anormales (Forsythe y Hayes, 2007). En relación a las condiciones externas, son de destacar la temperatura, la humedad relativa (HR) ambiental (que condiciona el crecimiento microbiano en superficie) y el tipo de envasado. Estos factores no solo afectan a la cantidad de microorganismos sino también al tipo de microorganismo que se desarrolle en el embutido (Gómez y Lorenzo, 2012; McMillin, 2008; Nottingham, 1982). Los preparados cárnicos frescos se almacenan a temperaturas entre -1 y 7 °C, siendo preferible la temperatura más baja posible (Feiner, 2006; Zhou et al., 2010) y se utiliza extensamente el envasado al vacío o con atmósferas modificadas (Feiner, 2006; Martínez et al., 2005; Martínez et al., 2006;

Panseri et al., 2007; Ruiz-Capillas y Jiménez-Colmenero, 2010). Las atmósferas modificadas más utilizadas en el almacenamiento de estos embutidos contienen una mezcla de N₂ (60-70 %) y CO₂ (30-40 %), siendo este último el que ejerce el efecto conservador.

La oxidación, además del desarrollo microbiano, es otra causa importante de deterioro de los embutidos frescos ya que a partir de la misma se generan olores anómalos y alteraciones del color en la carne y derivados (Liu et al., 2009; Martínez et al., 2006; Skibsted, 1996). El picado de la carne y la grasa y la adición de sal durante el proceso de elaboración incrementa la susceptibilidad de estos productos a la oxidación (Martínez et al., 2006). Sin embargo, la adición de especias y aditivos antioxidantes contribuye al retraso de la misma (Kamdem et al., 2007; Liu et al., 2006). El envasado al vacío y las atmósferas modificadas sin oxígeno también contribuyen al freno del desarrollo de las reacciones de oxidación de las grasas en los embutidos frescos. El efecto de este tipo de envasado en la calidad de los embutidos frescos ha sido objeto de estudio en diversos trabajos (Guerrero et al., 1988; Martínez et al., 2005; Martínez et al., 2006; Mastromatteo et al., 2011).

1.2.3. El chorizo en México, un embutido fresco y fermentado

Tal y como se describe en el trabajo de González-Tenorio (2011), el chorizo en México se elabora a partir de carne y grasa, generalmente 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.). Los chiles más utilizados, denominados con nombres del mercado, son los chiles guajillo, mora, de árbol, cascabel o ancho; no obstante, entre los mencionados, 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. La mezcla formada por todos los ingredientes es amasada y 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 h aproximadamente). Algunos productores someten el chorizo a un ahumado con serrín de cedro. Finalmente, el chorizo se comercializa y, para ello, generalmente se exhibe colgado a temperatura ambiente (fig. 2.1).

La comercialización del chorizo fresco en México no está del todo regulada en cuanto a que se rompe con frecuencia la cadena de frío o ésta no existe. Generalmente, en el ámbito minorista el chorizo se comercializa sin refrigeración; exponiéndose al ambiente en la venta (fig. 2.1) y cuando el negocio está cerrado es almacenado en sitios bien ventilados y a temperaturas que normalmente no superan los 15 °C (siempre que el clima lo permita). 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. Durante este periodo de tiempo puede tener lugar una fermentación espontánea y de forma no controlada de los azúcares presentes en la masa generándose ácido láctico (Escartín et al., 1999; Kuri et al., 1995). Tal y como se describe en el estudio de González-Tenorio (2011), se ha encontrado que el chorizo fresco elaborado en México está en muchas ocasiones fermentado, incluso cuando es almacenado a temperaturas de refrigeración. Algunos de los chorizos presentaron valores de pH inferior a 5,0 por lo que se podrían considerar estables a temperatura ambiente (Incze, 1992; Feiner, 2006).

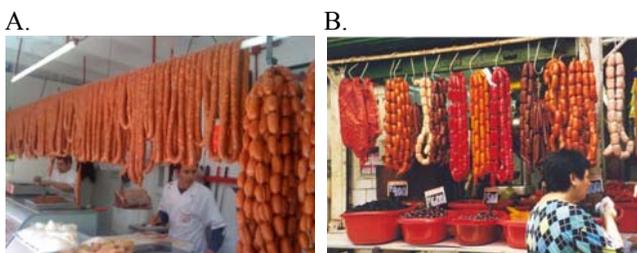


Figura 2.1.A Chorizos expuestos en el punto de venta en una carnicería y B. en un mercado rural.

1.3. Embutidos crudo-curados

1.3.1. Proceso de elaboración

El proceso de elaboración de los embutidos crudo-curados incluye el corte y picado de la carne, mezclado y amasado de esta con ingredientes y aditivos (sal, especias y otros ingredientes), embutido, atado, maduración, opcionalmente ahumado, envasado y almacenamiento. Las etapas previas a la maduración son similares al procedimiento descrito anteriormente para la elaboración de embutidos frescos. La etapa de maduración consiste en mantener los embutidos en condiciones ambientales adecuadas (temperatura, humedad relativa y velocidad de aire) que permitan su secado gradual y la ocurrencia de una serie de fenómenos bioquímicos como son la fermentación, la lipólisis y la proteólisis, que contribuyen al sabor y textura característicos (Feiner, 2006; Leistner, 1995). Durante la maduración, la humedad del embutido debe descender lentamente, disminuyendo también los niveles de a_w . Paralelamente se produce un descenso del pH. Estos dos hechos, junto con el bajo potencial redox en el interior del embutido, hacen que se detenga el crecimiento de las bacterias aerobias proteolíticas a favor del predominio de las bacterias ácido lácticas (BAL), de forma que se obtenga un producto estable con características organolépticas adecuadas (Ordóñez et al., 1999).

El secado de los embutidos depende tanto de las condiciones de la cámara de maduración como de las características del embutido, grado de picado, calibre, cantidad de grasa y pH (Feiner, 2006). El grado de secado afecta al desarrollo microbiano e influye sobre las características de textura y apariencia del embutido. En caso de un secado excesivamente lento puede tener lugar en el embutido un crecimiento de microorganismos no deseados y en caso de un secado muy rápido se puede inhibir el crecimiento de la microbiota y la actividad enzimática endógena deseable antes de tiempo (Frey, 1985; Ordóñez et al., 1999; Tändler y Rödel, 1983). Durante la maduración de los embutidos se producen en estos una serie de cambios en su

composición química y microbiológica, que han sido objeto de numerosos estudios (Astiasarán et al., 1990; Beriain et al., 2000b; Cantoni et al., 1966; Chasco et al., 1993; DeKetelaere et al., 1974; DeMasi et al., 1990; Dierick et al., 1974; Domínguez y Zumalacárregui, 1991; García de Fernando y Fox., 1991; Gimeno et al., 2000; Hughes et al., 2002; Lizaso et al., 1999; Lücke, 1985; Molly et al., 1997; Ordóñez et al., 1999; Pérez-Álvarez, 1999; Zanardi et al., 2004). La composición aromática y sávida de los embutidos crudo-curados viene dada de forma importante por las reacciones químicas y bioquímicas que tienen lugar durante su maduración, que son el resultado de la actividad enzimática residual del músculo y la grasa, el metabolismo microbiano, la oxidación lipídica y las reacciones ocasionadas por la interacción entre las sustancias formadas. Fruto de todas esas reacciones se producen ácidos grasos libres, péptidos, aminoácidos libres, aldehídos, etc., implicados en las propiedades sensoriales y otros aspectos de calidad de los embutidos.

La fermentación láctica de los azúcares tiene lugar durante la etapa inicial de maduración (2-10 primeros días) y se debe a la acción metabólica de las BAL, que se desarrollan espontáneamente en el embutido o son adicionadas como cultivos iniciadores (Ordóñez et al., 1999). Los azúcares presentes en la masa, agregados como tal y/o los procedentes de la carne y las especias son utilizados por las BAL en crecimiento y transformados principalmente en ácido láctico (Deketelaere et al., 1974; Lücke, 1985), ocasionando un descenso en el pH. Antes de la fermentación, la masa inicial del embutido tiene una carga microbiana de 10^2 - 10^6 ufc g^{-1} , con una población muy variada, similar a la de la carne fresca, donde predominan las pseudomonas y enterobacterias (Lücke, 1985; Moretti et al., 2004; Ordóñez et al., 1999). Posteriormente, debido a que la masa inicial del embutido tiene una a_w de 0,96-0,97 y un bajo potencial redox, en condiciones normales, después de uno o varios días, los principales grupos microbianos son las BAL y las micrococáceas, siendo las BAL el grupo predominante (Frey, 1985). Las

características de la fermentación están influenciadas tanto por las materias primas empleadas, azúcares, especias, cultivos, etc., como por las condiciones del embutido y cámara de maduración (Liepe et al., 1990; Mateo y Zumalacárregui, 1996; Montel et al., 1998; Roncalés, 1995). También la fermentación está modulada por la evolución de la a_w del embutido durante la maduración. La mayoría de las BAL a valores de a_w inferiores a 0,95 ven inhibido su crecimiento significativamente (Feiner, 2006).

El descenso del pH ejerce varios efectos sobre las características de calidad de los embutidos (Bacus, 1984a y b): incrementa la firmeza en la textura por favorecer el secado y contribuir a la gelificación proteica, ejerce un control sobre las reacciones enzimáticas y el crecimiento microbiano y favorece la reacción de formación de óxido de nitrógeno a partir de los nitritos (Ordóñez et al., 1999; Stiebing y Rödel, 1990). Sin embargo, un pH excesivamente ácido (pH de 4,5-4,8) puede provocar defectos de sabor en el embutido como el “sabor picante” (por exceso de ácido láctico) y otros sabores anómalos debidos a la formación de compuestos volátiles formados por BAL heterofermentativas cuyo crecimiento se ve favorecido a ese bajo pH, producción anormal de gas, desarrollo de rancidez y pérdida de color, atribuible a la presencia de H_2O_2 producido por las propias BAL e inhibición de las proteasas, que no podrán realizar su función tecnológica (Feiner, 2006; Prändl et al., 1994; Varnam y Shuterland, 1995). No obstante, en ciertas partes del mundo se producen embutidos con pH de 4,6-4,8 como el “summer sausage” de Estados Unidos.

Durante la maduración la grasa se hidroliza paulatinamente por acción enzimática endógena o microbiana, liberándose de la misma ácidos grasos (Demeyer et al., 1974; di Cagno et al., 2008; García et al., 1992; Hierro et al., 1997; Montel et al., 1993; Palumbo y Smith, 1977). La lipólisis comienza durante la fermentación y continúa durante toda la maduración (Casaburi et al., 2007; Demeyer et al., 1974; Lois et al., 1987; Marco et al., 2006; Montel et al., 1993), encontrándose valores de ácidos grasos libres en el embutido

final entre 1 y 9 % de la grasa total (Fonseca, 2009). La actividad lipolítica microbiana parece ser muy moderada, en comparación con la actividad lipolítica endógena (Hierro et al., 1997; Molly et al., 1997; Montel et al., 1998).

Además de la lipólisis, en el embutido tiene lugar la oxidación de la grasa, principalmente a partir de los ácidos grasos libres poliinsaturados de la misma (Chizzolini et al., 1998), cuyo desarrollo está en función de las materias primas utilizadas y los procesos de elaboración. Los embutidos crudo-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 crudo-curados de baja humedad es limitado de forma que no se llega a generar un sabor a rancio (Comi et al., 2005; Domínguez y Zumalacárregui, 1991; Gokalp, 1986; Nagy et al., 1989; Zanardi et al., 2002). La causa de esa observación se puede achacar al efecto antioxidante de las especias y de los agentes del curado y eventualmente del humo, así como la baja concentración de oxígeno que hay en el interior de los embutidos. Los microorganismos del embutido afectan al proceso de oxidación de las grasas y este efecto debe tenerse en cuenta a la hora de seleccionar los cultivos iniciadores (Demeyer et al., 2000; Montel et al., 1998).

Otro de los procesos que tiene lugar durante la maduración es la proteólisis catalizada por enzimas endógenas, como las catepsinas, y microbianas, producidas principalmente por micrococáceas (Johansson et al., 1994; Selgas et al., 1993) u hongos (Toledo et al., 1997). El papel de las distintas enzimas no es del todo conocido, pero se muestra un predominio en la actividad de las enzimas endógenas. Estas parecen ser las principales responsables de la proteólisis durante las primeras fases de la maduración, degradando de forma significativa las proteínas miofibrilares y formando péptidos; mientras, las proteasas microbianas actúan al final de la maduración

contribuyendo de forma significativa a la formación de aminoácidos libres (Hughes et al., 2002; Kenneally et al., 1999; Molly et al., 1997). La proteólisis depende de numerosos factores como la actividad endógena proteolítica de la carne (Demeyer et al., 2000), de si la carne ha sido o no congelada, de las cepas microbianas implicadas, del pH, la a_w del embutido y de la temperatura y tiempo de maduración. Verplaetse et al. (1989) encontraron que dentro de los rangos normales para la maduración de embutidos, un pH entre 4,5 y 5,0 y una temperatura entre 15 y 20 °C son las más favorables para el desarrollo proteolítico. La relación entre el grado de proteólisis y la calidad de los embutidos se considera positiva (Demeyer et al., 2000). No obstante, los fundamentos de esa relación no están del todo esclarecidos. En teoría, péptidos y aminoácidos podrían influir en el gusto de los embutidos pues tienen gustos amargos o dulces y, en el caso del ácido glutámico potenciar el sabor (Henriksen y Stahnke, 1997; Kato et al., 1989). Igualmente, los compuestos volátiles que se generan a partir de esos compuestos (aldehídos, ácidos orgánicos, alcoholes, aminas) tienen efecto potencial sobre el sabor de los embutidos crudo-curados (Mateo y Zumalacárregui, 1996; Montel et al., 1998).

1.3.2. Envasado a vacío y con atmósferas modificadas de los embutidos crudo-curados

La vida útil de los embutidos crudo-curados es larga pero se ve limitada por el desarrollo de olores y sabores anómalos atribuidos a la oxidación de las grasas, la lipólisis y otras reacciones, por cambios en el color también de naturaleza oxidativa y por endurecimiento debido a la pérdida de humedad (Valencia et al., 2007). De entre todos esos fenómenos, la oxidación de las grasas probablemente sea el de mayor repercusión sobre la pérdida de calidad de los embutidos crudo-curados, afectando al olor, sabor, color y valor

nutritivo (Labuza, 1982; Melton, 1983; Pearson y Tauber, 1984; Rhee, 1989; Singh, 1996).

En la práctica, el envasado al vacío y en AM permite el incremento de la vida útil de los productos cárnicos. El envasado a vacío o en AM de N₂ sólo o combinado con CO₂, este último usualmente en cantidades entre el 20-30%, se utiliza comunmente para almacenar tanto embutidos enteros como loncheados (Feiner, 2006). De acuerdo con Shay y Egan (2004) las principales ventajas del envasado de los embutidos crudo-curados con film impermeable son la prevención de la contaminación durante la manipulación y la inhibición del crecimiento de mohos. Además, el envasado en AM retrasa los fenómenos de oxidación (Tändler y Rödel, 1983) y, lógicamente, evita las pérdidas de humedad (Feiner, 2006). No obstante, como posibles defectos tecnológicos asociados al envasado a vacío y/o en AM podemos citar la separación de grasa y consecuente presencia de grasa entre embutido y envase (Tändler y Rödel, 1983), la presencia de cristales (puntos blancos visibles) ocasionados por precipitación y cristalización de sustancias poco solubles (Feiner, 2006), que suelen aparecer en productos de larga maduración, conservados en frío y con fluctuaciones de temperatura, y la eventual adherencia que presentan las lonchas cuando se envasa a vacío embutido loncheado.

De acuerdo con Tändler y Rödel (1983), la vida útil de los embutidos crudo-curados envasados a vacío o en AM en las condiciones que ellos consideran óptimas (a_w inferior a 0,85, envase con muy baja permeabilidad al oxígeno y protección frente a la luz) puede llegar a año y medio, viniendo finalmente determinada por problemas de oxidación de los pigmentos y/o de la grasa. Este tiempo depende de las características iniciales de la materia prima, del diámetro del embutido (relación superficie/volumen), del uso de ácido ascórbico, como antioxidante, de la inclusión de especias con efecto antioxidante y de la eventual exposición a la luz (catalizador de la oxidación). Además, según esos autores, si la a_w es suficientemente baja (0,82) y el

envase altamente impermeable al O₂, la inclusión de CO₂ en la AM, con respecto al vacío o en envasado en N₂, o el almacenamiento a baja temperatura (10 °C frente a 20 °C) no muestra ventajas apreciables sobre la vida útil. Respecto a las características de la película de envasado, para tener un efecto de prevención de la oxidación, Feiner (2006) indica que la permeabilidad al oxígeno de la película destinada a envasar embutidos crudo-curados ha de ser menor de 10 cm³ por m² y día y el nivel máximo de oxígeno residual en el envasado en atmósferas modificadas no debe superar el 0,6%.

En la bibliografía se ha encontrado una serie de estudios sobre el efecto del tiempo de almacenamiento de diversos embutidos crudo-curados envasados a vacío y/o AM, con valores de a_w similares o superiores a los recomendados por Tändler y Rödel (1983) y con distintos valores de pH, sobre sus características químicas, fisico-químicas, microbiológicas y/o sensoriales (Fernández-Fernández et al., 1997, 2001, 2002, 2005; Marco et al., 2010; Summo et al., 2006, 2010a y b; Zanardi et al., 2002). De estos estudios se desprende que en función de las características de embutido y las condiciones de envasado y almacenamiento, en el transcurso de un tiempo se desarrollan cambios químicos significativos en los embutidos, siendo la actividad lipolítica y la oxidación los más notorios. También cambian las características sensoriales, disminuyendo en general la valoración del producto. Igualmente, la composición microbiológica también puede verse afectada. Adicionalmente, el momento en el que se produce la pérdida de calidad de los embutidos crudo-curados envasados varió entre estudios (de varias semanas a varios meses), pues también variaron las características de los embutidos y condiciones del envasado, no estando claro qué tipo de envasado (vacío, atmósfera de N₂ o atmósfera de N₂ y CO₂) afecta menos la pérdida de calidad. De acuerdo a Fernández-Fernández et al. (2001), comparando distintos métodos de almacenamiento, las prestaciones del envasado ya sea a vacío, en aceite o en atmósferas modificadas, parecen ser superiores en cuanto a la preservación de la calidad de los embutidos, al

almacenamiento de los chorizos sin envasar; sin embargo, la congelación permite conservar mejor y durante más tiempo la calidad de los embutidos crudo-curados.

1.3.3. El chorizo crudo-curado en España

La gama de embutidos crudo-curados producidos en España es bastante amplia, con tipos y características muy diferentes entre las distintas regiones. En general, los embutidos crudo-curados cuentan con una larga tradición (Luzón-Merino y Martín-Bejarano, 2001). En el año 2011 se consumieron aproximadamente un total de 50 millones de kg de chorizo, 25 de fuet y longanizas, 23 de salchichón y salami, de acuerdo a los datos del Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente. Se entiende por embutido crudo-curado a la mezcla de carne de cerdo o cerdo y/o vacuno, y tocino y/o grasa de cerdo adicionada de sal y otras especias, condimentos y aditivos autorizados, amasada y embutida en tripas naturales o artificiales en su caso, que ha sufrido un proceso de maduración y desecación que asegura su buena estabilidad y un olor y sabor característicos, que en caso del chorizo se debe a la adición de pimentón, que además le confiere la coloración roja característica (Norma de Calidad del R.D. 1043/1973, B.O.E. 4 de junio, que regula las características de los productos cárnicos embutidos crudo-curados en el mercado nacional).

Varios tipos de chorizo crudo-curado nacionales han sido reconocidos con marcas de calidad. Por ejemplo, en Castilla y León se cuenta con la Indicación Geográfica Protegida (IGP) de “Chorizo de Cantimpalos” y en La Rioja la IGP “Chorizo riojano”. También existen otras marcas de calidad diferenciada de ámbito regional aprobadas por distintas comunidades autónomas. En el caso de Castilla y León, este es el caso del Chorizo Zamorano o los Chorizos Ibéricos de Salamanca que cuentan con sendas marcas de garantía. Además, existen otros chorizos típicos de la región

aunque sin distintivo de calidad como son los siguientes: Chorizo (cular) de Salamanca, Chorizo de Soria, Chorizo de Villarcayo, todos recogidos en el Catálogo de embutidos y jamones curados de España (Anónimo, 1983).

El chorizo elaborado en León tiene sus peculiaridades que lo hacen un producto particular. Se caracteriza principalmente por su alto contenido en pimentón, que puede superar los 35 g por kg, su también alto contenido en ajo, que incluso llega a los 3 g por kg, estar embutido en una tripa de diámetro ligeramente mayor (40-46 mm) que la de otros chorizos de provincias limítrofes y finalmente el ahumado al que en muchos casos se somete al chorizo. Sensorialmente, es distintivo su color rojo oscuro y una sensación bucal de calor, acompañada de un sabor intenso. Además, su grasa le confiere una notable jugosidad. De acuerdo al estudio de Domínguez (1988), la composición media de este producto elaborado en industrias locales muestra una humedad en torno al 30%, contenido en grasa del 35%, proteína del 25%, cenizas de 2,5%, un valor de pH de 4,9 y de a_w de 0,85. Desde el Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de León se ha concedido importancia al estudio de las peculiaridades del chorizo de León, y en relación el mismo, se han elaborado 4 tesis y 1 tesina: Seco (1987), Domínguez (1988), Aguirrezábal (1993), Mateo (1995), Fonseca (2009). En ellas se han estudiado diferentes parámetros, químico-físicos, microbiológicos y madurativos, de este chorizo, con el fin de remarcar las particularidades que hacen diferente a este producto.

1.4. Compuestos volátiles de los embutidos crudos

1.4.1. Generalidades

Los embutidos crudos, frescos o curados, poseen un aroma y sabor que los caracteriza y que los hace productos muy apreciados por los consumidores. La naturaleza y la cantidad de los compuestos volátiles

presentes en esos embutidos dependerá del tipo de carne, grasa y sales utilizadas para su elaboración, de los ingredientes añadidos y del proceso de elaboración: técnicas empleadas para el picado, mezclado, embutido, fermentación, maduración y almacenamiento (Martínez et al., 2006; Sunesen et al., 2001).

Los estudios encontrados en la bibliografía en los que se describe el contenido en compuestos volátiles de diversos embutidos frescos crudos (antes a su cocinado) se centran principalmente en buscar la utilidad de dichos compuestos en la evaluación de la vida útil de estos embutidos. Kandem et al. (2007) estudiaron el contenido en volátiles de la ‘Salcissia’, un embutido fresco tradicionalmente elaborado en la Toscana italiana. Estos autores evaluaron la vida útil de la ‘Salcissia’ elaborada con diversas combinaciones de dos mezclas comerciales de aditivos. Además, en este estudio se trataron de caracterizar los componentes aromáticos y los metabolitos microbianos (productos de fermentación o alteración microbiana) en la ‘Salcissia’ y se evaluó la importancia de la utilización de especias sobre la prevención de la oxidación lipídica y del crecimiento de *Listeria monocytogenes* inoculada deliberadamente. Por otra parte, Panseri et al. (2007) analizaron el contenido de determinados compuestos volátiles en embutidos frescos italianos elaborados con carne de cerdo con el fin de utilizar estos compuestos como marcadores de oxidación y actividad microbiana en los embutidos. Por otra parte, Liu et al. (2009) estudiaron los efectos de la adición de romero y hojas de caoba china sobre la calidad de embutidos de pollo frescos durante su almacenamiento en refrigeración y realizaron la caracterización de los compuestos volátiles de dichos embutidos. Finalmente, Martínez et al. (2006) evaluaron el efecto sobre la calidad de embutidos frescos de cerdo de la variación de la concentración de oxígeno en las atmósferas modificadas empleadas para el envasado con el fin de seleccionar las mejores condiciones de envasado para extender la vida útil de los embutidos sin la adición de sulfitos.

En relación a los embutidos crudo-curados, a lo largo de los años se han llevado a cabo numerosos estudios relativos a la identificación y cuantificación de sus componentes volátiles. Para ello se han empleado diversas técnicas de extracción, lo que en cierta medida condiciona el resultado obtenido (Flores, 2010). Mediante técnicas de espacio de cabeza se han detectado numerosos compuestos volátiles en los embutidos crudo-curados (Berdagué et al., 1993; Stahnke, 1994, 1995a; Viallon et al., 1996; Edwards et al., 1999; Meynier et al., 1999; Stahnke, 1999; Bruna et al., 2000; Bruna et al., 2001; Sunesen et al., 2001;). En los últimos años se han venido utilizando técnicas de microextracción en fase sólida (SPME), siendo la naturaleza de los compuestos volátiles identificados dependiente del tipo de fibra de extracción empleada (Durá et al., 2004; Marco et al., 2004, 2006 y 2008). También se han utilizado técnicas de destilación (Berger et al., 1990; Schmidt y Berger, 1998a y 1998b; Blank et al., 2001), obteniendo resultados similares, aunque parece que esta técnica permite la extracción de un mayor número de compuestos con alto punto de ebullición y de compuestos azufrados que las técnicas de espacio de cabeza (Flores, 2010).

Además de la descripción de los componentes aromáticos de los embutidos crudo-curados, diversos autores han analizado la evolución de los mismos durante la maduración (Edwards et al., 1991; Croizet et al., 1992; Mateo y Zumalacárregui, 1996; Sunesen et al., 2001; Olivares et al., 2009) y durante el almacenamiento de los embutidos crudo-curados a temperaturas y atmósferas diversas (Viallon et al., 1996; Olesen et al., 2004).

Por último, la influencia de determinados ingredientes (nitrito, nitrato, nitrito/ascorbato, cloruro de sodio, ajo) presentes en la formulación de los embutidos sobre los compuestos volátiles también ha sido objeto de estudio (Mateo y Zumalacárregui, 1996; Olesen et al., 2004; Marco et al., 2006), al igual que la utilización de diferentes cepas microbianas como cultivos iniciadores (Stahnke, 1994; Bruna et al., 2001; Flores et al., 2004; Olesen et al., 2004).

1.4.2. Compuestos volátiles de los embutidos crudos en función de su origen

1.4.2.1. Derivados de hidratos de carbono/fermentación

Los compuestos volátiles derivados de la fermentación microbiana en los embutidos crudos incluyen ácidos orgánicos como el ácido acético y el ácido butanoico, cetonas como la 2,3-butanodiona (diacetilo), 3-hidroxi-2-butanona (acetoína) y alcoholes como el etanol, el 2,3-butanodiol y el 1,3-propanodiol (Kandler, 1983; Stanhke, 1994; Olesen et al., 2004; Spaziani et al., 2009). El ácido acético, uno de los principales compuestos formados a partir de la fermentación (DeKetelaere et al., 1974; Montel et al., 1993; Mateo et al., 1996; Baldini et al., 2000; Demeyer et al., 2000), además de contribuir al gusto ácido contribuye al aroma y sabor por ser volátil. Su umbral de percepción olfativa está entre 20 y 50 ppm (Forss, 1972). En cantidades elevadas podría aportar una sensación aromática pungente y astringente desagradable al sabor de los embutidos (Weber, 1994). Por otra parte, el diacetilo, con un bajo umbral de percepción olfativa, aporta un aroma dulce, a mantequilla (Summo et al., 2010a) y el ácido butanoico notas agrias y a queso (Stanhke, 1995a y b).

1.4.2.2. Lipólisis y oxidación de los ácidos grasos

El posible efecto de los ácidos grasos libres sobre el sabor de los embutidos se sustenta en que su grupo carboxílico contribuye al sabor ácido (Dainty y Blom, 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). En relación a estos últimos, Talon y Montel (1997) han observado tanto su formación como su hidrólisis durante la maduración. Según indican los autores mencionados, estos compuestos

pueden contribuir al sabor del embutido con notas afrutadas. A pesar de achacar 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 este sentido, en trabajos como el de Beriain et al. (2000a) no se ha encontrado relación entre la cantidad de ácidos grasos libres de los embutidos y su sabor.

Por su parte, la oxidación de las grasas genera un elenco de sustancias volátiles, que incluyen aldehídos, cetonas y ácidos carboxílicos. Entre ellos cabe destacar los aldehídos de cadena lineal, las 2-cetonas, o diversos alcoholes como el 1-octen-3-ol (Berdagué et al., 1993; Croizet et al., 1992; Stahnke y Zeuthen, 1992). Los volátiles originados por la oxidación de las grasas han sido con frecuencia los más abundantes en el perfil aromático de los embutidos crudo-curados, junto con los volátiles aportados por las especias. Los compuestos de oxidación contribuyen al sabor del embutido, pudiendo tener un efecto positivo (Demeyer et al., 2000), aunque en cantidades elevadas podrían afectarlo negativamente (Montel et al., 1998; Stahnke, 1995a).

1.4.2.3. Derivados de proteínas y aminoácidos

Los fenómenos proteolíticos que se producen en el embutido durante la maduración contribuyen de forma importante a la calidad sensorial de los embutidos (Casaburi et al., 2008; Roseiro et al., 2008). A partir de los mismos se producen compuestos como péptidos de pequeño tamaño, aminoácidos y aminas, considerados generalmente como promotores del aroma y sabor y precursores de otras sustancias aromáticas (Demeyer et al., 1995; Ordóñez et al., 1999; Stahnke, 2002 y 2003).

Los aldehídos ramificados, principalmente 2- y 3-metil-butanal, y sus correspondientes alcoholes, han sido habitualmente relacionados con el aroma típico de los embutidos madurados (Careri et al., 1993; Hinrichsen y

Pedersen, 1995; Montel et al., 1998). Este tipo de compuestos derivan de aminoácidos como la valina, la leucina o la isoleucina y se forman en la maduración mediante procesos microbianos o reacciones no enzimáticas (Barbieri et al., 1992; Careri et al., 1993; Hinrichsen y Pedersen, 1995; Dirink et al., 1997; Montel et al., 1998; Edwards et al., 1999; Masson et al., 1999).

1.4.2.4. Especies y condimentos

Las especias y condimentos influyen de forma importante en el aroma de los embutidos aportando notas aromáticas características e, indirectamente, modulando las reacciones de autooxidación o el crecimiento microbiano (Barbut et al., 1985; Stahnke, 1995a; Ordóñez et al., 1999). Los volátiles aportados por las especias incluyen fundamentalmente terpenos, y en menor cantidad compuestos azufrados, ésteres y alcoholes (Mateo y Zumalacárregui, 1996; Viallón et al., 1996; Smichdt y Berger, 1998; Meynier et al., 1999; Sunesen et al., 2001; Spaziani et al., 2009). En el chorizo es relevante el aporte por el ajo de compuestos azufrados, como alquil-tioles, alquil-sulfuros y alquil-disulfuros, y por el pimentón de compuestos volátiles como el ácido acético, etil acetato, fenoles, aldehídos y ácidos metil ramificados y compuestos carbonílicos (Mateo y Zumalacárregui, 1996; Mateo et al., 1997). Los compuestos derivados de las especias y condimentos vegetales, tanto terpenos como compuestos azufrados, poseen umbrales de percepción olfativa bajos (Mottram, 1991), de forma que su presencia influye en gran medida en aroma y sabor de los embutidos. En general, el aroma de los compuestos terpénicos en embutidos crudo-curados ha sido descrito como floral, afrutado y fresco, mientras que el aroma de los compuestos azufrados ha sido descrito como a cebolla, a gas o a carne asada (Forrs, 1983; Meynier et al., 1999).

1.4.2.5. Cocinado

Durante el cocinado de la carne y productos cárnicos se originan compuestos volátiles responsables de su sabor mediante dos vías principales

de formación: la oxidación lipídica y la reacción de Maillard (Mottram, 1998; Warriss, 2000). Los compuestos derivados de la oxidación lipídica incluyen aldehídos, cetonas, alcoholes e hidrocarburos alifáticos y alquifuranos (Calkins y Hodgen, 2007; Mottram, 1998). En cuanto a la reacción de Maillard, a partir de la misma se originan compuestos heterocíclicos azufrados y compuestos nitrogenados (pirazinas, tiofenos, tiazoles), furanonas o furfurales, aldehídos ramificados como el 2-metil-butanal y 3-metil-butanal y compuestos azufrados como el metional, metanotiol, dimetil disulfuro y dimetil trisulfuro (Mottram, 1998; Elmore et al., 2000; Calkins y Hodgen, 2007).

Se considera que los compuestos carbonílicos y azufrados son los que más contribuyen al aroma y sabor de la carne cocinada (Shahidi, 1989; Mottram y Madruga, 1994). Los aldehídos saturados e insaturados entre 6 y 10 átomos de carbono son los volátiles mayoritarios en las carnes cocinadas (Mottram, 1998), apareciendo generalmente el hexanal como el volátil más abundante (Ullrich y Grosch, 1987; Shahidi y Pegg, 1994b). Los aromas de estos aldehídos han sido descritos como a hierba y a grasa (Mottram, 1998). Por otra parte, los compuestos azufrados, aunque son originados en bajas concentraciones, poseen un umbral de detección olfativa muy bajo, que los convierte en compuestos aromáticos muy potentes y parte importante del aroma característico de la carne cocinada (Forrs, 1972; Mottram, 1998; Meynier et al., 1999).

1.5. Objetivos del presente estudio

Este capítulo se estructura en dos partes claramente diferenciadas, la parte I orientada al estudio de los compuestos volátiles presentes en el espacio de cabeza de chorizos crudos frescos y la parte II dedicada al análisis de los compuestos volátiles del espacio de cabeza de embutidos crudo-curados.

1.5.1. Objetivos parte I

Determinar la evolución de los compuestos volátiles del espacio de cabeza del chorizo fresco elaborado en México durante su almacenamiento en refrigeración en función de distintas condiciones de envasado: a_w del chorizo en el momento del envasado (0,96, 0,94 y 0,92) y atmósfera de envasado (aire y AM).

En segundo lugar, establecer las modificaciones que ocasiona el proceso de cocinado en el perfil volátil de los chorizos. Para conseguir este objetivo, el estudio incluye tanto la determinación de los compuestos volátiles en fresco (chorizo crudo) como la determinación de volátiles en el espacio de cabeza del chorizo cocinado al horno, al ser esta la forma de consumo más habitual en México.

1.5.2. Objetivos parte II

Conocer la evolución de los compuestos volátiles del espacio de cabeza del chorizo crudo-curado a lo largo de su almacenamiento en función de distintas condiciones de elaboración, envasado y almacenamiento. Para ello se plantearon dos objetivos.

El primero consistió en estudiar el efecto de la temperatura de almacenamiento (comparando entre 4 y 12 °C) sobre la evolución de los compuestos volátiles del chorizo envasado a vacío a lo largo del almacenamiento.

El segundo fue conocer el efecto de la a_w del chorizo en el momento del envasado (comparando 0,88 y 0,84) y de la atmósfera de envasado (AM de N₂ con o sin la inclusión de CO₂ al 20 %) sobre la evolución de los compuestos volátiles del espacio de cabeza del chorizo crudo-curado.

2. CAPÍTULO 2. PARTE I. Evolución de los compuestos volátiles del chorizo mexicano durante su almacenamiento a refrigeración en distintas condiciones (a_w y atmósfera)

2.1. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1.1. Muestras, condiciones de almacenamiento, muestreo y preparación de muestras para el análisis

Para la realización de este estudio se emplearon muestras de chorizo fresco de estilo Mexicano. Las muestras consistieron en un primer grupo de chorizos elaborados con técnicas artesanales, que asemejan la práctica habitual de pequeños carniceros locales, y un segundo grupo de muestras procesadas de modo típicamente industrial. Las muestras procedieron de dos lotes (24 kg cada uno) de cada tipo de chorizo, artesanal e industrial, preparados en días diferentes en el taller de cárnicos del Instituto de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.

Ambos tipos de chorizos se elaboraron a partir de carne magra de espaldilla y grasa dorsal de cerdo adquiridas en un matadero particular (Forrajes y Carnes de Santiago Tulantepec, Tulancingo, Hidalgo), previamente refrigeradas y con un tiempo post mortem inferior a 48 h. El proceso de elaboración de los chorizos comenzó con el troceado de la carne y la grasa, partiendo de 24 kg de carne magra y grasa de cerdo en proporción de 70:30 (peso/peso). Los trozos de carne y grasa se picaron conjuntamente con una picadora Torrey modelo M22-RW (Monterrey, NL, México; potencia 0.736 kW) usando una placa de acero inoxidable de 6 mm de diámetro, con la carne a 0-2 °C en el momento del picado. A continuación, la carne picada se homogeneizó manualmente y se dividió en dos partes de 12 kg: una para la elaboración de chorizo artesanal y la otra para el industrial. A la carne de los chorizos artesanales, se adicionó sal, ajo, comino, pimienta negra, clavo,

orégano, chile guajillo y vinagre, y a la de los industriales, una mezcla comercial de la empresa Fabpsa S.A. de C.V. (DF, México), sal de curación y agua. En la tabla 2.3 se recogen los ingredientes y aditivos utilizados en cada formulación y la proporción empleada. Una vez añadidos los ingredientes y aditivos, el proceso de elaboración fue similar para ambos tipos de chorizos. La masa obtenida se mezcló manualmente durante aproximadamente 5 min, no sobrepasando la temperatura final los 10 °C y se mantuvo en refrigeración (4 °C) durante 20 h.

Tabla 2.3. Contenido de ingredientes y aditivos expresados en g/kg de masa inicial para cada uno de los embutidos

Tipo de chorizo			
Artesanal		Industrial	
Sal	20	Condimento unidad MC-50 ^b	62
Ajo en polvo	3	NaCl con nitritos al 6 %	5
Comino en polvo	2	Agua	100 ml
Pimienta negra en polvo	2		
Clavo en polvo	1		
Orégano en polvo	1		
Chile guajillo seco (hidratado) ^a	30		
Vinagre comercial (ácido acético al 5 %)	5		

^aLa 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.

^bComposición 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 embutido de la mezcla se llevó a cabo en embutidora vertical (15 l) de acero inoxidable, utilizando tripa natural de cerdo de calibre 35-38 mm (intestino delgado). La eventual presencia de aire en el embutido (bolsas de aire visibles bajo la tripa) se eliminó pinchando la tripa. No se realizó ningún tipo de atado. Las condiciones de secado y almacenamiento se recogen en la tabla 2.4. En primer lugar, los chorizos se mantuvieron 18 h en oreo a temperatura ambiente (20 ± 2 °C) en lugar seco y ventilado. A continuación, los embutidos se colgaron en una cámara frigorífica con una HR media de 75

%, con un rango entre 60 y 85 %, y una temperatura de 8 ± 2 °C durante el tiempo necesario para conseguir los valores de a_w de 0,96, 0,94 y 0,92. De este modo, los 12 kg de chorizo de cada tipo (artesanal e industrial) se dividieron en 3 grupos de aproximadamente 4 kg, de acuerdo a los tres valores de a_w programados. La a_w de los embutidos fue controlada cada 24 h, salvo en fines de semana (48 horas). La a_w se determinó por duplicado mediante el método de punto de rocío con un equipo Aqualab 3TE (Decagon Devices, Inc., Pullman, WA, EEUU), utilizando rodajas obtenidas de los extremos de los chorizos, descartando previamente de cada extremo una primera rodaja de 3 cm.

Cuando se alcanzaron los niveles programados de a_w los chorizos se envasaron en bandeja de poliestireno, cubiertos con film plástico de polietileno de alta permeabilidad al oxígeno (control) o envasados en AM. Para ello, cada grupo de 4 kg de chorizo (de acuerdo a las a_w de 0,96, 0,94 y 0,92) se dividió en dos partes de aproximadamente 2 kg cada una, destinadas, una a envasado en AM, y otra al envasado control. A su vez, los 2 kg de chorizos se envasaron en 4 bandejas diferentes, aproximadamente 500 g en cada una, de acuerdo a los 4 tiempos muestreados durante el almacenamiento posterior.

Para el envasado en AM de las muestras de chorizo se utilizó una envasadora Multivac A 300/42 (Sepp Haggenmüller, Wolfertschwenden, Alemania), y bolsas de dimensiones 20 x 30 cm, con una permeabilidad al oxígeno $30 \text{ cm}^3 \text{ m}^{-2} \text{ bar}^{-1} \text{ 24 h}^{-1}$ (a 23 °C y 0 % de HR; Flair, Flexible Packaging Corporation, Calgary, Canadá). Se utilizó una mezcla de CO₂ (20 %) y N₂ (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 se mantuvieron a 5 ± 1 °C durante 1, 14, 28 y 42 días en un refrigerador (Torrey; R-14, Monterrey, NL, México).

Tabla 2.4. Condiciones de oreo, secado y almacenamiento.

Tipo de chorizo	Artesanal (2 lotes)			Industrial (2 lotes)		
Condiciones de oreo y secado	20 ± 2 °C durante 18 h y posteriormente 8 ± 2 °C, 75 % HR					
a _w programadas	0,96	0,94	0,92	0,96	0,94	0,92
Condiciones de almacenamiento	5±1 °C Control y atmósfera: CO ₂ /N ₂ (20 %/80 %)					
Tiempos de muestreo durante el almacenamiento	1, 14, 28 y 42 días					

Una vez alcanzados los diferentes tiempos de muestreo, los chorizos se conservaron congelados a -35 °C hasta su posterior análisis del contenido en volátiles. Todas las muestras fueron analizadas en crudo y cocinadas en horno, tal y como se consumen estos chorizos habitualmente. El cocinado de las muestras se realizó en estufa (Selecta P, Barcelona, España) durante 10 min a 160 °C, alcanzándose en el chorizo una temperatura de 68 °C. Para ello se depositaron 6 g de muestra en cápsulas metálicas formando una capa fina distribuida uniformemente cubriendo el fondo de la cápsula, de manera que la superficie de la muestra quedase lo más lisa posible, sin compactarse, permitiendo así una cierta porosidad y un calentamiento lo más homogéneo posible. A continuación, el chorizo cocinado se mantuvo congelado a -35 °C durante 24 h.

2.1.2. Análisis del contenido en volátiles de los chorizos

El análisis de los compuestos volátiles del chorizo se llevó a cabo por extracción mediante la técnica de espacio de cabeza estático y análisis por cromatografía de gases acoplada a un detector de espectrometría de masas.

Las muestras de chorizo, crudas y cocinadas, fueron descongeladas a temperatura ambiente durante 40 min y homogeneizadas con una picadora doméstica. A continuación, se introdujeron 4 g en viales de espacio de cabeza de 20 ml (Agilent Technologies), se añadieron 0,058 g de NaCl y 3,74 ml de agua y se cerraron herméticamente los viales con tapón metálico y con septo de silicona/teflón (Agilent Technologies). Las condiciones de la cromatografía y adquisición de espectros fueron las mismas que las descritas previamente para las muestras de charqui (capítulo 1). Del mismo modo, para la identificación y cuantificación de compuestos volátiles se procedió igual que en el experimento del capítulo anterior.

2.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

2.2.1. Chorizo crudo

2.2.1.1. Compuestos volátiles detectados

En la tabla 2.5 se muestra el perfil de compuestos volátiles detectado en los chorizos sin cocinar. Las cantidades mostradas para cada compuesto son valores promedio, calculados a partir de las cantidades detectadas a cada uno de los cuatro tiempos de muestreo y para cada una de las dos condiciones de almacenamiento. En total se identificaron 52 compuestos, clasificados según su estructura molecular en 9 familias químicas (entre paréntesis figura el número de compuestos de cada familia): hidrocarburos alifáticos de cadena lineal (2), aldehídos alifáticos de cadena lineal (12), ácidos y ésteres (7), alcoholes (3), alquil-furanos (1), aldehídos alifáticos ramificados (1), compuestos terpénicos (16), compuestos azufrados (5) y compuestos bencénicos (5). Se incluye también un grupo de 3 compuestos que no pudieron ser identificados. Algunos volátiles identificados como terpenos o terpenoides por su espectro de masas, no pudieron ser asignados a un

compuesto determinado (no se identificaron de forma completa), denominándose en la tabla como “terpeno desconocido”.

El origen de los compuestos volátiles detectados en el chorizo parece ser diverso. La oxidación de los lípidos puede explicar la presencia de la mayoría de los compuestos detectados: dos hidrocarburos alifáticos de cadena lineal, los numerosos aldehídos alifáticos de cadena lineal, dos de los alcoholes alifáticos (pentanol y 1-octen-3-ol) y el pentil-furano (Mottram, 1998). Los hidrocarburos alifáticos poseen umbrales de percepción aromática relativamente altos (desde 100 a 2000 ppm; Drumm y Spanier, 1991) de modo que su influencia sobre el aroma del chorizo podría considerarse escasa. Sin embargo, los aldehídos de cadena lineal de entre 6 y 10 átomos de carbono y el 2-pentilfurano tienen umbrales de detección muy bajos (Drum y Spanier, 1991; Forss, 1972), de modo que su implicación en el aroma del chorizo sería importante.

A partir de la reacción de Maillard podrían haberse formado compuestos como los aldehídos de cadena ramificada (3-metil-butanal) y algunos compuestos azufrados como el metanotiol (Elmore et al., 2000). Esos mismos volátiles podrían haberse originado por acción metabólica de microorganismos responsables de la alteración de la carne (Nychas et al., 2008). Los aldehídos de cadena ramificada, aunque aparecen en pequeñas cantidades, poseen umbrales de percepción muy bajos (Drumm y Spanier, 1991; Xie et al., 2008), por lo que podrían tener relevancia en el sabor del chorizo.

Un tercer grupo de compuestos proviene de las especias y condimentos, siendo este el caso de los compuestos terpénicos, presentes en las especias (chorizo artesanal: comino, pimienta negra, clavo y orégano; chorizo industrial: comino, clavo, orégano, laurel y cilantro). El comino es rico en cuminal, felandreno y limoneno, la pimienta negra en cariofileno, alfa-pineno y felandreno, el clavo en eugenol y cariofileno, el orégano en timol, carvacrol y alfa-pineno, el laurel en cineol, alfa-pineno y felandreno y el

cilantro en linalol, alfa- y beta-pineno y para-cimeno (Díaz-Maroto y Pérez-Coello, 2006; Hirasa y Takemasa, 2002). Por otra parte, los compuestos azufrados alil-mercaptano, sulfuro de alilo y metilo, disulfuro de metilo y alilo y disulfuro de dialilo proceden del aporte del ajo y/o la cebolla, que son ricos en estos compuestos (Järvenpää et al., 1998; Hanum et al., 1995; Mateo y Zumalacárregui, 1996; Sunesen et al., 2001). Tanto los compuestos terpénicos (Cometto-Muñiz et al., 1998) como los azufrados (Boelens y van Gemert, 1993) tienen bajos umbrales de percepción olfativa, por lo que presumiblemente afectan al aroma del chorizo.

Con respecto a los compuestos bencénicos, la presencia de benzoato de metilo, ácido benzoico y propil-parabeno podría atribuirse a su uso como aditivos conservantes en la formulación de los chorizos industriales. Por otra parte, el terc-butyl-fenil-éter se podría considerar como contaminante en el proceso analítico. Finalmente, el grupo formado por los ácidos grasos libres tendría origen en reacciones lipolíticas. A pesar de su importante presencia, al tratarse de ácidos de gran peso molecular (baja volatilidad), su impacto aromático no sería muy notorio (Dirink et al., 1997).

El perfil de volátiles presentó diferencias en función del tipo de chorizo. En los chorizos artesanales los ácidos y ésteres constituyeron el grupo más abundante, siendo el compuesto más abundante el ácido oleico. Los compuestos azufrados y los aldehídos de cadena lineal fueron las siguientes familias químicas en orden de importancia, destacando el alil-mercaptano y el hexanal como compuestos mayoritarios. En los chorizos industriales los compuestos azufrados constituyeron el grupo más abundante, debido al alil-mercaptano, que aporta casi la tercera parte del valor total de los volátiles de estos chorizos. Se detectaron además altos niveles de hidrocarburos alifáticos, constituidos por pentano fundamentalmente, y de ácidos y ésteres, siendo de nuevo el ácido oleico el compuesto mayoritario de este grupo. Los aldehídos de cadena lineal, con hexanal como compuesto más

abundante, aparecieron en el chorizo industrial también en concentraciones relativamente elevadas.

Se observaron diferencias significativas en el contenido en compuestos volátiles entre tipos de chorizo (tabla 2.5). En conjunto, los chorizos industriales mostraron un contenido total de volátiles aproximadamente dos veces mayor que el de los chorizos artesanales. A manera individual, las diferencias más notables se corresponden con los niveles de alil-mercaptano, sulfuro de alilo y metilo, beta-pineno, pentano y hexanal. La mayor presencia de compuestos azufrados en el chorizo industrial probablemente sea debida a una mayor adición de ajo en su formulación (Mateo y Zumalacárregui, 1996). De modo similar, la mayor presencia de beta-pineno en el chorizo industrial podría estar relacionada con el uso de una mayor cantidad de comino ya que esta especia es una fuente significativa de beta-pineno (Warmer et al., 2010). Por último, la mayor abundancia de pentano y el hexanal, compuestos propuestos como marcadores de degradación de grasas durante el almacenamiento de alimentos (Calkins y Hodgen, 2001; Löliger, 1990), podría estar relacionada con una mayor oxidación de las grasas en esos chorizos.

El hexanal y el pentano se han detectado en otros estudios sobre volátiles de embutidos fermentados (de Campos et al., 2007; di Cagno et al., 2008; Summo et al., 2010a). Los niveles de hexanal en dichos trabajos fueron en general elevados, coincidiendo con lo observado en el presente estudio. Sin embargo, la cantidad de pentano fue menor que la detectada en los chorizos mexicanos analizados y más moderada que la de hexanal. Por esto sorprende la elevada cantidad de pentano detectada en los chorizos industriales. Se ha estudiado detenidamente el espectro de masas del pico asignado al pentano y este coincide enormemente con el espectro del pentano recogido en las bases de datos. No ha sido posible establecer una justificación clara a la que atribuir los elevados niveles de pentano cuantificados, especialmente en los chorizos industriales.

Tabla 2.5. Concentración (ng de undecano por g) de los compuestos volátiles detectados en los chorizos artesanales e industriales antes de su cocinado (n=48)[#]

	Artesanal		Industrial		P	TRR	MI [§]
	Media	EEM	Media	EEM			
<i>Hidrocarburos de cadena lineal</i>	17,4	4,4	97,5	17,8	***		
Pentano	17,3	4,4	97,3	17,8	***	500	EM+TRR
Heptadecano	0,1	0,1	0,2	0,1	NS	1700	EM+TRR
<i>Aldehídos de cadena lineal</i>	31,2	4,1	47,6	8,7	***		
Hexanal	15,0	0,1	32,3	3,9	***	802	EM+TRR
Heptanal	2,5	0,2	2,6	0,3	NS	895	EM+TRR
2-Heptenal	0,8	0,2	1,4	0,2	*	951	EM+TRR
Octanal	2,1	0,2	2,2	0,3	NS	999	EM+TRR
2-Octenal	0,2	0,1	0,4	0,1	NS	1062	EM+TRR
Nonanal	7,4	0,6	5,9	0,5	NS	1115	EM+TRR
2,4-Nonadienal	0,3	0,1	0,6	0,2	NS	1237	EM+TRR
2-Decenal	1,0	0,3	0,6	0,2	NS	1271	EM+TRR
trans-cis-2,4-Decadienal	0,2	0,1	0,3	0,1	NS	1298	EM+TRR
trans-trans-2,4-Decadienal	2,6	0,5	3,3	0,5	NS	1326	EM+TRR
2-Undecenal	1,4	0,3	1,0	0,2	NS	1373	EM+TRR
Heptadecanal	0,3	0,1	0,3	0,1	NS	1907	EM
<i>Alcoholes</i>	0,9	0,6	5,0	1,5	*		
Propanol	0,9	0,6	4,5	1,5	*	567	EM+TRR
Pentanol	ND	-	0,2	0,1	-	767	EM+TRR
1-Octen-3-ol	ND	-	0,3	0,1	-	973	EM+TRR
<i>Ácidos grasos y ésteres</i>	79,2	17,5	91,2	21,7	NS		
Ácido mirístico	0,6	0,2	0,6	0,2	NS	1783	EM+TRR
Ácido palmitoleico	1,6	0,4	1,5	0,5	NS	2036	EM
Ácido palmítico	13,1	2,9	13,2	2,9	NS	2054	EM+TRR
Ácido linoleico	15,5	3,0	19,7	3,4	NS	>2100	EM
Ácido oleico	42,5	10,0	47,5	13,3	NS	>2100	EM
Ácido esteárico	4,3	1,1	5,8	1,7	NS	>2100	EM
Bis (2-etil-hexil) éster del ácido hexanodioico	1,6	0,4	2,9	0,7	NS	>2100	EM
<i>Alquil-furanos</i>							
2-Pentil-furano	0,7	0,2	0,9	0,2	NS	985	EM+TRR
<i>Aldehídos ramificados</i>	1,3	0,3	1,8	0,5	NS		
3-Metil-butanal	1,3	0,3	1,8	0,5	NS	655	EM+TRR
<i>Compuestos terpénicos</i>	15,4	2,0	18,3	2,5	NS		
alfa-Pineno	0,2	0,1	0,1	0,0	NS	930	EM+TRR
alfa-Fencheno	0,5	0,1	0,7	0,1	NS	937	EM+TRR
Canfeno	5,8	0,8	6,9	0,9	NS	948	EM+TRR
beta-Pineno	0,1	0,1	2,2	0,5	***	977	EM+TRR
para-Cimeno	4,3	0,3	2,9	0,6	*	1026	EM+TRR
Eucaliptol	1,3	0,2	1,3	0,2	*	1037	EM+TRR
gamma-Terpineno	0,5	0,1	1,3	0,5	*	1065	EM+TRR
Linalool	ND	-	0,5	0,1	-	1109	EM+TRR
Terpeno	0,3	0,1	0,3	0,1	NS	1256	EM+TRR
Cuminal	ND	-	0,5	0,2	-	1258	EM+TRR

Timol	ND	-	1,0	0,4	-	1292	EM+TRR
Carvacrol	0,5	0,2	0,3	0,2	NS	1299	EM+TRR
Eugenol	0,9	0,4	0,2	0,1	NS	1363	EM+TRR
Terpeno desconocido I 93, 121(63), 79(36), 41(31), 67(28), 107(27), 91(22), 39(21), 77(20), 95(19)	0,1	0,1	ND	-	-	1389	EM
Terpeno desconocido II 93, 133(92), 91(85), 41(77), 79(76), 69(75), 105(62)107(48), 120(45), 77(46)	0,8	0,3	0,1	0,1	*	1441	EM
alfa-Cariofileno	0,1	0,0	ND	-	-	1477	EM+TRR
<i>Compuestos azufrados</i>	40,1	3,1	152,7	16,7	***		
Metanotiol	ND	-	14,2	6,0	-		
Alil-mercaptano	33,3	3,9	126,9	14,0	***	600	EM+TRR
Sulfuro de alilo y metilo	6,8	0,4	10,8	0,8	***	702	EM+TRR
Disulfuro de metilo y alilo	ND	-	0,4	0,1	-	912	EM+TRR
Disulfuro de dialilo	ND	-	0,4	0,1	-	1091	EM+TRR
<i>Compuestos bencénicos</i>	1,2	0,3	2,9	0,7	*		
Benceno acetaldehído	0,1	0,0	0,1	0,0	NS	1048	EM+TRR
terc. Butil-fenil-éter	0,2	0,1	0,4	0,1	NS	1077	EM
Metil éster del ácido benzoico	0,9	0,2		1,1	0,2	1107	EM
Ácido benzoico	ND	-	0,7	0,3	-	1166	EM
Propil-parabeno	ND	-	0,6	0,2	-	1639	EM+TRR
<i>Compuestos no identificados</i>	7,4	3,7	2,9	1,7	NS		
No identificado I 59, 31(27), 41(21), 43(9), 57(8), 29(6), 39(6), 27(4), 60(3), 15(3)	7,1	3,7	3,0	1,7	NS	523	
No identificado II 29, 27(75), 41(71), 39(43), 43(41), 55(34), 42(23), 31(22), 57(21), 28(19)	0,2	0,9	0,2	0,1	NS	890	
No identificado III 68, 97(87), 41(83), 55(76), 81(60), 95(51), 54(36), 79(35), 39(33), 53(32)	0,1	0,1	0,2	0,1	NS	1386	
<i>Total volátiles</i>	194,8	24,1	421,3	40,4	***		

Los valores medios incluyen las medidas de los chorizos envasados en atmósferas normal y modificada, de las distintas a_w de envasado y de los diferentes tiempos de almacenamiento

^S MI: Método de identificación. EM, espectro de masas coincidente con el espectro de masas de la base de datos NIST/EPA/NIH98 y validado por interpretación personal del mismo. TRR: El TRR experimental coincidente con el TRR encontrado en la bibliografía (Kondojan y Berdagué, 1996, Adams, 2007).

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

TRR: Tiempo de retención relativo experimental.

EEM: Error estándar de la media

ND: Compuesto no detectado ($< 0,03$ ng/g).

2.2.1.2. Cambios en los volátiles durante el almacenamiento

En la tabla 2.6 se muestran los niveles de significación del tiempo de almacenamiento, así como de los otros factores estudiados: tipo de chorizo, a_w de envasado (0,96, 0,94 y 0,92), tipo de atmósfera (control/aire y AM), para cada una de las familias químicas de volátiles del chorizo. A lo largo del almacenamiento no hubo cambios significativos en el contenido en volátiles del chorizo, únicamente el conjunto formado por los ácidos y ésteres mostró una tendencia estadística ($P<0,1$). El factor a_w de envasado ocasionó diferencias estadísticamente significativas en el contenido de hidrocarburos alifáticos, aldehídos alifáticos lineales y ramificados y alquil-furanos. El tipo de atmósfera afectó significativamente al contenido total de volátiles del chorizo, aunque divididos por familias químicas, solamente a los hidrocarburos alifáticos.

Tabla 2.6. Niveles de significación en la comparación de medias de los compuestos volátiles de los chorizos (antes de su cocinado) agrupados según las distintas familias químicas, los no identificados y la suma total de compuestos volátiles en función de los distintos factores estudiados[&]

	t	atm	a_w	ch	t x atm	t x a_w	t x ch	atm x a_w	atm x ch	a_w x ch
Hidrocarburos alifáticos no terpénicos	NS	**	**	***	NS	NS	NS	NS	NS	*
Aldehídos alifáticos de cadena lineal	NS	NS	*	**	NS	NS	NS	NS	NS	*
Alcoholes alifáticos	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Ácidos y ésteres	#	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS
Furanos	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Aldehidos alifáticos de cadena ramificada	NS	NS	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Compuestos terpénicos	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Compuestos azufrados	NS	NS	NS	***	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Compuestos bencénicos	NS	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS
No identificados	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Total	NS	*	NS	***	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Nivel de significación: #: $P<0,1$ (tendencia estadística), *: $P<0,05$; **: $P<0,01$; ***: $P<0,001$; NS: no existen diferencias significativas.

[&]atm: tipo de atmósfera (control: aire; AM: 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 a_w , atm x ch: interacción entre atmósfera y tipo de chorizo, t x a_w : interacción entre tiempo de almacenamiento y a_w , t x ch: interacción entre tiempo de almacenamiento y tipo de chorizo, a_w x ch: interacción entre a_w y tipo de chorizo.

Seguidamente se analiza el comportamiento a lo largo del almacenamiento de cada una de las familias químicas de volátiles. Se van a mostrar tablas que recogen la evolución de las cantidades de estas familias en los chorizos artesanales e industriales a lo largo del almacenamiento, mostrando los resultados por separando para los factores a_w y tipo de atmósfera cuando se haya detectado un efecto estadísticamente significativo; en caso contrario los resultados se agruparán dando un valor promedio.

La evolución en el tiempo de los hidrocarburos alifáticos se recoge en la tabla 2.7. Al haberse detectado diferencias significativas para los factores a_w de envasado y tipo de atmósfera, se muestra la evolución de los hidrocarburos alifáticos en función de los valores de estos factores. La evolución de los hidrocarburos refleja prácticamente el comportamiento del pentano, ya que éste fue con mucho el hidrocarburo mayoritario (tabla 2.5). La cantidad de hidrocarburos alifáticos (pentano) fue mayor a menor a_w y en el envasado control. Respecto al tiempo, aunque la tendencia general en los chorizos control es de incremento, solamente el grupo de chorizos industriales con a_w 0,94 y envasados con atmósfera normal presentó un aumento estadísticamente significativo.

Tabla 2.7. Evolución de la cantidad de hidrocarburos alifáticos no terpénicos (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado) envasados a distintos valores de a_w (0,96, 0,94 y 0,92) con atmósfera normal (Control) o modificada (AM) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=2)

Días	0,96		0,94		0,92		EEM
	Control	AM	Control	AM	Control	AM	
Artesanales							
1	ND	ND	ND	ND	31,4	31,4	7,0
14	6,1	0,4	36,1	ND	53,0	18,8	9,2
28	61,7	ND	ND	ND	51,5	29,1	9,0
42	20,0	1.6	ND	ND	78,0	ND	10,4
Industriales							
1	19,1	19,1	23,7 ²	23,7	103,5	103,5	18,7
14	31,7	ND	70,9 ²	50,7	233,5	89,1	33,4
28	40,8	ND	324,3 ¹	81,4	144,7	123,2	40,1
42	60,8	ND	315,6 ¹	76,1	264,7	141,3	43,0

EEM: Error estándar de la media.

ND: No detectado.

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

En la tabla 2.8 se muestra la evolución de los aldehídos de cadena lineal detectados en el espacio de cabeza de los chorizos, agrupados en función del tipo de chorizo y la a_w de envasado, ya que la atmósfera de envasado no mostró efecto estadísticamente significativo (tabla 2.6). En los chorizos artesanales no se detectaron variaciones estadísticamente significativas entre los valores de a_w , ni los días de almacenamiento. En los chorizos industriales se observó un aumento significativo de los aldehídos lineales durante el almacenamiento de los chorizos de a_w de 0,94. Además, a a_w 0,94 y al final del almacenamiento se observaron cantidades significativamente mayores de aldehídos de cadena lineal con respecto a los chorizos de a_w de 0,96. El comportamiento de estos compuestos se asemeja al descrito para los hidrocarburos en que para ambas familias químicas se observó un claro incremento durante el tiempo de almacenamiento en los chorizos industriales envasados a a_w 0,94.

Tabla 2.8. Evolución de la cantidad de aldehídos alifáticos de cadena lineal (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado) envasados a distintos valores de a_w (0,96, 0,94 y 0,92) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=4)[#]

Días	Artesanal			EEM	Industrial			EEM
	0,96	0,94	0,92		0,96	0,94	0,92	
1	31,6	28,5	36,3	2,7	44,0	22,0 ²	55,0	6,3
14	42,8	25,6	40,9	4,7	22,0	39,2 ¹²	80,3	9,4
28	40,3	22,4	47,8	8,8	30,4	58,0 ¹²	73,6	11,8
42	30,8	24,5	33,6	6,3	28,1 ^b	91,3 ^{a1}	68,6 ^{ab}	15,5

[#]Los valores medios incluyen las medidas de los chorizos envasados en atmósfera normal y modificada al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera.

EEM: Error estándar de la media.

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

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

En la tabla 2.9 se observa la correlación (R) positiva significativa existente entre las cantidades de los aldehídos alifáticos de cadena lineal entre sí y entre las de cada uno y la del total del grupo. Destaca la elevada correlación entre el hexanal y el total de aldehídos de cadena lineal y del heptanal con el octanal (en ambas $R \geq 0,90$).

Tabla 2.9. Coeficientes de correlación[&] de los principales aldehídos alifáticos de cadena lineal en los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado)

	Heptanal	Octanal	Nonanal	t-,t-,2,4-Decadienal	2-Undecenal	Total
Hexanal	0,55	0,47	0,23	0,47	0,28	0,90
Heptanal		0,95	0,72	0,61	0,62	0,79
Octanal			0,67	0,54	0,62	0,70
Nonanal				0,60	0,82	0,59
t-,t-,2,4-Decadienal					0,69	0,73
2-Undecenal						0,61

[&] Todos los coeficientes presentaron niveles de significación estadística ($P < 0,05$)

En la tabla 2.10 se incluyen las cantidades de los alcoholes detectados en chorizos artesanales e industriales a lo largo de su almacenamiento. En los chorizos industriales se observa un incremento significativo ocasionado por el incremento de propanol (alcohol mayoritario). El origen de este compuesto es presumiblemente el metabolismo de carbohidratos (Halvarson, 1973) y por lo tanto, las diferencias en el fenómeno fermentativo entre ambos tipos de chorizo (debidas a la variación en su formulación) podrían ser la causa del distinto comportamiento observado.

Tabla 2.10. Evolución de la cantidad de alcoholes alifáticos (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=12)[#]

Días	Artisanal	EEM	Industrial	EEM
1	ND	-	0,3 ²	0,2
14	2,2	2,2	4,4 ^{1,2}	2,9
28	0,1	0,1	5,0 ^{1,2}	3,0
42	1,3	1,3	10,3 ¹	4,5

[#] Los valores medios incluyen las medidas de los chorizos envasados en atmósferas normal y modificada y de las distintas a_w de envasado al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera y a_w .

EEM: Error estándar de la media

ND: No detectado.

-: No se puede calcular.

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

En la tabla 2.11 se recogen las cantidades de ácidos y ésteres a lo largo del almacenamiento, considerando por separado los chorizos artesanales e industriales (tabla 2.6). Los datos muestran un incremento de los ácidos y ésteres con el tiempo, que fue significativo en los chorizos de elaboración artesanal. Los compuestos claramente mayoritarios de este grupo fueron los ácidos palmítico, linoleico y oleico, que muestran una fuerte correlación entre sí (tabla 2.12).

Tabla 2.11. Evolución de la cantidad de ácidos y ésteres (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=12)[#]

Días	Artisanal	EEM	Industrial	EEM
1	39,7 ²	17,1	77,3	17,0
14	50,6 ¹²	19,5	47,8	19,5
28	82,4 ¹²	31,6	105,1	31,6
42	144,4 ¹	77,7	133,9	77,6

[#]Los valores medios incluyen las medidas de los chorizos envasados en atmósferas normal y modificada y de las distintas a_w de envasado al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera y a_w .

EEM: Error estándar de la media.

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

Tabla 2.12. Coeficientes de correlación mostrados por los ácidos grasos mayoritarios en los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado)

	Ác. Oleico	Ác. palmítico	Total
Ácido linoleico (C18:2 n-6)	0,88	0,94	0,93
Ácido oleico (C18:1 n-9)		0,93	0,99
Ácido palmítico (C16:0)			0,97

El contenido de alquil-furanos (únicamente 2-pentil-furano) a lo largo del almacenamiento del chorizo se recoge en la tabla 2.13. Los resultados mostraron una influencia de la a_w del chorizo, apareciendo mayor contenido de este compuesto en los chorizos envasados con a_w de 0,92.

Tabla 2.13. Evolución de la cantidad de furanos (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado) envasados a distintos valores de a_w (0,96, 0,94 y 0,92) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=4)[#]

Días	Artisanal			EEM	Industrial			EEM
	0,96	0,94	0,92		0,96	0,94	0,92	
1	ND	ND	2,0	0,3	0,9	ND	1,0	0,3
14	1,2	ND	1,1	0,3	ND	0,5	2,3	0,5
28	1,1	0,6	1,3	0,4	1,0	0,4	1,4	0,4
42	0,3	0,9	0,6	0,3	0,8	1,3	0,7	0,4

[#]Los valores medios incluyen las medidas de los chorizos envasados en atmósfera normal y modificada al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera.

EEM: Error estándar de la media.

ND: No detectado.

La evolución de los aldehídos de cadena ramificada (únicamente el 3-metil-butanal) durante el almacenamiento de los chorizos se recoge en la tabla 2.14. Este compuesto fue detectado en cantidades significativamente mayores, cuanto menor fue el valor de a_w . En los chorizos artesanales el 3-metil-butanal alcanzó niveles detectables a partir del día 28 en las muestras envasadas con a_w de 0,96 y 0,94 y a partir del día 14 en el grupo de a_w 0,92; mientras, en los chorizos industriales no alcanzó niveles detectables en las muestras de a_w

0,96, fue detectado a partir del día 28 en los chorizos de a_w 0,94 y estuvo presente desde el principio en las muestras de a_w de 0,92.

Tabla 2.14. Evolución de la cantidad de aldehídos alifáticos de cadena ramificada (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado) envasados a distintos valores de a_w (0,96, 0,94 y 0,92) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=4)[#]

Días	Artesanal			EEM	Industrial			EEM
	0,96	0,94	0,92		0,96	0,94	0,92	
1	ND	ND	ND	-	ND	ND	3,0	0,7
14	ND	ND	2,8	0,7	ND	ND	4,3	1,0
28	2,6	2,4	2,5	0,8	ND	1,4	4,9	1,0
42	1,3	1,4	2,5	1,0	ND	4,2	3,6	1,1

[#]Los valores medios incluyen las medidas de los chorizos envasados en atmósfera normal y modificada al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera.

EEM: Error estándar de la media.

ND: No detectado.

-: No se pudo calcular.

En la tabla 2.15 se recogen las cantidades de compuestos terpénicos a lo largo del almacenamiento de los chorizos. Este grupo no se vio afectado por las condiciones de envasado, ni el tiempo de almacenamiento (tabla 2.6). Por su abundancia dentro de este grupo destacan el canfeno y el p-cimeno. Las concentraciones de ambos no presentan una correlación fuerte, aunque sea significativa ($P < 0,05$; tabla 2.16).

Tabla 2.15. Evolución de la cantidad de compuestos terpénicos (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=12)[#]

Días	Artesanal	EEM	Industrial	EEM
1	11,1	2,9	14,7	2,1
14	14,9	3,6	17,3	5,1
28	21,2	5,5	20,6	6,8
42	13,1	3,9	20,7	5,1

[#]Los valores medios incluyen las medidas de los chorizos envasados en atmósferas normal y modificada y de las distintas a_w de envasado al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera y a_w .

EEM: Error estándar de la media.

Tabla 2.16. Coeficientes de correlación mostrados por los dos terpenos mayoritarios detectados en los chorizos artesanales e industriales (antes del cocinado)

	para-Cimeno	Compuestos terpénicos
Canfeno	0,32	0,69
p-Cimeno		0,78

En la tabla 2.17 se incluye la evolución de los compuestos azufrados en los chorizos artesanales e industriales. No se observaron cambios significativos en relación a ninguno de los factores estudiados.

Tabla 2.17. Evolución de la cantidad de compuestos azufrados (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=12)[#]

Días	Artisanal	EEM	Industrial	EEM
1	47,1	5,2	143,1	32,0
14	37,1	5,4	181,7	36,5
28	42,6	7,4	120,2	23,2
42	33,5	6,8	166,4	41,0

[#]Los valores medios incluyen las medidas de los chorizos envasados en atmósferas normal y modificada y de las distintas a_w de envasado al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera y a_w .

EEM: Error estándar de la media.

En la tabla 2.18 se muestra la evolución de los compuestos bencénicos a lo largo del almacenamiento de los chorizos industriales y artesanales. Este grupo de compuestos no se vio afectado por las condiciones de envasado o el tiempo de almacenamiento.

Tabla 2.18. Evolución de la cantidad de compuestos bencénicos (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=12)[#]

Días	Artisanal	EEM	Industrial	EEM
1	0,9	0,5	1,7	0,7
14	1,5	0,7	2,7	1,2
28	1,6	0,6	3,8	1,7
42	1,0	0,6	4,5	2,0

[#]Los valores medios incluyen las medidas de los chorizos envasados en atmósferas normal y modificada y de las distintas a_w de envasado al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera y a_w .

EEM: Error estándar de la media.

Por último, en la tabla 2.19 se muestra el comportamiento del total de volátiles de los dos tipos de chorizo a lo largo de su almacenamiento. Se incluyen por separado los datos relativos a la atmósfera de envasado por haberse detectado una influencia significativa de la atmósfera. En las muestras envasadas en aire (control) los volátiles aumentaron durante el almacenamiento, lo que no ocurrió en las muestras de AM. De esta forma, al final del almacenamiento el contenido en volátiles fue mayor en las muestras control. El aumento de compuestos volátiles observado en los chorizos industriales envasados en aire (control) está relacionado fundamentalmente con el aumento que experimentaron por una parte los hidrocarburos y aldehídos alifáticos y por otra los ácidos y ésteres, que aumentaron

especialmente en los chorizos controles entre los 28 y 42 días de almacenamiento (datos no mostrados en tablas).

Tabla 2.19. Evolución de la cantidad compuestos volátiles totales (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (antes de su cocinado) envasados con atmósfera normal (Control) o modificada (AM) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=6)[#]

Días	Artesanal		EEM	Industrial		EEM
	Control	AM		Control	AM	
1	150,1 ²	150,1	25,4	327,8 ²	327,8	38,4
14	224,9 ¹²	122,2	32,1	470,6 ¹²	308,0	66,2
28	171,6 ²	251,3	39,6	510,5 ¹²	360,1	69,6
42	372,9 ^{a1}	128,5 ^b	78,3	711,4 ¹	378,2	122,3

[#]Los valores medios incluyen las medidas de los chorizos envasados a los diferentes valores de a_w al no haberse detectado diferencias significativas respecto a este parámetro.

EEM: Error estándar de la media

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

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

A modo de resumen, los principales cambios en los volátiles de los chorizos crudos durante su almacenamiento fueron: i) aumento de los niveles de hidrocarburos y aldehídos alifáticos lineales en chorizos industriales control, especialmente en aquellos de a_w 0,94, ii) aumento generalizado de la cantidad de ácidos grasos, iii) aparición con tendencia al alza de un aldehído alifático ramificado.

El incremento de las cantidades de hidrocarburos y aldehídos alifáticos lineales (tablas 3.7 y 3.9) se puede atribuir a la oxidación lipídica que, como se sabe, se presenta de forma inevitable y progresiva en la carne y productos cárnicos (Gray y Monahan, 1992; Ladikos y Lugovois, 1990; Shahidi y Pegg, 1994a). Estos compuestos pueden considerarse como marcadores de la oxidación lipídica, especialmente aldehídos como el malonaldehído o el hexanal (Gray y Monahan, 1992; Mottram, 1998). No obstante, la relación entre los aldehídos y la oxidación en embutidos debe de tomarse con precaución, ya que al ser compuestos bastante reactivos, una parte de la cantidad formada podría transformarse en otros compuestos, desapareciendo, (Shahidi y Pegg, 1994b). Asumiendo que existe relación entre hidrocarburos y aldehídos alifáticos de cadena lineal y oxidación

lipídica, se puede decir que los chorizos artesanales estuvieron más protegidos frente a la oxidación que los industriales. Este comportamiento no es el esperable, ya que, precisamente estos chorizos (artesanales), no incluyeron nitritos en su formulación y los industriales sí lo incluyeron – los nitritos ejercen un claro efecto antioxidante en los productos cárnicos (Honikel, 2008; Shahidi y Pegg, 1992). Por lo tanto, la justificación de la mayor estabilidad oxidativa de los chorizos artesanales, habría que buscarla en otros aspectos diferenciales como las especias utilizadas o la microbiota desarrollada en los chorizos. En relación a esto último se ha descrito que la influencia de la BAL sobre la oxidación en función de si poseen o no la capacidad de producción de H_2O_2 (metabolito oxidante; Feiner, 2006). Además, respecto al tipo de atmósfera, los resultados muestran mayor oxidación en chorizos envasados en aire que en los envasados en AM. La ausencia de oxígeno es un factor de protección frente a la oxidación (Smith et al., 1990).

El aumento en la cantidad de ácidos grasos en el espacio de cabeza de los chorizos se puede atribuir a procesos lipolíticos. Aunque este incremento solo fue significativo en los chorizos artesanales, cuantitativamente el incremento fue similar en ambos tipos de chorizo (tabla 2.12). La lipólisis que tiene lugar durante el procesado y almacenamiento de la carne y productos cárnicos, es debida a la acción de enzimas musculares y, también, en su caso, microbianas (Cava et al., 2004; Gandemer, 2002). En los embutidos crudos curados se llegan a alcanzar cantidades de ácidos grasos libres de 8-20% respecto al total de lípidos en la carne (Gandemer, 2002). En los chorizos estudiados, los ácidos grasos libres al inicio del almacenamiento representaban el 1-2% y al final el 3-8% del total de ácidos grasos.

La aparición de 3-metil-butanal (único aldehído de cadena ramificada detectado) durante el secado y almacenamiento de los chorizos estudiados se puede atribuir al catabolismo de la leucina, debido a dos posibles causas, la reacción de Strecker (Barbieri et al., 1992), proceso no enzimático que pudo ocurrir lentamente a bajas temperaturas, o a la acción de enzimas aportadas

por los microorganismos que se desarrollan durante el almacenamiento (Bailey et al., 1992; Masson et al., 1999).

2.2.2. Chorizo cocinado

2.2.2.1. Compuestos volátiles del chorizo cocinado

Debido a que el chorizo en México es cocinado antes de su consumo, se ha ampliado el experimento anterior estudiando el contenido de los compuestos volátiles de los chorizos después de ser sometidos a un tratamiento térmico en horno hasta alcanzarse una temperatura de 68 °C. El contenido medio de compuestos volátiles obtenido a partir las muestras de chorizo cocinado se muestra en la tabla 2.20. Se detectó un total de 55 compuestos, agrupados en 9 familias químicas: hidrocarburos alifáticos (2 compuestos), aldehídos alifáticos ramificados (3), aldehídos alifáticos lineales (12), ácidos y ésteres (7), alcoholes (3), alquil-furanos (1), terpenos y terpenoides (16), compuestos azufrados (5) y compuestos bencénicos (6). No pudo identificarse totalmente la estructura química de 3 terpenos, denominándose en la tabla como “terpeno desconocido”. También se incluye un último grupo de compuestos no identificados (3).

Al igual que ocurrió en el chorizo crudo el perfil volátil presentó diferencias según el tipo de chorizo considerado. El contenido total de volátiles fue significativamente superior en los chorizos industriales ($P < 0,05$), fundamentalmente debido a la mayor cantidad de hidrocarburos de cadena lineal y compuestos azufrados. El pentano presentó niveles muy superiores en el chorizo industrial, al igual que todos los compuestos azufrados y un terpeno, el timol (diferencias estadísticamente significativas; $P < 0,05$). Por el contrario, dos aldehídos, octanal y nonanal, y un terpeno no identificado presentaron niveles significativamente más elevados en los chorizos de elaboración artesanal.

Tabla 2.20. Concentración (ng de undecano por g) de los compuestos volátiles detectados en los chorizos artesanales e industriales después de su cocinado[#] (n=48)[§]

	Artesanal		Industrial		P	TRR	MI [®]
	Media	EEM	Media	EEM			
<i>Hidrocarburos</i>	26,0	4,9	181,1	24,9	***		
Pentano	25,7	4,9	180,8	24,9	***	500	EM+TRR
Heptadecano	0,3	0,1	0,2	0,1	NS	1700	EM+TRR
<i>Aldehídos lineales</i>	54,5	13,5	35,0	3,9	NS		
Hexanal	19,3	4,0	27,0	2,2	NS	802	EM+TRR
Heptanal	3,5	0,4	2,8	0,3	NS	895	EM+TRR
2-Heptenal	2,1	0,5	1,6	0,2	NS	951	EM+TRR
Octanal	3,4	0,5	2,2	0,3	*	999	EM+TRR
2-Octenal	0,9	0,4	0,4	0,1	NS	1062	EM+TRR
Nonanal	8,8	1,4	4,9	0,4	**	1115	EM+TRR
2,4-Nonadienal	0,5	0,3	0,2	0,1	NS	1237	EM+TRR
2-Decenal	2,3	1,0	0,8	0,2	NS	1271	EM+TRR
cis-trans-2,4-Decadienal	1,9	1,2	0,4	0,2	NS	1298	EM+TRR
trans-trans-2,4-Decadienal	8,3	3,4	4,4	0,9	NS	1326	EM+TRR
2-Undecenal	3,0	1,0	1,0	0,2	NS	1373	EM+TRR
Heptadecanal	0,4	0,1	0,4	0,2	NS	1907	EM
<i>Alcoholes</i>	0,4	0,3	1,9	0,9	NS		
Propanol	ND	-	1,5	0,9	-	567	EM+TRR
Pentanol	0,3	0,2	0,2	0,1	NS	767	EM+TRR
1-Octen-3-ol	0,1	0,1	0,2	0,1	NS	973	EM+TRR
<i>Ácidos grasos y ésteres</i>	102,8	27,7	116,5	39,2	NS		
Ácido mirístico	0,7	0,3	1,0	0,4	NS	1783	EM+TRR
Ácido palmítico	2,5	0,8	2,2	1,0	NS	2036	EM
Ácido palmítico	18,0	5,4	18,5	6,4	NS	2054	EM+TRR
Ácido linoleico	17,8	4,0	23,9	5,6	NS	>2100	EM
Ácido oleico	55,7	15,3	61,6	23,6	NS	>2100	EM
Ácido esteárico	6,3	1,8	6,7	2,6	NS	>2100	EM
Bis (2-etil-hexil) éster del ácido hexanodioico	1,9	0,5	2,6	0,7	NS	>2100	EM
<i>Alquil-furanos</i>							
2-Pentil-furano	1,4	0,3	1,0	0,2	NS	985	EM+TRR
<i>Aldehídos ramificados</i>	14,1	1,6	20,8	2,4	NS		
2-Metil-propanal	2,0	1,0	4,9	1,3	NS	557	EM+TRR
3-Metil-butanal	10,1	1,0	12,2	1,5	NS	655	EM+TRR
2-Metil-butanal	2,0	0,6	3,7	0,9	NS	663	EM+TRR
<i>Compuestos terpénicos</i>	28,0	4,6	20,3	6,6	NS		
alfa-Pineno	0,1	0,0	ND	-	-	930	EM+TRR
alfa-Fencheno	0,9	0,2	0,8	0,2	NS	937	EM+TRR
Canfeno	10,3	1,6	7,9	1,4	NS	948	EM+TRR
beta-Pineno	ND	-	0,9	0,5	-	977	EM+TRR
para-Cimeno	3,8	0,5	1,9	1,1	NS	1026	EM+TRR
Eucaliptol	0,9	0,2	0,7	0,2	NS	1037	EM+TRR
gamma-Terpineno	0,1	0,0	1,4	1,0	NS	1065	EM+TRR
Linalool	ND	-	0,3	0,2	NS	1109	EM+TRR
Terpeno desconocido I	1,7	1,0	0,2	0,1	0,1	1256	EM
81, 55(42), 41(32), 98(30), 83(29), 82(27), 125(26), 43(23)							
Cuminal	0,4	0,2	0,5	0,3	NS	1258	EM+TRR
Timol	0,1	0,1	1,2	0,5	*	1292	EM+TRR
Carvacrol	2,4	1,0	2,7	2,3	NS	1299	EM+TRR
Eugenol	3,4	1,4	0,9	0,5	NS	1363	EM+TRR

Terpeno desconocido II 93, 133(92), 91(85), 41(77), 79(76), 69(75), 105(62)107(48)	1,4	0,5	0,1	0,1	*	1389	EM
Terpeno desconocido III 93, 91(89), 133(88), 77(74), 69(68), 41(64), 105(62), 107(48), 77(45), 120(41)	2,3	0,9	0,6	0,3	NS	1441	EM
alfa-Cariofileno	0,3	0,1	0,2	0,1	NS	1477	EM+TRR
<i>Compuestos azufrados</i>	38,3	3,6	122,1	17,6	***		
Metanotiol	5,5	2,8	33,1	8,6	**		
Alil-mercaptano	27,6	2,2	76,9	11,1	***	600	EM+TRR
Sulfuro de alilo y metilo	5,2	0,7	11,7	1,1	***	702	EM+TRR
Metil 2-propenil-disulfuro	ND	-	0,1	0,1	-	912	EM+TRR
Dialil-disulfuro	ND	-	0,3	0,3	-	1091	EM+TRR
<i>Compuestos bencénicos</i>	2,7	1,4	4,1	1,0	NS		
Benceno acetaldehído	0,4	0,1	0,3	0,1	NS	1048	EM+TRR
terc-Butil fenil éter	1,3	0,6	0,5	0,2	NS	1077	EM
Metil éster ácido benzoico	0,5	0,6	1,5	0,5	NS	1107	EM
Ácido benzoico	0,3	0,3	0,9	0,4	NS	1166	EM
Propil-parabeno	0,1	0,2	0,7	0,3	NS	1639	EM+TRR
<i>No identificados</i>	4,7	0,3	2,9	1,6	NS		
No identificado I 59, 31(27), 41(21), 43(9), 57(8), 29(6), 39(6), 27(4)	3,5	1,8	2,3	1,6	NS	523	
No identificado II 29, 27(75), 41(71), 39(43), 43(41), 55(34), 42(23), 31(22)	0,8	0,4	0,4	0,2	NS	890	
No identificado III 68, 97(87), 41(83), 55(76), 81(60), 95(51), 54(36), 79(35)	0,4	0,3	0,2	0,1	NS	1386	
<i>Total volátiles</i>	283,7	38,8	516,1	52,7	***		

Cocinado en horno de convección a 160 °C durante 10 min (temperatura interna, 68 °C).

^s Los valores medios incluyen las medidas de los chorizos envasados en atmósferas normal y modificada, de las distintas a_w de envasado y de los diferentes tiempos de almacenamiento

[&] MI: Método de identificación. EM, espectro de masas coincidente con el espectro de masas de la base de datos NIST/EPA/NIH98 y validado por interpretación personal del mismo. TRR: El TRR experimental coincidente con el TRR encontrado en la bibliografía (Kondojan y Berdagué, 1996; Adams, 2007).

P: Nivel de significación, NS: No significativo; *: P<0,05; **: P<0,01; ***: P<0,001.

TRR: Tiempo de retención Relativo experimental.

EEM: Error estándar de la media.

ND: Compuesto no detectado (<0,03 ng/g).

-: No se puede calcular.

Las diferencias en el perfil de volátiles de los chorizos cocinados entre los tipos de chorizo concuerdan con lo observado en los chorizos crudos en todo excepto en lo que se refiere a los aldehídos alifáticos de cadena lineal. En el chorizo cocinado la cantidad de estos aldehídos fue mayor en los chorizos artesanales que en los industriales, al contrario de lo observado en el chorizo crudo. La explicación a este hallazgo se puede atribuir al efecto del tratamiento térmico sobre la degradación/oxidación de los lípidos, que fue más intenso en los chorizos artesanales que en los industriales. De esta forma,

los aldehídos alifáticos de cadena lineal, aunque antes del cocinado estaban en mayor cantidad en los chorizos industriales, después del cocinado estuvieron en mayor cantidad en los artesanales.

2.2.2.2. Cambios en los volátiles durante el almacenamiento

En la tabla 2.21 se muestran los niveles de significancia del efecto de los distintos factores estudiados (tipo de chorizo, a_w previa al envasado, atmósfera de envasado y tiempo de almacenamiento en refrigeración) sobre el contenido en volátiles del espacio de cabeza del chorizo cocinado, agrupados por las familias químicas anteriormente mencionadas. El tiempo de almacenamiento prácticamente no influyó de forma significativa ($P>0,05$) sobre el contenido en volátiles del chorizo, sólo se observó una tendencia estadística en el grupo formado por ácidos y ésteres alifáticos. El tipo de atmósfera de envasado afectó significativamente a las cantidades de los ácidos y ésteres, compuestos terpénicos y al total de compuestos volátiles. La a_w de los chorizos al contenido en furanos y compuestos azufrados.

Tabla 2.21. Niveles de significación en la comparación de medias de los compuestos volátiles de los chorizos (después de su cocinado)[§] agrupados según las distintas familias químicas, los no identificados y la suma total de compuestos volátiles en función de los distintos factores estudiados[&]

	t	atm	a_w	ch	t x atm	t x a_w	t x ch	atm x a_w	atm x ch	a_w x ch
Hidrocarburos alifáticos de cadena lineal	NS	NS	NS	***	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Aldehídos alifáticos de cadena lineal	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Alcoholes alifáticos	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Ácidos y ésteres	#	*	NS	NS	#	NS	NS	NS	NS	NS
Furanos	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Aldehídos alifáticos de cadena ramificada	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Compuestos terpénicos	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Compuestos bencénicos	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Compuestos azufrados	NS	NS	***	***	NS	NS	NS	NS	NS	***
No identificados	NS	NS	*	NS	NS	NS	NS	NS	NS	NS
Total	NS	*	NS	**	NS	NS	NS	NS	NS	NS

Nivel de significación: #: $P<0,1$ (tendencia estadística), *: $P<0,05$; **: $P<0,01$; ***: $P<0,001$; NS: no existen diferencias significativas.

[&]atm: tipo de atmósfera (control: aire y AM: 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 a_w , atm x ch: interacción entre atmósfera y tipo de chorizo, t x a_w : interacción entre tiempo de almacenamiento y a_w , t x ch: interacción entre tiempo de almacenamiento y tipo de chorizo, a_w x ch: interacción entre a_w y tipo de chorizo.

[§]Cocinado en horno de convección a 160 °C durante 10 min (temperatura interna, 68 °C).

En la tabla 2.22 se muestran los niveles de hidrocarburos alifáticos de cadena lineal en chorizos artesanales e industriales a lo largo de su almacenamiento. En el chorizo industrial se observó un aumento gradual, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas. El pentano constituyó prácticamente la totalidad de la cantidad de hidrocarburos, de manera que los resultados observados en la tabla reflejan los del pentano. Los niveles de aldehídos lineales en el chorizo cocinado no se vieron afectados por las condiciones ni el tiempo de almacenamiento (tabla 2.23). El análisis de correlación de los aldehídos mayoritarios (tabla 2.24) permite asemejar el comportamiento del conjunto al de cada uno de ellos individualmente. El contenido en alcoholes durante el almacenamiento del chorizo cocinado se recoge en la tabla 2.25. Ni las condiciones de envasado, ni el tiempo afectaron su cantidad. Los niveles detectados en el chorizo fueron bajos. La tabla 2.26 muestra la evolución de ácidos grasos y ésteres en el chorizo cocinado a lo largo del almacenamiento. Hubo una alta correlación existente entre los ácidos grasos libres y la cantidad total de este grupo (tabla 2.27). El contenido en ácidos y ésteres fue mayor en las muestras de envasado control que en las de envasado en AM, siendo las diferencias estadísticamente significativas en el chorizo artesanal tras 42 días de almacenamiento. La tabla 2.28 muestra el contenido en alquil-furanos en el chorizo cocinado artesanal e industrial envasado a distinta a_w durante el almacenamiento. El análisis estadístico evidenció una influencia de la a_w sobre el contenido en alquil-furanos (tabla 2.21), apreciándose una mayor cantidad a a_w de 0,92.

Tabla 2.22. Evolución de la cantidad de hidrocarburos alifáticos no terpénicos (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (después de su cocinado)[§] a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=12)[#]

Días	Artisanal	EEM	Industrial	EEM
1	25,2	10,9	126,2	19,7
14	20,1	8,2	132,9	22,1
28	27,3	8,9	200,1	48,0
42	31,6	12,1	265,1	79,2

[#]Los valores medios incluyen las medidas de los chorizos envasados en atmósferas normal y modificada y de las distintas a_w de envasado al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera y a_w .

EEM: Error estándar de la media.

[§]Cocinado en horno de convección a 160 °C durante 10 min (temperatura interna, 68 °C).

Tabla 2.23. Evolución de la cantidad de aldehídos alifáticos de cadena lineal (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (después de su cocinado)[§] a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=12)[#]

Días	Artisanal	EEM	Industrial	EEM
1	37,5	2,3	27,2	4,2
14	73,8	30,7	31,2	4,6
28	72,2	44,7	40,3	10,2
42	34,5	6,2	41,6	10,4

[#]Los valores medios incluyen las medidas de los chorizos envasados en atmósferas normal y modificada y de las distintas a_w de envasado al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera y a_w .

EEM: Error estándar de la media.

[§]Cocinado en horno de convección a 160 °C durante 10 min (temperatura interna, 68 °C).

Tabla 2.24. Correlación de aldehídos alifáticos de cadena lineal mayoritarios en los chorizos artesanales e industriales (después de su cocinado)[#]

	Heptanal	Octanal	Nonanal	t-,t-2,4-Decadienal	2-Undecen	Total
Hexanal	0,73	0,72	0,72	0,79	0,66	0,88
Heptanal		0,97	0,86	0,77	0,80	0,83
Octanal			0,90	0,80	0,85	0,86
Nonanal				0,88	0,93	0,93
t-,t-2,4-Decadienal					0,78	0,95
2-Undecenal						0,86

[#] Cocinado en horno de convección a 160 °C durante 10 min (temperatura interna, 68 °C)

Tabla 2.25. Evolución de la cantidad de alcoholes alifáticos (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (después de su cocinado)[§] a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=12)[#]

Días	Artisanal	EEM	Industrial	EEM
1	ND	-	0,8	0,3
14	0,7	0,6	2,9	2,8
28	0,8	0,8	2,8	1,8
42	ND	-	1,9	1,6

[#]Los valores medios incluyen las medidas de los chorizos envasados en atmósferas normal y modificada y de las distintas a_w de envasado al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera y a_w .

EEM: Error estándar de la media.

ND: No detectado.

-: No se puede calcular.

[§]Cocinado en horno de convección a 160 °C durante 10 min (temperatura interna, 68 °C).

Tabla 2.26. Evolución de la cantidad de ácidos y ésteres (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (después de su cocinado)[§] envasados con atmósfera normal (Control) o modificada (AM) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=6)[#]

Días	Artisanal		EEM	Industrial		EEM
	Control	AM		Control	AM	
1	60.6 ²	60.6	6.9	86.1	86.1	21.1
14	85.6 ²	53.9	25.1	58.1	37.1	22.1
28	67.6 ²	52.1	20.4	156.8	80.2	68.5
42	396.6 ^{a,1}	45.4 ^b	101.7	352.1	75.8	138.7

[#]Los valores medios incluyen las medidas de los chorizos envasados a los diferentes valores de a_w al no haberse detectado diferencias significativas respecto a este factor.

EEM: Error estándar de la media.

[§]Cocinado en horno de convección a 160 °C durante 10 min (temperatura interna, 68 °C).

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

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

Tabla 2.27. Coeficientes de correlación de los ácidos grasos mayoritarios en los chorizos artesanales e industriales (después de su cocinado)[#]

	Ácido linoleico	Ácido oleico	Total
Ácido palmítico	0,96	0,95	0,98
Ácido linoleico		0,91	0,95
Ácido oleico			0,99

[#] Cocinado en horno de convección a 160 °C durante 10 min (temperatura interna, 68 °C)

Tabla 2.28. Evolución de la cantidad de furanos (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (después de su cocinado)[§] envasados a distintos valores de a_w (0,96, 0,94 y 0,92) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=4)[#]

Días	Artesanal			EEM	Industrial			EEM
	0,96	0,94	0,92		0,96	0,94	0,92	
1	1,0	ND	3,1	0,5	1,3	ND	1,3	0,4
14	2,0	0,4	3,1	0,7	ND	1,2	1,6	0,4
28	1,7	0,5	2,7	0,8	0,5	0,6	1,5	0,4
42	0,4	1,6	0,8	0,4	1,9	2,3	1,1	0,6

[#] Los valores medios incluyen las medidas de los chorizos envasados en atmósfera normal y modificada al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera.

EEM: Error estándar de la media.

ND: No detectado.

[§] Cocinado en horno de convección a 160 °C durante 10 min (temperatura interna, 68 °C).

Durante el almacenamiento del chorizo se observó un incremento del contenido en la familia de aldehídos ramificados (3-metil-butanal, 2-metil-butanal y 2-metil-propanal) en el chorizo cocinado que fue estadísticamente significativo en el chorizo industrial (tabla 2.29).

Tabla 2.29. Evolución de la cantidad de aldehídos alifáticos de cadena ramificada (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (después de su cocinado)[§] a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=12)[#]

Días	Artesanal	EEM	Industrial	EEM
1	8,8	2,6	12,4 ²	5,1
14	14,1	4,6	12,8 ²	4,5
28	15,3	2,9	24,0 ^{1,2}	6,0
42	14,2	4,6	34,1 ¹	8,7

[#] Los valores medios incluyen las medidas de los chorizos envasados en atmósferas normal y modificada y de las distintas a_w de envasado al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera y a_w.

EEM: Error estándar de la media.

[§] Cocinado en horno de convección a 160 °C durante 10 min (temperatura interna, 68 °C).

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

En la tabla 2.30 se muestra la evolución de los compuestos terpénicos durante el almacenamiento del chorizo artesanal e industrial. El tipo de atmósfera afectó significativamente a estos compuestos (tabla 2.21), que estuvieron en mayor cantidad en los chorizos envasados en aire.

Tabla 2.30. Evolución de la cantidad de compuestos terpénicos (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (después de su cocinado)[§] envasados con atmósfera normal (Control) o modificada (AM) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=6)[#]

Días	Artesanal		EEM	Industrial		EEM
	Control	AM		Control	AM	
1	32,8	32,8	10,4	12,2	12,2	3,8
14	46,1	11,1	8,8	50,0	9,8	20,4
28	21,5	24,2	7,9	20,5	8,2	5,0
42	43,4	12,2	10,5	24,9	15,5	6,5

[#]Los valores medios incluyen las medidas de los chorizos envasados a los diferentes valores de a_w al no haberse detectado diferencias significativas respecto a este factor.

EEM: Error estándar de la media.

[§]Cocinado en horno de convección a 160 °C durante 10 min (temperatura interna, 68 °C).

La tabla 2.31 muestra los niveles de compuestos azufrados durante el almacenamiento del chorizo artesanal e industrial. En los chorizos industriales la cantidad de compuestos azufrados fue superior en los de a_w de 0,96 que en el resto (diferencias estadísticamente significativas, $P<0,05$, a los 14 y 28 días de almacenamiento). Durante el almacenamiento se observó una tendencia al descenso del contenido en compuestos azufrados, que fue significativo ($P<0,05$) en los chorizos industriales de a_w 0,96. El contenido en compuestos bencénicos a lo largo del almacenamiento del chorizo artesanal e industrial se recoge en la tabla 2.32. Los niveles se mantuvieron estables en el tiempo.

Tabla 2.31. Evolución de la cantidad de compuestos azufrados (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (después de su cocinado) envasados a distintos valores de a_w (0,96, 0,94 y 0,92) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=4)[#]

Días	Artesanal			EEM	Industrial			EEM
	0,96	0,94	0,92		0,96	0,94	0,92	
1	57,0	27,7	18,9	5,0	204,0 ^{1,2}	120,4	63,8	38,2
14	30,6	47,8	18,5	6,7	318,8 ^{a,1}	109,6 ^b	35,2 ^b	41,3
28	55,3	53,8	26,6	9,3	251,8 ^{a,1,2}	89,7 ^b	46,2 ^b	35,9
42	35,1	58,0	30,8	7,7	101,1 ²	98,3	27,0	23,2

[#]Los valores medios incluyen las medidas de los chorizos envasados en atmósfera normal y modificada al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera.

EEM: Error estándar de la media.

^{a,b}: Medias de cada fila dentro de cada valor de a_w con distinta letra presentaron diferencias significativas ($P<0,05$) en la prueba de Duncan

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

Tabla 2.32. Evolución de la cantidad de compuestos bencénicos (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (después de su cocinado)[§] a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=12)[#]

Días	Artesanal	EEM	Industrial	EEM
1	2,0	1,2	2,0	0,8
14	3,7	2,7	3,1	2,0
28	2,1	2,2	3,4	1,5
42	3,8	1,8	8,0	3,1

[#]Los valores medios incluyen las medidas de los chorizos envasados en atmósferas normal y modificada y de las distintas a_w de envasado al no haberse detectado diferencias significativas respecto al tipo de atmósfera y a_w .

EEM: Error estándar de la media.

[§]Cocinado en horno de convección a 160 °C durante 10 min (temperatura interna, 68 °C).

Finalmente, la evolución del contenido total en volátiles del chorizo cocinado durante su almacenamiento se muestra en la tabla 2.31 Al igual que en el chorizo crudo, la atmósfera de envasado influyó significativamente sobre el contenido total de volátiles. Durante el almacenamiento en atmósfera control (aire) se produjo un incremento de los volátiles, tanto en chorizos artesanales como industriales, aunque las diferencias fueron estadísticamente significativas solamente en los artesanales. Por el contrario, no se observó incremento del contenido en volátiles con el envasado en AM. Al final del almacenamiento, la cantidad de volátiles en chorizos control superó la de los chorizos en AM (diferencias estadísticamente significativas, $P<0,05$ a los 42 días en los chorizos artesanales). El comportamiento de los volátiles del chorizo cocinado durante el almacenamiento de los chorizos fue similar al descrito para el chorizo crudo.

Tabla 2.33. Evolución de la cantidad de compuestos volátiles totales (expresada como ng undecano/g) de los chorizos artesanales e industriales (después de su cocinado)[§] envasados con atmósfera normal (Control) o modificada (AM) a lo largo de su almacenamiento a refrigeración (n=6)[#]

Días	Artesanal		EEM	Industrial		EEM
	Control	AM		Control	AM	
1	208,9 ²	208,9	25,1	408,0	408,0	47,1
14	393,5 ¹²	186,0	64,7	505,8	362,4	69,5
28	216,0 ²	297,1	66,7	636,5	464,5	107,5
42	591,5 ^{a1}	167,7 ^b	123,0	856,3	487,5	157,4

[#]Los valores medios incluyen las medidas de los chorizos envasados a los diferentes valores de a_w al no haberse detectado diferencias significativas respecto al la a_w .

EEM: Error estándar de la media.

[§]Cocinado en horno de convección a 160 °C durante 10 min (temperatura interna, 68 °C).

^{a,b}: Medias de cada fila dentro de cada valor de a_w con distinta letra presentaron diferencias significativas ($P<0,05$) en la prueba de Duncan

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

En un estudio previo realizado con los mismos chorizos utilizados en el presente estudio en donde se llevó a cabo un análisis sensorial de los mismos (González-Tenorio, 2011), las puntuaciones otorgadas al aroma y sabor de las muestras de chorizos industriales no mostraron cambios significativos durante el almacenamiento; por el contrario, se observaron disminuciones significativas de dichas puntuaciones durante el almacenamiento de los chorizos artesanales envasados en aire (controles). Los cambios en los compuestos volátiles del chorizo cocinado durante el almacenamiento, no pueden justificar el descenso en la puntuación y sabor de los chorizos artesanales envasados en aire. Tal vez esta alteración se deba a la aparición o aumento de volátiles no detectados con el método utilizado por su elevada volatilidad (bajo tiempo de retención) o su baja concentración (por debajo del límite de detección).

2.2.3. Efecto del cocinado sobre los compuestos volátiles del chorizo

Después del cocinado, los chorizos presentaron cantidades de compuestos volátiles entre un 30% (artesanales) y 20% (industriales) mayores que los chorizos crudos. Se puede responsabilizar al cocinado de este incremento – es conocido que en la carne y productos cárnicos el tratamiento térmico genera compuestos volátiles (Calkins y Hodgen, 2007). En la tabla 2.34 se recogen las cantidades de cada una de las familias químicas de volátiles detectadas en el chorizo industrial y artesanal, obtenidas del análisis antes y después de ser cocinados.

Los hidrocarburos y los aldehídos alifáticos lineales se originan a partir de la degradación térmica de las grasas (Mottram, 1998) por lo que cabría esperar un aumento de los mismos en los chorizos cocinados respecto a los chorizos crudos. Sin embargo, el cocinado solo trajo consigo un aumento significativo de los hidrocarburos en los chorizos industriales. La ausencia de aumento en chorizos artesanales podría explicarse al menos parcialmente

entendiendo que su presencia es el resultado de un balance entre su formación por degradación térmica y desaparición por volatilización de los mismos durante el cocinado.

Por otra parte, la cantidad neta de ácidos grasos libres en el espacio de cabeza del chorizo aumentó ligeramente con el cocinado debido al calentamiento, aunque la proporción de los mismos respecto al contenido total de volátiles se mantuvo similar a la del chorizo crudo. Dicho aumento se puede atribuir a un efecto de concentración debido a la evaporación de agua en el cocinado. También cabría la posibilidad de pensar en una lipólisis provocada por el calor.

Los aldehídos alifáticos de cadena ramificada experimentaron un aumento estadísticamente significativo con el cocinado en el espacio de cabeza de ambos tipos de chorizo. Este incremento fue el más notorio de los observados y se puede atribuir a la reacción de Strecker provocada por el tratamiento térmico. En el chorizo cocinado se detectaron cantidades importantes de aldehídos ramificados, 2-metil butanal, 3-metil-butanal y 2-metil-propanal, derivados de la degradación de isoleucina, leucina y valina, respectivamente (Barbieri et al., 1992, Machiels et al., 2004), que se incrementaron durante el almacenamiento (tabla 2.29). El bajo umbral de percepción de los aldehídos ramificados (Machiels et al., 2003; Smit et al., 2009) hace pensar que estos contribuyen al aroma característico de los chorizos cocinados. En estudios sobre el aroma de carne cocida, las notas aromáticas del 2-metil-butanal se han descrito como dulce, a champiñón (Resconi et al., 2010), las del 3-metil-butanal como a chocolate, a caramelo, a hierba verde, a nuez (Machiels et al, 2004), desagradable, acre y agrio (Xie et al., 2008) y las del 2-metil-propanal como a quemado, a nueces y a grasa (Machiels et al., 2004).

Finalmente, el cocinado afectó a los compuestos azufrados, que experimentaron un ligero descenso atribuible a la inestabilidad térmica de los mismos (Hansen et al., 2010).

Tabla 2.34. Valores medios de los contenidos de las familias químicas de volátiles en chorizos artesanales e industriales, antes y después de su cocinado, expresados como ng de undecano por g de chorizo (entre paréntesis se muestra el % de cada grupo respecto al total de volátiles)

	Artesanal		Industrial	
	Crudo	Cocinado	Crudo	Cocinado
Hidrocarburos alifáticos	17,4 (8,9)	26,0 (9,2)	97,5 ^b (23,2)	181,1 ^a (35,1)
Aldehídos alifáticos de cadena lineal	31,2 (16,0)	54,5 (19,1)	47,6 (11,3)	35,0 (6,8)
Alcoholes	0,0 (0,0)	0,4 (0,1)	0,5 (0,1)	0,4 (0,1)
Ácidos grasos y ésteres	79,2 (40,6)	102,8 (36,3)	91,2 (21,7)	116,5 (22,5)
Alquil-furanos	0,7 (0,4)	1,4 (0,5)	0,9 (0,2)	1,0 (0,2)
Aldehídos alifáticos de cadena ramificada	1,3 ^b (0,7)	12,1 ^a (4,2)	1,8 ^b (0,4)	15,9 ^a (3,1)
Compuestos terpénicos	15,4 (7,9)	28,0 (9,9)	18,3 (4,3)	20,3 (3,9)
Compuestos azufrados	40,1 (20,6)	38,3 (13,5)	152,7 [#] (36,6)	122,1 [#] (23,6)
Compuestos bencénicos	1,2 ^b (0,6)	2,4 ^a (3,0)	3,2 (0,8)	4,1 (0,8)
No identificados	8,3 (4,3)	6,7 (2,4)	7,9 (1,9)	9,3 (1,8)
Totales	196 [#] (100)	284 [#] (100)	424 [#] (100)	516 [#] (100)

^{a,b} Medias de la misma línea dentro de cada tipo de chorizo con letra diferente presentan diferencias significativas ($P < 0,05$; prueba de Duncan de comparaciones pareadas)

[#] Medias de la misma línea dentro de cada tipo de chorizo con este símbolo presentaron una tendencia estadística ($P < 0,1$; prueba de Duncan de comparaciones pareadas).

2.4. CONCLUSIONES

El perfil volátil en el espacio de cabeza del chorizo fresco Mexicano está caracterizado por la presencia mayoritaria de compuestos derivados de la degradación/oxidación lipídica, la lipólisis y de aquellos aportados por condimentos y especias. Esto permite suponer que las propiedades de los lípidos y los condimentos y especias utilizados en su formulación pueden tener una repercusión importante en el aroma y sabor de los chorizos. Se ha comprobado que el uso de una formulación tradicional o de una industrial en la elaboración de chorizo supone diferencias cuantitativas e importantes en el perfil volátil.

La evolución del contenido total de compuestos volátiles en los chorizos durante su almacenamiento depende en gran medida de la atmósfera de envasado. A lo largo del almacenamiento en refrigeración el contenido en volátiles del espacio de cabeza del chorizo envasado en aire experimenta un aumento, en el que los hidrocarburos y aldehídos alifáticos y los ácidos grasos libres son los compuestos principalmente implicados. Por el contrario, cuando los chorizos se envasan en AM con CO₂ (20 %) y N₂ (80 %) el contenido total en compuestos volátiles se mantiene en términos generales constante durante el envasado (hasta 42 días).

También la a_w del chorizo muestra cierta influencia sobre los volátiles del mismo y su evolución durante el almacenamiento. Este efecto depende del tipo de chorizo y afecta al contenido en hidrocarburos y aldehídos alifáticos de cadena lineal y aldehídos alifáticos de cadena ramificada. A menores valores de a_w hay más aldehídos ramificados (principalmente el 3-metilbutanal), originados presumiblemente de la degradación de Strecker o por origen microbiano.

El análisis de volátiles en el espacio de cabeza con la metodología utilizada en el presente estudio no permite explicar el deterioro paulatino del aroma y sabor que presentaron los chorizos artesanales envasados en aire durante su almacenamiento, tal y como fue descrito en un estudio anterior (González-Tenorio, 2011). Para poder explicarlo probablemente se requiera de métodos capaces de identificar compuestos de alta volatilidad asociados con el metabolismo de bacterias alterantes como el SH₂, NH₃, metilmercaptano, etanol, acetona, etc.) y/o con un límite de detección más bajo que el del espacio de cabeza estático.

El cocinado de los chorizos provoca un incremento en los compuestos volátiles, concretamente los compuestos más afectados son los ácidos grasos libres y aldehídos de cadena ramificada. Por el contrario, los compuestos azufrados experimentan un descenso.

2. CAPÍTULO 2. PARTE II. Evolución de los compuestos volátiles del chorizo crudo-curado durante su almacenamiento a vacío o con atmósferas modificadas. Efectos de la temperatura, la presencia de CO_2 y la a_w

3.1. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1.1. Elaboración de los chorizos, condiciones de almacenamiento, muestreo y preparación de muestras para análisis

El estudio consta de dos experimentos. El primero estudia el perfil volátil de chorizos envasados a vacío almacenados a dos temperaturas diferentes, y el segundo, los compuestos volátiles en chorizos envasados en AM de N_2 con o sin la presencia de CO_2 .

3.1.1.1. Experimento 1. Efecto de la temperatura (4 vs 12 °C) sobre la evolución de los componentes volátiles del chorizo crudo-curado durante su almacenamiento a vacío

Este estudio se llevó a cabo con muestras de chorizo crudo-curado elaborado utilizando formulaciones y procedimientos comunes en la región. Para ello, se elaboraron 3 lotes de chorizos de forma artesanal: técnicas similares a las habitualmente utilizadas por pequeños fabricantes de la zona. Así mismo se elaboraron 3 lotes de chorizos mediante técnicas industriales, de acuerdo al procedimiento seguido por empresas de tamaño medio. Los 3 lotes de cada tipo se elaboraron en 3 días diferentes (en el mismo día se elaboró un lote artesanal y uno industrial) en la planta piloto de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de León.

Los dos tipos de chorizo se elaboraron inicialmente de forma conjunta a partir de carne magra de espalda y grasa dorsal de cerdo adquiridas en una

industria cárnica regional, en proporción carne/grasa de 80/20 (peso/peso), sumando un total de 40 kg. La carne y grasa de cerdo se picaron conjuntamente empleando una picadora Mainca (Zaragoza, España), equipada con una placa de acero inoxidable de 9 mm de diámetro. El picado se realizó con la carne y grasa a 4 °C.

Tras el picado, la mezcla se dividió en dos partes de 20 kg cada una, destinadas a los dos tipos de elaboración, artesanal e industrial, y se añadieron los ingredientes y, en su caso, aditivos utilizados. A la mezcla de tipo artesanal se le adicionaron 25 g de pimentón, 5 g de ajo, 20 g de sal y 0,5 g de orégano por kg de mezcla, mientras que a la mezcla industrial se le añadió lo mismo y, además, 6 g de glucosa, 6 g de lactosa, 0,15 g de nitrito sódico (150 ppm) y 0,25 g de cultivo iniciador *Microcampa* SP (La Campana, Valencia, España), compuesto por una mezcla de *Pediococcus acidilacti* y *Staphylococcus carnosus* que fue previamente dispersado en 4 ml de agua destilada. En la tabla 2.35 se muestran los ingredientes y aditivos utilizados en cada tipo de chorizo.

Tabla 2.35. Contenido de ingredientes y aditivos expresados en g por kg de masa inicial de cada tipo de chorizo

Ingredientes y aditivos	Tipo de chorizo	
	Artesanal	Industrial
Sal	20	20
Ajo fresco	5	5
Orégano	0,5	0,5
Pimentón de la Vera	25	25
Glucosa	-	6
Lactosa	-	6
Nitritos	-	0,15
Cultivo iniciador	-	0,25

Las mezclas se amasaron durante 6 min (amasadora Mainca As-60-80) obteniéndose así la masa inicial del embutido. Las masas obtenidas permanecieron 24 h en reposo una temperatura de refrigeración (aproximadamente de 6 °C). A continuación, las masas se embutieron en tripa natural de cerdo de 32-34 mm de diámetro, mediante una embutidora

hidráulica Mainca. Se obtuvieron chorizos de aproximadamente 600 g cada uno, que fueron atados en forma de herradura.

Tras el embutido, los chorizos artesanales se colocaron en una cámara de refrigeración con HR de 80% y temperatura de 4 °C durante 18 h. Por el contrario, los chorizos industriales se sometieron a un proceso de estufaje: se mantuvieron colgados en una cámara con HR de 94 % y temperatura de 22 °C, durante el mismo tiempo (Tabla 2.36). Posteriormente, ambos tipos de chorizos se colocaron en una cámara de maduración con HR de 77 % y temperatura de 11 °C, durante el tiempo necesario hasta alcanzar una a_w de $0,84 \pm 0,02$ (25-35 días). La a_w de los chorizos fue controlada cada 48 h a partir de los 15 días de maduración hasta llegar al valor deseado. Para cada medida, se tomó una rodaja de chorizo (0,5 cm) después de haber cortado y eliminado el extremo final (5 cm) de la pieza de chorizo. La a_w se determinó mediante el método de punto de rocío con un equipo Aqualab CX-2 (Decagon Devices, Inc., Pullman, WA, EEUU).

Una vez alcanzada la a_w buscada, los chorizos se envasaron individualmente (una herradura por envase) a vacío, usando una envasadora Henkovac E-253 (Hertogenbosch, Holanda), con una película plástica de 150 μm con una permeabilidad a 23 °C expresada en $\text{cm}^3 \text{m}^{-2} \text{bar}^{-1} 24 \text{h}^{-1}$ de 30, 90, 7 y 1,7 al O_2 , CO_2 , N_2 y humedad, respectivamente. El programa de envasado a vacío utilizado fue el siguiente: presión de vacío 10 mbar, tiempo de mantenimiento del vacío 15 s, tiempo de sellado 2 s.

Después del envasado, cada lote de chorizos artesanales e industriales, se dividió en dos partes, y éstas, a su vez, fueron subdivididas en 4 partes cada una, de acuerdo a los 4 diferentes tiempos de muestreo durante el almacenamiento (1, 60, 150 y 240 días). De este modo, la mitad de los chorizos de cada tipo (artesanales e industriales) se mantuvo en una cámara de refrigeración a 4 °C, muestreando los días 1, 60, 150 y 240 y la otra mitad de los chorizos se mantuvo en cámara a 12 °C, muestreando a los mismos

tiempos. Finalmente, los chorizo se congelaron (-80 °C) y se mantuvieron así hasta su posterior análisis de componentes volátiles.

Tabla 2.36. Condiciones de oreo, secado, envasado y almacenamiento.

Tipo de chorizo	Artesanal (3 lotes)	Industrial (3 lotes)
Condiciones de oreo y secado	4 °C, 80% HR durante 18 h 11 °C, 77% HR hasta alcanzar a_w de 0,84 (aproximadamente 30 días)	22 °C, 94% HR (estufaje) durante 18 h
Condiciones de envasado a vacío	Película plástica, permeabilidad media-baja, presión 10 mbar, 15 s	
Condiciones de almacenamiento	4 °C y 12 °C hasta 240 días	
Tiempos de muestreo	1, 60, 150 y 240 días	

3.1.1.2. Experimento 2. Efecto de la inclusión de CO₂ sobre la evolución de los componentes volátiles del chorizo crudo-curado con valores de a_w de 0,88 y 0,84 durante su almacenamiento a 12 °C en AM de N₂

Para la realización de este experimento se emplearon chorizos crudo-curados elaborados mediante el procedimiento industrial descrito anteriormente (3.1.1.1). Se elaboraron 3 lotes de chorizo en la planta piloto de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de León que se mantuvieron en la cámara de maduración hasta alcanzar unos valores de a_w de $0,88 \pm 0,02$ (la mitad de cada lote) y $0,84 \pm 0,02$ (la otra mitad de cada lote). La monitorización de la a_w hasta alcanzar los valores establecidos (0,88 y 0,84) se llevó a cabo del mismo modo que en el experimento anterior.

Una vez alcanzados los valores de a_w programados, los chorizos de cada a_w se dividieron a su vez en 2 subgrupos. Uno de ellos fue envasado en AM con N₂ (100% N₂), y el otro en AM con mezcla de N₂ y CO₂ (80 % N₂/20 % CO₂). En todos los casos los chorizos fueron envasados individualmente (una herradura por envase), usando la misma envasadora y películas plásticas descritas en el experimento anterior (3.1.1.1). El programa de envasado en AM utilizado fue el siguiente: presión de vacío 60 mbar, tiempo de mantenimiento del vacío 15 s, presión de gas de la AM 600 mbar, tiempo de sellado 2 s. Los gases utilizados, tanto el N₂ como la mezcla

N₂/CO₂, procedieron de la línea Freshline de Carburos Metálicos, S.A. (Madrid, España).

Cada uno de los grupos de chorizos obtenidos tras el envasado fue dividido en 4 partes, de acuerdo a los 4 tiempos de muestreo durante el almacenamiento (1, 60, 150 y 240 días). Las condiciones de almacenamiento fueron iguales para todos ellos, se mantuvieron en una cámara frigorífica bodeguera Liebherr WK 2927 Vinothek (Bulle, Suiza) a 12 °C hasta un máximo de 240 días. Una vez alcanzados los correspondientes tiempos de almacenamiento, los chorizos fueron congelados a -80 °C hasta el posterior análisis del contenido en volátiles.

En la tabla 2.37 se muestran las condiciones y variables utilizadas en el experimento: a_w en el momento del envasado (parámetro utilizado para definir del tiempo de maduración), atmósfera de envasado y tiempo de muestreo durante el almacenamiento a 12 °C.

Tabla 2.37. Variables utilizadas en el plan experimental (divisiones experimentales).

Tipo de chorizo	Valor de la a_w para el fin de la maduración*	Atmósfera de envasado	Tiempo de almacenamiento (días)
INDUSTRIAL (3 lotes)	0,84	20% CO ₂ / 80% N ₂	1, 60, 150 y 240
		100% N ₂	1, 60, 150 y 240
	0,88	20% CO ₂ / 80% N ₂	1, 60, 150 y 240
		100% N ₂	1, 60, 150 y 240

* El tiempo aproximado de duración del proceso de maduración hasta alcanzar la a_w indicada en la tabla estuvo comprendido entre 25 y 35 días.

3.1.2. Análisis del contenido en volátiles de los chorizos

La metodología de análisis de componentes volátiles fue la misma para los dos experimentos realizados en este estudio. El análisis se llevó a cabo por extracción mediante la técnica de espacio de cabeza estático y análisis por cromatografía de gases acoplada a un detector de espectrometría

de masas. Las muestras de chorizo fueron descongeladas a temperatura ambiente durante 40 minutos. Los chorizos fueron troceados manualmente en rodajas de aproximadamente 0,5 cm, eliminando los extremos finales de la pieza de chorizo (5 cm). Las rodajas fueron homogeneizadas con una picadora doméstica. A continuación, se introdujeron 5 g de homogeneizado en viales de espacio de cabeza de 20 ml (Agilent Technologies), se añadieron 0,073 g de NaCl (Sigma-Aldrich) y 4,67 ml de agua milli-Q y se cerraron herméticamente los viales con tapón metálico y con septo de silicona/teflón (Agilent Technologies).

El análisis de los compuestos volátiles fue efectuado en un cromatógrafo de gases CG7890A acoplado a un espectrómetro de masas MSD 5975C (Agilent Technologies), equipado con un autoinyector de espacio de cabeza estático CTC Combi PAL (CTC Analytics AG). Los compuestos volátiles fueron separados usando una columna DB-5MS (60 m x 0.25 mm ID x 0.25 μ m grosor del relleno; J&W Scientific). Previamente a la inyección se procedió al equilibrado de la muestra con el espacio de cabeza en los viales manteniendo estos a 60 °C en un incubador con agitación intermitente (750 rpm, 5 s de marcha, 2 s de paro) durante un total de 40 minutos. A continuación se extrajo un volumen de 1 ml del gas de espacio de cabeza que fue inyectado en el cromatógrafo con una jeringa de 2,5 ml Combi PAL (CTC Analytics AG). Las condiciones de trabajo utilizadas fueron las siguientes:

- Gas portador: He.
- Velocidad de flujo constante: 1,5 mL.
- Temperatura de la jeringa: 100 °C.
- Velocidad de llenado de la jeringa: 100 μ L/s.
- Velocidad de inyección: 250 μ L/s.
- Temperatura del inyector: 260 °C.
- Inyección: Modo split.
- Relación del split: 2:1.
- La programación del horno comenzó a una temperatura de 37 °C durante 1 minuto, posteriormente se incrementó la temperatura hasta 50 °C a una velocidad de 10 °C/min, 4 °C/min hasta 146 °C, 20 °C/min hasta 200 °C y 50 °C/min hasta 250 °C, temperatura a la cual se mantuvo durante 11 minutos.

- Temperatura de transferencia en el detector: 280 °C.
- Energía electrónica de impacto: 70 eV.
- Modo: Scan; rango de masas de m/z 40-400 a 3.94 s/scan.

Los volátiles detectados fueron identificados comparando su espectro de masas con los de los compuestos presentes en la base de datos de espectros de masas NIST/EPA/NIH-08 y, en su caso, en diversas referencias bibliográficas. Además, se utilizó una serie de n-alcenos, hidrocarburos de cadena lineal de 5 a 20 átomos de carbono, para calcular los tiempos de retención relativos o experimentales (TRR) o índices de Kovats para cada volátil, y siempre que fue posible las identificaciones se confirmaron por comparación de los valores de TRR estimados en este trabajo con valores de TRR publicados. Para calcular los TRR experimentales de cada uno de los compuestos detectados en el chorizo se empleó la siguiente fórmula descrita por David et al. (2002).

$$\text{TRR} = \frac{100 \times (t_{RX} - t_{RZ})}{(t_{RZ+1} - t_{RZ})} + (Z \times 100)$$

En la que:

TRR = Tiempo de retención relativo o índice de Kovats.

Z = Número de carbonos del n-alceno precedente.

t_{RZ+1} y t_{RZ} = Tiempos de retención obtenidos para los n-alcenos posterior y precedente al compuesto problema, respectivamente

t_{RX} = Tiempo de retención obtenido para el compuesto problema.

La mezcla de n-alcenos inyectada se obtuvo adicionando en un vial con cierre hermético 1 ml de n-hexano y 50 μ l de los siguientes compuestos: n-pentano, n-heptano, n-octano, n-nonano, n-decano, n-undecano, n-dodecano, n-tridecano, n-tetradecano, n-pentadecano, n-hexadecano, n-heptadecano, n-octadecano, n-nonadecano, n-eicosano y n-eneicosano (todos Sigma-Aldrich). Se mezcló el contenido del vial y se inyectó en el cromatógrafo 1 μ l de la mezcla en las mismas condiciones descritas para las muestras.

La cuantificación se realizó en base a la comparación de las áreas de pico de los compuestos volátiles encontrados con el área de undecano obtenida inyectando la serie de n-alcenos anteriormente descrita. Las cantidades relativas de los compuestos volátiles fueron así pues expresadas en ng de undecano por g de muestra.

3.2. RESULTADOS

3.2.1. Experimento 1. Evolución de los componentes volátiles del chorizo crudo-curado durante su almacenamiento a vacío a dos temperaturas diferentes (4 y 12 °C)

En la tabla 2.38 se muestra el contenido de volátiles detectados en el espacio de cabeza de las muestras de chorizo en función del tipo, artesanal e industrial, y la temperatura de almacenamiento (4 y 12 °C) una vez envasados al vacío. Se muestra también la evolución de cada compuesto volátil a lo largo del almacenamiento (cuatro tiempos de muestreo: 1, 60, 150 y 240 días). Se detectó un total de 24 compuestos volátiles clasificados en función de su estructura molecular en 8 familias químicas (entre paréntesis figura el número de compuestos de cada familia): hidrocarburos alifáticos no terpénicos (3), aldehídos de cadena lineal (6), ácidos grasos (6), ésteres (2), aldehídos ramificados (1), compuestos terpénicos (2), compuestos azufrados (3) y compuestos bencénicos (1). Se incluye además un grupo de compuestos no identificados, con un compuesto cuya estructura química no pudo ser determinada. El sulfuro de alilo y metilo y el pentanal coeluyeron en el análisis cromatográfico y se cuantificaron conjuntamente. Analizando el espectro del pico formado por las dos sustancias, se pudo observar que el espectro de la primera fue predominante, por lo tanto la suma de la cantidad de ambos compuestos se incluye dentro del grupo de compuestos azufrados.

Las cantidades recogidas en la tabla 2.38 para cada tipo de chorizo, artesanal e industrial (las dos primeras columnas de datos), son valores

promedio, calculados a partir de las cantidades obtenidas para los cuatro tiempos de muestreo y las dos temperaturas de almacenamiento. Los valores de cada compuesto volátil para cada una de las dos temperaturas de almacenamiento (las dos columnas siguientes) son igualmente valores promedio, calculados a partir de las cantidades obtenidas para los dos tipos de chorizo y para los cuatro tiempos de muestreo. Por último, las cantidades de cada volátil a lo largo de los cuatro tiempos de muestreo son valores promedio que incluyen los dos tipos de chorizo y las dos temperaturas de almacenamiento.

En la mencionada tabla aparecen además los valores de significación de los factores estudiados (tipo de chorizo, temperatura y tiempo de almacenamiento) para cada compuesto detectado. No se incluyen las interacciones dobles y la triple entre los factores mencionados al no haberse detectado efectos significativos para las mismas con una excepción. En el caso de los compuestos terpénicos, el β -pineno y el conjunto de compuestos terpénicos mostraron una interacción doble significativa respecto a tipo de chorizo x tiempo de almacenamiento ($P < 0,05$). En las muestras de chorizo artesanal los compuestos terpénicos solo fueron detectados en los chorizos almacenados durante 60 días, en cantidad similar a la detectada en los chorizos industriales a ese mismo tiempo. Sin embargo, en el chorizo de elaboración industrial se observó un descenso de los compuestos terpénicos durante los primeros 60 días de almacenamiento y su posterior desaparición al final del almacenamiento (datos no mostrados en tablas).

El grupo de compuestos mayoritario en el espacio de cabeza del chorizo crudo-curado fue el de los ácidos grasos, fundamentalmente ácido oleico (compuesto más abundante). No obstante, la variabilidad entre muestras en la cantidad de ácido oleico y de otros ácidos grasos fue muy elevada, lo que en la tabla se traduce en altos errores estándar de la media. Los siguientes grupos de compuestos en orden de abundancia fueron los hidrocarburos alifáticos no terpénicos, siendo el pentano el compuesto

mayoritario, y los compuestos azufrados, de los que el alil-mercaptano (2-propeno-1-tiol) supuso aproximadamente el 90% de la cantidad total.

El factor tipo de chorizo mostró una tendencia estadísticamente significativa ($P \leq 0,1$) en las cantidades de β -pineno, del conjunto de compuestos terpénicos y de alil-mercaptano. Además, el sulfuro de alilo y metilo, el disulfuro de dialilo y el conjunto de compuestos azufrados presentaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$). La cantidad total de volátiles fue ligeramente mayor en el chorizo de elaboración artesanal aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Por otra parte, la temperatura durante el almacenamiento de los chorizos no afectó significativamente al contenido en volátiles. Únicamente el alil-mercaptano y el total de compuestos azufrados (alil-mercaptano fundamentalmente) mostraron una tendencia estadística, siendo las cantidades mayores en el caso del almacenamiento a 4 °C.

Las modificaciones más marcadas en el perfil volátil a lo largo del almacenamiento del chorizo envasado al vacío se observaron en los hidrocarburos alifáticos no terpénicos y los compuestos azufrados. Los niveles de hidrocarburos (pentano y ciclopentano fundamentalmente) descendieron a menos de la mitad de la cantidad inicial a los 150 días de almacenamiento. En el caso de los compuestos azufrados, todos ellos experimentaron un fuerte descenso desde el inicio a los 150 días de almacenamiento y, posteriormente, se mantuvieron estables hasta los 240 días.

Aunque los valores medios de aldehídos de cadena lineal muestran unos niveles máximos al día 150 de almacenamiento, el análisis de varianza no mostró un efecto significativo del factor tiempo. Los aldehídos mayoritarios en las muestras estudiadas fueron el hexanal y el nonanal. El hexanal mostró un comportamiento en relación al tiempo de almacenamiento similar al del conjunto de aldehídos. Se detectó una tendencia estadística ($P \leq 0,1$) en el análisis de varianza y una probabilidad significativa en la prueba pareada de Duncan ($P < 0,05$) que muestra un incremento de hexanal hasta el

día 150 y posterior descenso en el día 250. Por su parte, el nonanal, permaneció estable durante todo el periodo de almacenamiento estudiado. El 2,4-decadienal experimentó una evolución similar a la descrita para el hexanal y el total de aldehídos de cadena lineal (los niveles más elevados se detectaron a los 150 días).

El total de ácidos grasos presentes en el espacio de cabeza del chorizo experimentó modificaciones (tendencia estadística; $P \leq 0,1$) durante el tiempo que permanecieron almacenadas las muestras. El ácido oleico, compuesto más abundante, mostró diferencias significativas ($P < 0,05$), mientras que el resto de los ácidos grasos (salvo el ácido palmítico) mostraron tendencia estadística ($P \leq 0,1$) con respecto a este factor. La mayor parte de los ácidos grasos y el conjunto de los mismos muestran un incremento significativo desde el día 150 a 240. Antes de ese tiempo los valores medios mostraron variaciones generalmente no significativas. Además de los ácidos grasos, fueron detectadas pequeñas cantidades de ésteres de ácidos grasos. Los dos ésteres identificados, metil linoleato y metil oleato, se vieron significativamente afectados por el tiempo de almacenamiento. Ambos comenzaron a ser detectados a los 60 días de almacenamiento, sus niveles se mantuvieron hasta los 150 días y aumentaron de forma significativa ($P < 0,05$) a los 240 días.

Los compuestos terpénicos también se vieron significativamente afectados por el tiempo de almacenamiento. Estos compuestos estuvieron presentes en pequeña cantidad durante las primeras etapas de almacenamiento y, posteriormente, desaparecieron.

Se identificaron además un aldehído ramificado, el 3-metil-butanal, y un compuesto bencénico, el fenil-acetaldehído, que mostraron un comportamiento característico a lo largo del tiempo de almacenamiento. Los dos compuestos fueron detectados en pequeñas cantidades pasados los 60 días de almacenamiento para posteriormente desaparecer o casi desaparecer al final del mismo. Finalmente, la cantidad total de compuestos volátiles presente en el espacio de cabeza del chorizo mostró una tendencia

estadísticamente significativa respecto al tiempo de almacenamiento. La evolución fue similar a la descrita para los ácidos grasos, debido fundamentalmente a que estos fueron los compuestos mayoritarios en el perfil volátil del chorizo.

3.2.2. Experimento 2. Evolución de los compuestos volátiles del chorizo crudo-curado con valores de a_w de 0,88 y 0,84 durante su almacenamiento a 12 °C en AM de N_2 con o sin inclusión de CO_2

En la tabla 2.39 se muestra el contenido de volátiles en los chorizos crudo-curados elaborados de forma industrial, en función de los dos valores de a_w en el momento del envasado estudiados (0,88 y 0,84) y en función de la AM de envasado (N_2 , y mezcla de 80 % N_2 y 20 % CO_2). También se muestra la evolución durante el tiempo de almacenamiento de cada uno de los volátiles detectados (tiempos de muestreo: 1, 60, 150 y 240 días). Las cantidades de cada volátil que aparecen en la tabla para las dos a_w estudiadas son valores promedio, calculados a partir de los valores obtenidos para las dos atmósferas de envasado y los cuatro tiempos de muestreo. Lo mismo ocurre con las cantidades para cada AM, que son valores promedio, calculados a partir de los datos de las dos a_w y los cuatro tiempos de muestreo. Por último, las cantidades de volátiles para cada uno de los tiempos de muestreo fueron calculados igualmente como valores promedio a partir de las cantidades detectadas en los chorizos de ambas a_w y de ambas AM. La significación para los tres factores estudiados en el experimento (a_w en el momento del envasado, tipo de AM, y tiempo de almacenamiento) se muestran también en la tabla. No se incluyen las interacciones dobles y la triple al no haberse detectado significación estadística significativa en ningún compuesto.

Se detectaron 24 compuestos volátiles en el espacio de cabeza del chorizo y otros dos compuestos cuya estructura química no pudo ser determinada. Las familias químicas de compuestos encontrados en el chorizo fueron (aparece el número de compuestos de cada familia entre paréntesis):

hidrocarburos alifáticos no terpénicos (3), aldehídos de cadena lineal (6), ácidos grasos (6), ésteres (2), aldehídos ramificados (1), compuestos terpénicos (2), compuestos azufrados (3) y compuestos bencénicos (1). El sulfuro de alilo y metilo y el pentanal coeluyeron en el análisis cromatográfico y se muestra su cantidad conjunta. Analizando el espectro, los fragmentos típicos del primero fueron más abundantes que los del segundo, por lo que la suma de los dos se incluye en el grupo de compuestos azufrados. Los compuestos predominantes en el espacio de cabeza del chorizo fueron, al igual que en el experimento anterior, los ácidos grasos, debido fundamentalmente al ácido oleico y a los ácidos palmítico, linoleico y esteárico. Los siguientes grupos en orden de abundancia fueron los hidrocarburos alifáticos no terpénicos, constituidos mayoritariamente por pentano (aproximadamente 75% del total de hidrocarburos), y los compuestos azufrados, siendo el alil-mercaptano el compuesto mayoritario (aproximadamente 90% respecto al total de azufrados).

La variación de la a_w del chorizo en el momento del envasado supuso escasas modificaciones en el contenido en compuestos volátiles del espacio de cabeza del chorizo. Únicamente se observó una mayor cantidad de ácidos grasos y por lo tanto mayor contenido en la cantidad total de volátiles, en las muestras sometidas a un mayor secado (a_w de 0,84). Sin embargo las diferencias no fueron estadísticamente significativas.

El efecto de la AM empleada para el envasado del chorizo mostró una tendencia estadística ($P \leq 0,1$) en el contenido de algunos compuestos volátiles: la mayoría de los ácidos grasos y los ésteres. Los niveles de ácidos grasos fueron aproximadamente 5 veces superiores en los chorizos envasados con mezcla de N_2 y CO_2 que en los envasados con AM de N_2 (100%). Individualmente, todos los ácidos grasos detectados fueron superiores (tendencia estadística, $P \leq 0,1$) en AM con CO_2 , excepto el ácido linoleico que presentó niveles similares para los dos tipos de atmósfera de envasado. Los ésteres también fueron superiores en el espacio de cabeza del chorizo

envasado en presencia de CO₂. El metil linoleato no alcanzó niveles cuantificables en el chorizo envasado sin CO₂ y el metil oleato fue detectado en niveles muy bajos en esta AM. En conjunto se observó una mayor cantidad total de volátiles en las muestras de chorizo envasado con mezcla de N₂ y CO₂ ($P \leq 0.1$).

La mayoría de compuestos volátiles detectados en el espacio de cabeza del chorizo sufrieron modificaciones durante el almacenamiento del mismo. El tiempo influyó significativamente ($P < 0,05$) sobre el contenido en hidrocarburos alifáticos no terpénicos, aldehídos de cadena lineal, aldehídos ramificados y compuestos azufrados. Los niveles de hidrocarburos no terpénicos y los aldehídos lineales se mantuvieron estables durante los primeros 60 días de almacenamiento o aumentaron ligeramente y, a continuación, se incrementaron de forma significativa a los 150 días, descendiendo de nuevo a los 240 días. Por otra parte, el único aldehído de cadena ramificada presente, el 3-metil-butanal, fue detectado a partir de los 150 días de envasado y aumentó de forma significativa a los 240 días. La cantidad de compuestos azufrados disminuyó en el chorizo tras los primeros 60 días de almacenamiento y posteriormente esta cantidad se incrementó de nuevo hasta alcanzar aproximadamente los niveles iniciales a los 150 días y, finalmente, disminuyó hasta niveles inferiores a los detectados en el día 60.

El análisis de varianza no mostró un efecto significativo del tiempo de almacenamiento sobre los niveles de ácidos grasos, ésteres, compuestos terpénicos y compuestos bencénicos. Los ésteres aparecieron después de 60 días de envasado. Los compuestos terpénicos fueron detectados en pequeña cantidad durante los primeros 150 días y desaparecieron en las etapas finales del almacenamiento. Por último, el fenil-acetaldehído, único compuesto bencénico identificado, solamente fue detectado en pequeñas cantidades a los 60 y 150 días de almacenamiento.

Tabla 2.38. Concentración (ng de undecano por g de chorizo) de los compuestos volátiles detectados en el espacio de cabeza de los chorizos artesanales e industriales, almacenados a vacío a temperaturas de 4 y 12 °C hasta 240 días

	Tipo de chorizo		Temperatura almacenamiento		EEM	Tiempo (días)				EEM	Nivel de P ^ε			TRR	Ml ^δ
	Art	Ind	4 °C	12 °C		1	60	150	240		Ch	T ^α	T		
<i>Hidrocarburos alifáticos no terpénicos</i>	84,0	91,1	83,8	91,3	7,3	121,4 ^a	113,9 ^a	45,4 ^b	69,6 ^b	10,3	NS	NS	***		
Pentano	67,5	73,1	68,7	72,0	5,7	101,0 ^a	93,7 ^a	35,3 ^b	51,4 ^b	8,1	NS	NS	***	500	E+T
Ciclopentano	15,1	15,7	13,9	16,9	1,9	20,4 ^a	17,7 ^a	7,4 ^b	16,2 ^a	2,7	NS	NS	**	568	E+T
2,2,4,6,6-Pentametilheptano	1,3	2,2	1,1	2,5	0,7	NC	2,5	2,7	1,9	1,0	NS	NS	NS		E
<i>Aldehídos cadena lineal</i>	10,7	10,2	11,0	10,0	2,6	7,2	11,1	17,2	6,2	3,7	NS	NS	NS		
Hexanal	5,0	4,2	4,9	4,3	1,1	2,7 ^b	4,9 ^{ab}	7,6 ^a	3,1 ^b	1,5	NS	NS	#	800	E+T
Heptanal	0,8	0,6	0,8	0,6	0,2	0,5	0,5	0,5	0,5	0,2	NS	NS	NS	895	E+T
2-Heptenal	0,1	0,1	0,2	0,1	0,1	NC	NC	0,5	NC	0,1	NS	NS	-	951	E+T
Octanal	0,6	1,3	0,6	1,3	0,7	0,3	1,0	2,4	0,2	1,0	NS	NS	NS	998	E+T
Nonanal	3,3	3,4	3,5	2,9	0,4	3,7	3,9	3,1	2,3	0,6	NS	NS	NS	1115	E+T
2,4-Decadienal	0,9	0,7	1,0	0,6	0,5	NC	0,1 ^b	3,0 ^a	0,1 ^b	0,8	NS	NS	*	1326	E+T
<i>Ácidos grasos</i>	213,7	175,8	235,9	153,6	75,6	48,6 ^b	268,9 ^{ab}	47,8 ^b	413,8 ^a	107,0	NS	NS	#		
Mirístico	1,1	1,0	1,2	1,0	0,6	0,3 ^b	0,6 ^b	0,5 ^b	3,0 ^a	0,9	NS	NS	#	1783	E+T
Palmitoleico	3,3	2,3	3,6	1,9	1,4	0,6 ^b	2,7 ^{ab}	0,5 ^b	7,3 ^a	2,0	NS	NS	#	2036	E
Palmitico	31,0	29,6	34,0	26,5	12,7	6,3	38,4	16,6	59,8	17,9	NS	NS	NS	2053	E+T
Linoleico	15,8	13,9	13,3	16,5	5,2	7,4 ^{ab}	27,5 ^a	4,9 ^b	19,7 ^{ab}	7,3	NS	NS	#	>2100	E
Oleico	148,1	116,3	167,1	97,3	54,0	32,1 ^b	173,9 ^{ab}	21,5 ^b	301,3 ^a	76,4	NS	NS	*	>2100	E
Esteárico	14,3	12,7	16,0	10,4	5,4	1,8 ^b	25,8 ^a	3,8 ^b	22,7 ^{ab}	7,7	NS	NS	#	>2100	E
<i>Ésteres</i>	0,8	0,7	1,0	0,6	0,5	ND	0,3 ^b	0,2 ^b	2,6 ^a	0,7	NS	NS	*		
Metil linoleato	0,2	0,2	0,3	0,1	0,1	ND	0,2	ND	0,7	0,2	NS	NS	#	>2100	E
Metil oleato	0,6	0,6	0,7	0,5	0,3	ND	0,2 ^b	0,2 ^b	1,9 ^a	0,5	NS	NS	*	>2100	E
<i>Aldehídos ramificados</i>															
3-Metil-butanal	0,4	0,2	0,2	0,4	0,2	ND	0,7	0,4	ND	0,593	NS	NS	NS	654	E+T

<i>Compuestos terpénicos</i>	0,4	0,1	0,2	0,4	0,1	0,5	0,5	ND	ND	0,2	#	NS	-		
β-Pineno	0,3	0,1	0,1	0,2	0,1	0,4	0,4	ND	ND	0,1	#	NS	-	970	E+T
γ-Terpeno	0,1	0,03	0,03	0,1	0,1	0,1	0,1	ND	ND	0,1	NS	NS	NS	1064	E+T
<i>Compuestos azufrados</i>	79,5	63,2	77,5	65,1	5,7	108,1 ^a	86,4 ^a	46,2 ^b	44,7 ^b	8,0	*	#	***		
Alil-mercaptano	71,8	57,6	70,9	58,5	5,4	99,3 ^a	79,0 ^a	41,4 ^b	39,1 ^b	7,6	#	#	***	600	E+T
Sulfuro de alilo y metilo + pentanal	6,7	5,2	5,9	6,1	0,4	7,4 ^a	6,6 ^{ab}	4,6 ^c	5,3 ^{bc}	0,5	**	NS	**	701	E+T
Disulfuro de dialilo	1,0	0,3	0,7	0,6	0,6	1,4 ^a	0,7 ^{ab}	0,1 ^b	0,3 ^b	0,2	**	NS	**	1091	E+T
<i>Compuestos bencénicos</i>															
Fenil-acetaldehído	0,4	0,2	0,2	0,4	0,1	0,3	0,6	0,3	0,1	0,2	NS	NS	NS	1048	E+T
<i>No identificados</i>															
No identificado II	0,2	2,3	0,3	2,3	1,5	ND	ND	4,3	0,7	2,2	NS	NS	NS	860	
45, 43(20), 44(15), 42(5), 46(3), 252(2), 55(20), 41(2)															
<i>Total volátiles</i>	390,0	344,0	410,0	324,0	82,3	286,2 ^{ab}	482,4 ^a	161,7 ^b	537,7 ^a	116,4	NS	NS	#		

[§] MI: Método de identificación. E, espectro de masas coincidente con el espectro de masas de la base de datos NIST/EPA/NIH98 y validado por interpretación personal del mismo. T: El TRR experimental coincidente con el TRR encontrado en la bibliografía (Kondjoyan y Berdagué, 1996, Adams, 2007; NIST, 2011).

[¶] P: Nivel de significación: # (tendencia estadística), P>0,1; *, P>0,05; **, P>0,01; ***, P>0,001. Ch: tipo de chorizo (Art.: artesanal e Ind.: industrial), T^a: temperatura durante el almacenamiento, t: tiempo de almacenamiento.

TRR: Índice de retención relativo experimental.

EEM: Error estándar de la media.

ND: Compuesto no cuantificado (<0,03 ng/g).

Tabla 2.39. Concentración (ng de undecano por g de chorizo) de los compuestos volátiles detectados en el espacio de cabeza de los chorizos industriales, almacenados a temperaturas de 12 °C en AM de N₂ y N₂ + CO₂ durante 240 días

	a _w de envasado		Atmósfera		EEM	Tiempo (días)				EEM	Nivel de P [#]			TRR	MI [§]
	0,88	0,84	N ₂ sin CO ₂	N ₂ con CO ₂		1	60	150	240		a _w	A	t		
	<i>Hidrocarburos alifáticos no terpénicos</i>	122,0	136,7	131,0	127,5	13,3	100,2 ^b	128,2 ^b	184,3 ^a	104,4 ^b	18,9	NS	NS	*	
Pentano	91,4	100,4	97,1	94,8	10,6	85,3 ^b	100,1 ^{ab}	130,7 ^a	67,7 ^b	15,0	NS	NS	*	500	E+T
Ciclopentano	24,3	29,8	27,6	26,4	3,3	15,0 ^c	21,2 ^{cb}	42,7 ^a	29,3 ^b	4,7	NS	NS	**	568	E+T
2,2,4,6,6-Pentametil-heptano	6,2	6,4	6,3	6,3	1,0	ND	6,9 ^b	10,9 ^a	7,4 ^{ab}	1,4	NS	NS	***		
<i>Aldehídos de cadena lineal</i>	9,9	13,6	12,2	11,3	2,6	6,0 ^b	8,9 ^b	24,6 ^a	7,4 ^b	3,7	NS	NS	**		
Hexanal	4,9	7,2	6,7	5,4	1,8	2,1 ^b	4,1 ^b	13,3 ^a	4,7 ^b	2,6	NS	NS	*	800	E+T
Heptanal	0,8	1,1	1,1	0,8	0,3	0,2 ^b	0,7 ^b	2,5 ^a	0,3 ^b	0,4	NS	NS	**	895	E+T
2-Heptenal	0,1	0,2	0,1	0,1	0,1	ND	0,1 ^b	0,5 ^a	ND	0,1	NS	NS	*	951	E+T
Octanal	0,6	1,0	0,9	0,7	0,2	0,2 ^b	0,7 ^b	2,3 ^a	0,2 ^b	0,3	NS	NS	***	998	E+T
Nonanal	3,2	3,6	3,2	3,6	0,4	3,5 ^{ab}	2,9 ^b	5,0 ^a	2,2 ^b	0,6	NS	NS	*	1115	E+T
2,4-Decadienal	0,2	0,5	0,2	0,5	0,2	ND	0,4 ^b	1,1 ^a	ND	0,2	NS	#	**	1326	E+T
<i>Ácidos grasos</i>	274,1	438,6	115,4	597,4	182,3	33,4	584,3	487,7	320,2	257,8	NS	#	NS		
Mirístico	2,7	7,2	0,6	9,3	3,4	ND	10,3	8,0	1,5	4,8	NS	#	NS	1783	E+T
Palmitoleico	5,2	10,9	1,6	14,5	5,2	ND	18,4	9,7	4,2	7,4	NS	#	NS	2036	E
Palmitico	45,8	98,8	20,2	124,4	40,2	3,3	101,7	127,9	56,3	58,9	NS	#	NS	2053	E+T
Linoleico	16,6	8,9	12,8	12,8	4,7	5,8	5,0	19,6	20,7	6,6	NS	NS	NS	>2100	E
Oleico	186,8	289,1	74,2	401,7	124,2	23,1	420,8	288,1	219,7	175,7	NS	#	NS	>2100	E
Estearico	17,0	23,7	5,9	34,8	10,4	1,2	28,1	34,4	17,8	14,7	NS	#	NS	>2100	E
<i>Ésteres</i>	1,2	3,0	0,2	4,0	1,5	ND	5,1 ^a	2,2 ^b	1,0 ^b	2,1	NS	NS	#		
Metil linoleato	0,4	1,0	ND	1,3	0,5	ND	1,5	0,9	0,3	0,7	NS	-	NS	>2100	E
Metil oleato	0,8	2,0	0,2	2,6	1,0	ND	3,6	1,3	0,8	1,5	NS	#	NS	>2100	E
<i>Aldehídos ramificados</i>															
3-Metil-butanal	1,3	1,4	1,4	1,3	0,5	ND	ND	1,6 ^b	3,8 ^a	0,7	NS	NS	**	654	E+T

<i>Compuestos terpénicos</i>	0,5	0,3	0,3	0,5	0,2	0,4	0,7	0,6	ND	0,3	NS	NS	NS		
β-Pineno	0,3	0,2	0,2	0,3	0,1	0,3	0,4	0,4	ND	0,2	NS	NS	NS	970	E+T
γ-Terpeno	0,2	0,1	0,1	0,2	0,1	0,2	0,3	0,2	ND	0,1	NS	NS	NS	1064	E+T
<i>Compuestos azufrados</i>	75,9	72,0	75,1	72,8	8,0	104,6 ^a	62,0 ^b	99,2 ^a	30,1 ^c	11,3	NS	NS	***		
Alil-mercaptano	70,3	66,0	69,5	66,8	7,7	97,1 ^a	56,8 ^b	92,0 ^a	26,6 ^c	11,0	NS	NS	***	600	E+T
Sulfuro de alilo y metilo + pentanal	5,2	5,6	5,4	5,4	0,5	6,6 ^a	4,7 ^b	6,7 ^a	3,5 ^b	0,7	NS	NS	**	701	E+T
Disulfuro de dialilo	0,4	0,5	0,3	0,5	0,1	0,8 ^a	0,4 ^b	0,5 ^{ab}	ND	0,2	NS	NS	#	1091	E+T
<i>Compuestos bencénicos</i>															
Fenil-acetaldehído	0,3	0,4	0,3	0,4	0,1	ND	0,6	0,8	ND	0,2	NS	NS	**	1048	E+T
<i>No identificados</i>	1,1	1,5	1,4	1,2	0,6	ND	1,3 ^{ab}	3,7 ^a	0,2 ^b	0,9	NS	NS	*		
No identificado I 45, 43(32), 41(21), 55(19), 70(18), 27(14), 29(13), 44(12)	0,3	0,3	0,4	0,2	0,1	ND	0,2 ^b	0,7 ^a	0,2 ^b	0,1	NS	NS	*	786	
No identificado II 45, 43(20), 44(15), 42(5), 46(3), 252(2), 55(20), 41(2)	0,8	1,2	1,1	1,0	0,6	ND	1,1	3,0	NC	0,9	NS	NS	#	860	
<i>Total volátiles</i>	486,2	667,6	337,4	816,3	190,3	244,7	790,9	804,8	467,2	269,1	NS	#	NS		

^s MI: Método de identificación. E, espectro de masas coincidente con el espectro de masas de la base de datos NIST/EPA/NIH98 y validado por interpretación personal del mismo. T: El TRR experimental coincidente con el TRR encontrado en la bibliografía (Kondjoyan y Berdagué, 1996; Adams, 2007; NIST, 2011).

^a P: Nivel de significación: # (tendencia estadística), P>0,1; *, P>0,05; **, P>0,01; ***, P>0,001. Ch: tipo de chorizo (Art.: artesanal e Ind.: industrial), T^a: temperatura durante el almacenamiento, t: tiempo de almacenamiento.

TRR: Índice de retención relativo experimental.

EEM: Error estándar de la media.

ND: Compuesto no cuantificado (<0,03 ng/g).

3.3. DISCUSIÓN

3.3.1. Compuestos volátiles en el espacio de cabeza de los chorizos crudo-curados

El perfil de volátiles observado en el espacio de cabeza de los chorizos estudiados está constituido por compuestos de diverso origen. Por una parte, se encuentran compuestos derivados de la oxidación de las grasas, como hidrocarburos alifáticos no terpénicos y aldehídos de cadena lineal (Frankel, 1991; Mottram, 1998). Estos compuestos han sido detectados habitualmente en embutidos fermentados (Ansorena et al., 2001; Di Cagno et al., 2008; Flores et al., 2004; Marco et al., 2008; Meynier et al., 1999; Viallon et al., 1996).

Es difícil de explicar que el pentano y el ciclopentano sean los compuestos volátiles mayoritarios en el espacio de cabeza del chorizo. En otros estudios sobre embutidos crudo-curados estos dos compuestos han sido detectados en cantidades mucho menores a las encontradas en el presente estudio y los hidrocarburos más abundantes han sido el heptano, el octano y el decano (Ansorena et al., 2001; Marco et al., 2008; Summo et al., 2010a; Sunesen et al., 2001). Se considera que el pentano es un compuesto cuantitativamente secundario de la oxidación del ácido linoleico (Frankel, 1982), por lo que la oxidación de las grasas no explica su alto contenido en las muestras analizadas. Así pues, no es desacertado pensar que el pentano y ciclopentano podrían haberse formado por otra vía, sin descartar el que sean artefactos del análisis cromatográfico (debido a degradación térmica de otros compuestos en el inyector a 260 °C) o que su identificación, de por sí difícil debido a su pequeño tamaño (bajo número de fragmentos), no se haya realizado correctamente a pesar del gran trabajo de interpretación espectral realizado para ello. En cualquier caso, los hidrocarburos alifáticos presentan umbrales de percepción aromática relativamente elevados (Drumm y Spanier,

1991), 1,4 ppm en el caso del pentano (Nagata, 2003), de modo que su influencia en el aroma del chorizo, asumiendo su presencia en las cantidades observadas, sería escasa.

Los dos aldehídos de cadena lineal más abundantes, hexanal y nonanal, son productos mayoritarios de la degradación de los ácidos linoleico y oleico, respectivamente (Frankel, 1982; Paleari et al., 2003), que a su vez son ácidos grasos abundantes en la carne y grasa de cerdo (Gandemer, 2002; Schliemann et al., 1987; Wood et al., 2008). Los aldehídos lineales poseen bajos umbrales de percepción (Drumm y Spanier, 1991; Forss, 1972) por lo que contribuirán de forma significativa en el aroma de los embutidos. El olor del hexanal ha sido descrito como a hojas verdes, a manzana caliente, picante, a coliflor, a grasa o a flores en estudios previos relativos al aroma de embutidos fermentados (Meynier et al., 1999; Schmidt y Berger, 1998b; Stahnke, 1994) y el del nonanal a hierba, a geranio, picante, a plástico, a jabón (Marco et al., 2008; Stahnke, 1994). Los resultados obtenidos concuerdan con diversos estudios sobre embutidos fermentados, en los que los aldehídos mayoritarios son también el hexanal y el nonanal (Ansorena et al., 2001; Meynier et al., 1999; Summo et al., 2010a; Sunesen et al., 2001). Sin embargo, en otros estudios, aunque el hexanal sigue siendo el aldehído mayoritario, el nonanal aparece en menor proporción, por debajo de aldehídos como el pentanal, heptanal y octanal (Edwards et al., 1999; Marco et al., 2008; Mateo y Zumalacárregui, 1996; Stahnke, 1994). Es posible que la importancia relativa de los aldehídos de más de 6 átomos de carbono esté influenciada no solo por la composición de la grasa utilizada o el tipo de embutido, sino también por el método de extracción.

Los ingredientes y especias utilizados en la formulación del chorizo aportan en gran medida su aroma característico. Los compuestos azufrados encontrados en este estudio procederían de la adición de ajo, muy rico en este tipo de compuestos (Kuo et al., 1990; Mateo y Zumalacárregui, 1996; Sunesen et al., 2001). En otros trabajos de chorizo se han detectado estos

mismos compuestos como mayoritarios (Marco et al., 2008; Mateo y Zumalacárregui, 1996; Meynier et al., 1999; Sunesen et al., 2001; Summo et al., 2010a). Los bajos umbrales de percepción de este tipo de compuestos (Boelens y Van Gemert, 1993; Mottram, 1991), y los elevados niveles detectados en las muestras, permiten suponer una fuerte influencia en el aroma del chorizo. Por otra parte, los compuestos terpénicos serían aportados principalmente por el orégano utilizado en la elaboración de chorizo. El orégano es rico en carvacrol, timol, γ -terpineno, α -terpineno, β -pineno, β -cariofileno, limoneno, p-cimeno y 1,8-cineol. (Busatta et al. 2007; Souza et al., 2008). En el chorizo se detectaron dos de esos compuestos, γ -terpineno y β -pineno. Los compuestos terpénicos influirían en el aroma del chorizo, debido a sus bajos umbrales de percepción aromática (Cometto-Muñiz et al., 1998)

Los ácidos grasos, formados a partir de procesos lipolíticos, constituyen el grupo de compuestos más abundante en el espacio de cabeza del chorizo. Los ácidos grasos mayoritarios detectados coinciden con los ácidos grasos principales de los lípidos de la carne de cerdo (Gandemer, 2002; Wood et al., 2008). En concordancia con este estudio, Ansorena et al. (2001) detectaron niveles muy elevados de los ácidos oleico, linoleico y palmítico en el perfil de volátiles del chorizo de Pamplona. Esos autores detectaron además ácidos de cadena media y pequeñas cantidades de ácidos de cadena corta. Otros estudios sobre embutidos fermentados encuentran solamente ácidos grasos de cadena entre 2 y 9 átomos de carbono (Marco et al., 2008; Mateo y Zumalacárregui, 1996; Summo et al., 2010a). Las diferencias entre estudios podrían estar relacionadas con variaciones en el método de extracción. A pesar de los altos niveles encontrados, la participación de los ácidos detectados en el aroma del chorizo no sería muy notable, por tratarse de ácidos de baja volatilidad (Dirink et al., 1997).

Además de ácidos, en el espacio de cabeza del chorizo fueron detectadas pequeñas cantidades de ésteres. Concretamente se detectaron dos

metil ésteres de los ácidos oleico y linoleico, ambos muy abundantes en las muestras de chorizo. Estos mismos ésteres fueron también detectados por Ansorena et al. (2001) en cantidades abundantes en el chorizo. Además de ésteres metílicos, en dicho estudio fueron encontrados numerosos ésteres etílicos (de entre 4 y 18 átomos de carbono). Otros estudios previos detectan únicamente ésteres etílicos, de cadena corta-media (Edwards et al., 1999; Marco et al., 2008; Mateo y Zumalacárregui, 1996; Meynier et al., 1999; Summo et al., 2010a; Viallon et al., 1996). Los ésteres podrían ser formados a partir de la reacción entre alcoholes de bajo peso molecular y ácidos orgánicos, derivados de la fermentación de carbohidratos o la actividad lipolítica (respectivamente), por la acción de esterases microbianas (Molimard y Spinnler, 1996; Bruna et al., 2001 y 2003) que están presentes en numerosas especies de levaduras, mohos y bacterias (Gatfield, 1988; Jelén y Wasowicz, 1998).

Por último fueron detectados un aldehído ramificado, 3-metil-butanal, y un compuesto bencénico, fenil-acetaldehído, derivados presumiblemente de la valina y la fenilalanina, respectivamente (Berdagué et al., 1993; Sunesen et al., 2001), mediante la reacción de Strecker no enzimática (Barbieri et al., 1992; Dirink et al., 1997; Edwards et al., 1999), que pudo tener lugar lentamente a bajas temperaturas durante la maduración y el almacenamiento de los embutidos. También se ha descrito su formación a partir de reacciones microbianas (Masson et al., 1999). Ambos compuestos han sido habitualmente detectados en los embutidos fermentados (Mateo y Zumalacárregui, 1996; Summo et al., 2010a; Sunesen et al., 2001). Estos dos compuestos influirán en el aroma del chorizo debido a sus bajos umbrales de detección y a sus aromas característicos (Pham et al., 2008). Diversos estudios relativos al aroma de embutidos atribuyen al fenil-acetaldehído notas aromáticas florales, a jacinto (Stahnke, 1999; Tabanelli et al., 2012) y al 3-metil-butanal aroma a agrío, a queso o a esmalte de uñas (Stahnke, 1994, 1995a, 1995b).

3.3.2. Efecto del tipo de chorizo y la temperatura de almacenamiento en los compuestos volátiles de los chorizos envasados al vacío

El tipo de elaboración, artesanal e industrial: el uso o no de nitritos y cultivos iniciadores y la inclusión o no de una etapa de estufaje en el proceso, ocasionó pocas diferencias estadísticamente significativas en el perfil de volátiles de los chorizos. Los compuestos azufrados y terpénicos fueron ligeramente superiores en los chorizos de elaboración artesanal. Sin embargo, aunque esta diferencia fue escasa, las consecuencias sensoriales podrían ser notables debido a las características aromáticas de este tipo de compuestos. Mateo y Zumalacárregui (1996) detectaron el doble de compuestos azufrados en chorizos elaborados artesanalmente, con respecto a chorizos procesados de forma industrial, atribuyendo esta mayor presencia a una mayor adición de ajo como ingrediente en la elaboración. Sin embargo, en nuestro estudio, se utilizó la misma cantidad de ajo y especias en ambos tipos de chorizo. La variación existente sería entonces debida a un diferente comportamiento de los compuestos azufrados y terpénicos a lo largo del almacenamiento, ocasionado posiblemente por diferencias en diversas características intrínsecas del chorizo como el pH, la microbiota, etc.

Por otra parte, se observaron escasas diferencias en relación a las dos temperaturas de almacenamiento utilizadas en el experimento (4 y 12 °C); estas dos temperaturas marcan el rango usual de almacenamiento de los chorizos envasados a vacío a nivel práctico. En general se observó una mayor cantidad de compuestos volátiles en los chorizos almacenados a 4 °C que en los almacenados a 12 °C, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas; sólo en el caso del alil-mercaptano se llegó a observar una tendencia estadística ($P \leq 0,1$). Los resultados obtenidos, como se verá a continuación, muestran un descenso progresivo del contenido de compuestos volátiles azufrados durante el almacenamiento de los chorizos envasados a vacío. Este descenso parece ser más lento a menor temperatura de

almacenamiento, lo que explica la mayor cantidad de estos compuestos en los chorizos almacenados a 4 °C, respecto a los almacenados a 12 °C.

3.3.3. Efecto de la a_w del chorizo y la presencia de CO₂ (20 %) en la atmósfera sobre los volátiles del chorizo almacenado a 12 °C

Los dos valores de a_w estudiados son valores entre los que están incluidos la mayoría de los chorizos de tipo industrial en León (Domínguez et al., 1988). El valor superior (0,88) está cercano al límite máximo (0,90) para considerar a un embutido microbiológicamente estable con independencia del pH del mismo (Feiner, 2006; Leistner, 1978). Por su parte, el valor inferior coincide con el valor medio de este tipo de chorizos (Domínguez et al., 1988). Las cantidades de volátiles detectados fueron en su mayor parte similares para los dos valores de a_w estudiados (tabla 2.39). Únicamente se observó una mayor cantidad de ácidos grasos en los chorizos de menor a_w (0,84); todos excepto el ácido linoleico que fue menor. Sin embargo, el análisis estadístico no mostró un efecto significativo de la a_w en este tipo de compuestos. Relacionado con el efecto de la a_w sobre el contenido en ácidos grasos de los chorizos, Fonseca (2009) estudió la evolución del contenido en ácidos grasos libres en la masa del chorizo durante la maduración de los mismos chorizos utilizados en este estudio, y observó un aumento significativo de los ácidos grasos libres a medida que descendió la a_w . Este incremento a medida que descende la a_w (mayor tiempo de maduración), ha sido repetidamente observado en el chorizo (Casaburi et al., 2008; Demeyer et al., 2000; Domínguez y Zumalacárregui, 1991, Marco et al., 2006) y se atribuye a procesos lipolíticos.

En el mercado se pueden encontrar chorizos envasados en AM de N₂ o de mezcla de N₂ y CO₂. El uso de CO₂ se justifica en carne fresca por su acción antimicrobiana (Silliker y Wolfe, 1980). Sin embargo, en embutidos con valores de a_w inferiores a 0,90 (como los del presente estudio) el efecto antimicrobiano no es relevante, ya que, como se dijo antes, estos valores de

a_w garantizan por sí solos la estabilidad microbiana, y el uso de CO_2 podría no ser necesario. En el presente estudio se ha encontrado que la inclusión o no de CO_2 en la atmósfera de envasado de los chorizos supuso escasas diferencias en el contenido de compuestos volátiles del espacio de cabeza (tabla 2.39). Los niveles de volátiles fueron similares entre los dos tipos de envasado estudiados, excepto en el caso de los ácidos grasos y ésteres.

En las muestras envasadas con mezcla de N_2/CO_2 (80/20 %), con respecto a las muestras envasadas sólo con N_2 , se observó una mayor cantidad de ácidos grasos y ésteres (tendencia estadística, $P<0,1$). Sin embargo, en un estudio previo realizado con las mismas muestras de chorizo, Fonseca (2009) encontró menores cantidades de ácidos grasos en la masa de los chorizos envasados con atmósfera con CO_2 . Esta aparente contradicción (más ácidos grasos libres en la masa de los chorizos envasados con CO_2 y menor cantidad de ácidos grasos en el espacio de cabeza de los mismos; y viceversa para los chorizos envasados con 100 % de N_2) se puede justificar por los fenómenos de liberación (volatilización) de los ácidos grasos de la masa al espacio de cabeza, que a su vez dependen del pH y otros efectos de la matriz. A pesar de las diferencias, como se comentó anteriormente, el alto peso molecular de ácidos y ésteres y, consecuentemente, su baja volatilidad, hace que su repercusión en el aroma sea baja (Dirink et al., 1997).

3.3.4. Efecto del tiempo de almacenamiento sobre los volátiles del chorizo

El estudio del efecto del tiempo de almacenamiento (240 días) en los volátiles del chorizo, es, de todos los factores estudiados, el de más importancia en el diseño y objetivos del presente trabajo. Durante el periodo de almacenamiento se observaron cambios significativos ($P<0,05$) o tendencias estadísticas ($P<0,1$) en muchos de los compuestos volátiles. Summo et al. (2010a) encontraron también que los cambios en los volátiles durante el almacenamiento estaban más relacionados con el tiempo que con el

tipo de atmósfera empleada. La evolución de los compuestos volátiles detectados en el chorizo mostró una coincidencia parcial para ambos experimentos (envasado a vacío o AM), pero también se apreciaron ciertas diferencias en dicha evolución atribuibles al tipo de envasado.

Los niveles de hidrocarburos alifáticos (mayoritariamente pentano) detectados en el chorizo se mantuvieron constantes durante los primeros 60 días de almacenamiento, independientemente del tipo de almacenamiento (tablas 2.38 y 2.39). Posteriormente, dichos niveles descendieron en los chorizos envasados a vacío y, por el contrario, subieron en los de AM hasta el día 150 para luego descender a los valores iniciales en el día 240. Summo et al. (2010a) encontraron que los niveles de hidrocarburos alifáticos se mantuvieron estables durante los 3 meses de almacenamiento en AM (mezcla de N₂ y CO₂) que duró el experimento, aunque el pentano descendió significativamente del día 30 al día 60 para luego mantenerse estable hasta el día 90.

La oxidación de las grasas es el principal determinante de la vida útil de los embutidos crudo-curados envasados a vacío o con AM y el alcance de dicha oxidación depende además de las características intrínsecas del chorizo, de la permeabilidad de la película de envasado (Tändler y Rödel, 1983); intermedia en el presente experimento. Durante el almacenamiento de los chorizos se ha observado que los niveles de aldehídos lineales, compuestos derivados de la oxidación lipídica, aumentaron (entre 2 y 4 veces) durante los 150 primeros días de almacenamiento y a continuación (de los 150 a los 240 días) descendieron hasta alcanzarse los niveles iniciales. No se han realizado análisis sensoriales para saber con certeza si los embutidos estaban enranciados o no. Sin embargo, cabe comentar que el olor de los mismos, evaluado a la hora de realizar los análisis, era agradable, por lo que se puede presumir que no estaban alterados.

Un incremento en las cantidades de aldehídos lineales similar o incluso superior al encontrado en el presente estudio también ha sido descrito

por otros autores (Olivares et al., 2009; Summo et al., 2010a; Valencia et al., 2006) en diversos embutidos crudo-curados envasados a vacío o AM durante periodos de almacenamiento de 60-150 días. Ninguno de esos estudios abarcó periodos de almacenamiento tan largos como el del presente trabajo, por lo que no es posible contrastar el descenso final de aldehídos lineales observado. En cualquier caso, aunque los aldehídos lineales se generan a partir de la oxidación lipídica, también desaparecen con el paso del tiempo, ya que no son estables y reaccionan con los componentes de la carne o se oxidan (Shahidi y Pegg, 1994b). Este tipo de procesos explicaría la disminución observada en la última fase del almacenamiento, donde la velocidad de formación de aldehídos se vería superada por la de desaparición. Los cambios en el contenido de aldehídos lineales podrían ser responsables de cambios sensoriales en los chorizos, dado su bajo umbral de percepción (Drumm y Spanier, 1991; Forss, 1972).

Los ácidos grasos y ésteres detectados en el chorizo aumentaron en general a lo largo del almacenamiento. La variabilidad entre muestras fue enorme, incluso dentro de los mismos grupos experimentales, lo que se traduce en elevados errores estándar de la media (tablas 2.38 y 2.39). Dicho incremento puede estar relacionado con el continuo desarrollo de la lipólisis durante el almacenamiento de los chorizos (Fonseca, 2009). La repercusión de los ácidos grasos en el aroma de los chorizos no será muy notable dada su baja volatilidad (Dirink et al., 1997).

El 3-metil-butanal y el fenil-acetaldehído son compuestos derivados del catabolismo aminoacídico y con bajo umbral de percepción (Pham et al., 2008). Durante el almacenamiento de los chorizos, estos compuestos no fueron detectados hasta los 60 y 150 días y, posteriormente, en función del tipo de compuesto o envasado, o bien su cantidad aumentó o disminuyó. En otros estudios se observaron comportamientos diferentes para estos dos compuestos. Concretamente, Sunesen et al. (2001), Summo et al. (2010a) y Olivares et al. (2010) coinciden en observar un descenso en el 3-metil-butanal

en los embutidos durante 20-90 días de almacenamiento; sin embargo, en estos estudios el fenil-acetaldehído aumentó, se mantuvo constante o no fue detectado.

Los compuestos terpénicos se detectaron en muy pequeña cantidad al inicio del almacenamiento y, hacia la mitad o final del mismo dejaron de detectarse. El descenso en estos compuestos durante el almacenamiento de embutidos crudo-curados ha sido descrito también en el trabajo de Summo et al. (2010a), en el que se atribuye ese descenso a la descomposición de estos compuestos debido a reacciones de oxidación.

Las cantidades de compuestos azufrados al final del almacenamiento, con independencia del tipo de envasado, fueron inferiores a las iniciales. Este descenso fue progresivo en los chorizos envasados al vacío, mientras que en los envasados en AM se observó un descenso en el día 60, repunte a los 150 y un descenso final muy acusado. Los compuestos azufrados del chorizo experimentaron importantes cambios durante su maduración lo que concuerda con lo encontrado en estudios anteriores (Mateo y Zumalacárregui, 1996; Summo et al., 2010a). Debido a sus bajos umbrales de percepción, los cambios en los compuestos azufrados implicaran cambios apreciables en el aroma (Boelens y Van Gemert, 1993; Mottram, 1991).

5. CONCLUSIONES

El perfil de volátiles del espacio de cabeza de los chorizos crudo-curados está constituido mayoritariamente por compuestos derivados de procesos lipolíticos durante la maduración del chorizo, productos derivados de la oxidación de las grasas y compuestos derivados de la utilización de ajo como ingrediente característico. Muchos de estos compuestos, dado su bajo umbral de percepción tienen que tener influencia en el aroma de los chorizos, por lo que su mayor o menor presencia o cambios durante el almacenamiento condicionará la calidad sensorial final del producto.

Los volátiles con mayores variaciones durante el almacenamiento del chorizo fueron compuestos derivados de los procesos de oxidación, de reacciones lipolíticas y los derivados del ajo. Los primeros experimentan un incremento moderado en su concentración durante la mayor parte del almacenamiento aunque al final descienden; la concentración de los segundos aumenta durante el almacenamiento; los terceros presentan una disminución en sus niveles a medida que pasa el tiempo.

El número de compuestos volátiles detectados en el espacio de cabeza es menor que los detectados en otros estudios de embutidos, incluidos los chorizos, que utilizan otras técnicas de extracción que incluyen la concentración de volátiles. Por este motivo se puede suponer que hay una serie de compuestos volátiles que pueden influir en el aroma del chorizo que no se detectan por este método.

La diferencia principal del tipo de chorizo en los cambios de los volátiles durante el almacenamiento consiste en que en los chorizos artesanales los compuestos azufrados experimentan un menor descenso que en los industriales. La evolución del contenido en volátiles del espacio de cabeza del chorizo tampoco parece estar demasiado influenciada por los otros factores: temperatura de almacenamiento, a_w , presencia de CO_2 en la atmósfera. Tal vez esta falta de influencia se pueda atribuir a la estabilidad a los procesos enzimáticos y crecimiento microbiológico que confiere a los chorizos su baja a_w ($\leq 0,88$) y a la protección frente a la oxidación e intercambio gaseoso debida a la impermeabilidad de la película de envasado.

6. BIBLIOGRAFÍA

Adams, R. P. (2007). Alphabetical listing of compounds with their retention time and arithmetic retention index on DB-5. En: Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, 4th Ed. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois, EEUU.

- Adams, M. R. (1986).** Fermented fresh foods. En: *Progress in industrial microbiology*. Coord. Adams, M. R. Elsevier, Ámsterdam, Holanda. Págs. 159-198.
- Aguirrezábal, M. (1993).** Influencia de diversos ingredientes en el proceso madurativo del chorizo. Tesis doctoral. Universidad de León. España.
- Anónimo (1983).** Catálogo de embutidos y jamones curados de España. Servicio de Publicaciones del Ministerio de Agricultura Pesca y Alimentación, Madrid, España.
- Ansorena, D., Gimeno, O., Astiasarán, I., Bello, J. (2001).** Analysis of volatile compounds by GC±MS of a dry fermented sausage: chorizo de Pamplona. *Food Research International*, 34, 67-75.
- Astiasarán, I., Villanueva, R., Bello, J. (1990).** Analysis of proteolysis and protein insolubility during the manufacture of some varieties of dry sausages. *Meat Science*, 28, 111-117.
- Bacus, J. N. (1984a).** Historical perspective: Utilization of Microorganisms in Meat Processing. En: Research Studies Press. Elsevier Science, Londres, Reino Unido. Págs. 1-14.
- Bacus, J. (1984b).** Meat fermentation. *Food Technology*, 38, 59-63.
- Bailey, M. E., Rourke, T. J., Gutheil, R. A., Wang, C. Y. J. (1992).** Undesirable flavours of meat. En: *Off-Flavours in food and beverages*. Ed. Charalambous, G. Elsevier Science. Amsterdam, Holanda. Págs. 127-159.
- Baldini, P., Cantón, E., Colla, F., Diaferia, C., Gabba, L., Spotti, E., Marchelli, R., Dossena, A., Virgili, 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 thermohygro-metric conditions on microbial, chemical and physico-chemical characteristics. *Food Research International*, 33, 161-179.
- Barbieri, G., Bolzoni, L., Parolai, G., Virgili, R., Buttini, R., Careri, M. (1992).** Flavour compounds of dry-cured ham. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40, 2389-2394.

- Barbut, S., Josephson, D. B., Maurer, A. J. (1985).** Antioxidant properties of rosemary oleoresin in turkey sausage. *Journal of Food Science*, 50, 1356-1359.
- Berdagué, J. L., Monteil, P., Montel, M. C., Talon, R. (1993).** Effects of starter cultures on the formation of flavour compounds in dry sausage. *Meat Science*, 35, 275-287.
- Berger, R G., Macku, C., German, J. B., Shibamoto, T. (1990).** Isolation and identification of dry salami volatiles. *Journal of Food Science*, 55, 1239-1242.
- Beriain, M. J., Chasco, M. J., Lizaso, G. (2000a).** Relationship between biochemical and sensory quality characteristics of different commercial brands of salchichón. *Food Control*, 11, 231-237.
- Beriain, M. J., Lizaso, G., Chasco, J. (2000b).** Free aminoacids and proteolysis involved in “salchichón”. Processing. *Food Control*, 11, 41-47.
- Blank, I., Devaud, S., Fay, L. B., Cerny, C., Steiner, M., Zurbriggen, B. (2001).** Odor-active compounds of dry-cured meat: Italian-type salami and Parma ham. En: *Aroma-active compound in foods. Chemistry and sensory properties*. Eds. Takeoka, G. R., Güntert, M., Engel, K. H. American Society, Washington. Págs. 9-20.
- Boelens, M. H., van Gemert, L. J. (1993).** Volatile character-impact sulphur compounds and their sensory properties. *Perfumer and Flavorist*, 18, 29-37.
- Bruna, J. M., Fernández, M., Hierro, E. M., Ordóñez, J. A., de la Hoz, L. (2000).** Improvement of the sensory properties of dry fermented sausages by the superficial inoculation and/or the addition of intracellular extracts of *Mucor racemosus*. *Journal of Food Science*, 65, 731-738.
- Bruna, J. M., Hierro, E. M., de la Hoz, L., Mottram, D. S., Fernández, M., Ordóñez, J. A. (2001).** The contribution of *Penicillium aurantiogriseum* to the volatile composition and sensory quality of dry fermented sausages. *Meat Science*, 59, 97-107.
- 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.

Busatta, C., Mossi, A. J., Rodrigues, M. R. A., Cansian, R. L., de Oliveira, J. V. (2007). Evaluation of *origanum vulgare* essential oil as antimicrobial agent in Sausage. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38, 610-616.

di Cagno, R., Chaves-López, C., Tofalo, R., Gallo, G., de Angelis, M., Paparella, A., Hammes, W. P., Gobbetti, M. (2008). Comparison of the compositional, microbiological, biochemical and volatile profile characteristic of three Italian PDO fermented. *Meat Science*, 79, 224-235.

Calkins, C. R., Hodgen, J. M. (2007). A fresh look at meat flavor. *Meat Science*, 77, 63-80.

de Campos, R. M. L., Hierro, E., Ordóñez, J. A., Bertol, T. M., Terra, N. N., de la Hoz, L. (2007). Fatty acid and volatile compounds from salami manufactured with yerba mate (*Ilex paraguariensis*) extract and pork back fat and meat from pigs fed on diets with partial replacement of maize with rice bran. *Food Chemistry*, 103, 1159-1167.

Cantoni, C., Molnar, M.R., Renon, P., Giolitti, G. (1966). Investigations on the lipids of dry fermented sausages. En: *Proceedings of the 12th European Meeting in Meat Research Workers*. Oslo, Suecia. No. E4.

Carballo, J., Jiménez, F. (2001). Refrigeración y congelación de carne y productos cárnicos. En: *Enciclopedia de la carne y de los productos cárnicos*. Coord. Bejarano, S.M. Ediciones Martín & Macías, Madrid, España.

Careri, M. Mangia, A., Barbieri, G., Bolzoni, L., Virgili, R., Parolari, G. (1993). Sensory property relationship to chemical data of Italian type dry-cured ham. *Journal of Food Science*, 58, 968-972.

Casaburi, A., Aristoy, M. C., Cavella, S., di Monaco, 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.

- Casaburi, A., di Monaco, R., Cavella, S., Toldrá, F., Ercolini, D., Villani, F. (2008).** Proteolytic and lipolytic starter cultures and their effect on traditional fermented sausages ripening and sensory traits. *Food Microbiology*, 25, 335–347
- Chasco, J., Beriain, M. J., Bello, J. A. (1993).** Study of changes in the fat content of some varieties of dry sausage during the curing process. *Meat Science*, 34, 191-204.
- 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.
- Cometto-Muñiz, J. E., Cain, W. S., Abraham, M. H., Kumarsingh, R. (1998).** Trigeminal and olfactory chemosensory impact of selected terpenes. *Pharmacology Biochemistry Behavior*, 60, 765–770
- Comi, G., Urso, R., Lacumin, L., Rantsiou, 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.
- Croizet, F., Denoyer, C., Tran, N., Bergagué, J. L. (1992).** Les composés volatils du saucisson sec. Evolution au cours de la maturation. *Viandes et Produits Carnes*, 13, 167-170.
- Dainty, R., Blom, H. (1995).** Flavour chemistry of fermented sausage. En: *Fermented Meats*. Eds. Campbell-Platt, G., Cook, P. E. Blackie Academic & Professional, Glasgow, Reino Unido. Págs. 176-192.
- DeKetelaere, A., Demeyer, D. I., Vanderkerhove, P., Verveake, L. (1974).** Stoichiometry of carbohydrate fermentation during dry sausage ripening. *Journal of Food Science*, 39, 297– 300.
- DeMasi, 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 sausages. *Meat Science*, 27, 1-12.

- Demeyer, D., Blom, H., Hinrichsen, L., Johansson, G., Molly, K., Montel, C., Pérez-Martínez, G., Sandtorv, B. F., Talon, R., Verplaetse, A., VanCleemput, I. (1995).** Interaction of lactic acid bacteria with muscle enzymes for safety and quality of fermented meat products. En: *Proceedings of lactic acid bacteria conference*. Cork, Ireland. Págs. 1-18.
- Demeyer, D., Hooze, J., Mesdom, H. (1974).** Specificity of lipolysis during dry sausage Ripening. *Journal of Food Science*, 39, 293–296.
- Demeyer, M., Raemakers, A., Rizzo, A., Holck, A., de Smedt, B., Brink, B., Hagen, C., Montel, E., Zanardi, E., Murbrek, F., Leroy, F., Vandendressche, K., 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.
- Díaz-Maroto, M. C., Pérez-Coello, M. S. (2006).** Análisis de los compuestos responsables del aroma de las especias. *Análisis químico*, 102(3), 31-35.
- Dierick, N., Vanderkerkhove, P., Demeyer, D. (1974).** Changes in non-protein nitrogen compounds during dry sausage ripening. *Journal of Food Science*, 39, 301-304.
- Dirinck, P., Van Opstaele, F., Vandendriessche, F. (1997).** Flavour differences between northern and southern European cured hams. *Food Chemistry*, 59, 511-521.
- Domínguez, M. C. (1988).** Evolución de determinados parámetros proteolíticos y lipolíticos durante la maduración del chorizo elaborado en la provincia de León; aportaciones a su caracterización. Tesis doctoral. Universidad de León. España.
- Domínguez, M. C., Zumalacárregui, J. M. (1991).** Lipolytic and oxidative changes in “Chorizo” during ripening. *Meat Science*, 29, 99-107.
- Domínguez, M. C., Ferré, C., Zumalacárregui, J. M. (1988).** Aportaciones a la caracterización del chorizo elaborado en la provincia de León: parámetros químicos y físico-químicos, *Alimentaria*, Vol. 198. Págs.19-23.

- Drumm T. D., Spanier, A. M. (1991).** Changes in the content of lipid autoxidation and sulfur-containing compounds in cooked beef during storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 39, 336-343.
- Durá, M. A., Flores, M., Toldrá, F. (2004).** Effect of *Debaromyces spp.* on aroma formation and sensory quality of dry-fermented sausages. *Meat Science*, 68, 439-446.
- 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.
- Elmore, J. S., Mottram, D. S., Enser, M., Wood, J. D. (2000).** The effects of diet and breed on the volatile compounds of cooked lamb. *Meat Science*, 55, 149-159.
- Escartín, 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.
- Feiner, G. (2006).** Meat products handbook. Woodhead Publishing limited. Cambridge, Reino Unido.
- Fernández-Fernández, E., Rozas-Barrero, J., Romero-Rodríguez, M. A., Vázquez-Odériz, M. L. (1997).** Changes in the physicochemical properties and organoleptic quality of Galician chorizos during curing and alter vacuum-packing. *Food Chemistry*, 60, 555-558.
- Fernández-Fernández, E., Romero-Rodríguez, M. A., Vázquez-Odériz, M. L. (2001).** Physicochemical and sensory properties of Galician chorizo sausage preserved by refrigeration, freezing, oil-immersion, or vacuum-packing. *Meat Science*, 58, 99-104.

- Fernández-Fernández, E., Vázquez-Odériz, M. L., Romero-Rodríguez, M. A. (2002).** Sensory characteristics of Galician chorizo sausage packed under vacuum and under modified atmosphere. *Meat Science*, 62, 67-71.
- Fernández-Fernández, E., Vázquez-Odériz, M. L., Romero-Rodríguez, M. A. (2005).** Changes in sensory properties of Galician chorizo sausages preserved by freezing, oil immersion and vacuum packing. *Meat Science*, 70, 223-226.
- Flores, M. (2010).** Flavor of meat products. En: *Sensory analysis of foods of animal origin*. Eds. Nollet, L. M. L., Toldrá, F., Taylor & Francis. Boca Ratón, Florida, EEUU.
- Flores, J., Bermell, S. (1995).** Curado de embutidos. Consecuencias de la acidificación y factores que afectan. *Fleischwirtsch*, Español, 2, 22-26.
- Flores, M., Durá, M-A., Marco, A., Toldrá, F. (2004).** Effect of *Debaromyces spp.* On aroma formation and sensory quality of dry-fermented sausages. *Meat Science*, 68, 439-446.
- 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.
- Forss, D. A. (1972).** Odor and flavor compounds from lipids. *Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids*, 13, 177-258.
- Forsythe, S. J., Hayes, P. R. (2007).** Higiene de los alimentos, microbiología y HACCP. Editorial Acribia, Zaragoza, España.
- Frankel, E. N., (1982).** Volatile lipid oxidation products. *Progress in Lipid Research*, 22, 1-33.
- Frey, W. (1985).** Fabricación fiable de embutidos. Editorial Acribia. Zaragoza, España.
- Gandemer, G. (2002).** Lipids in muscles and adipose tissues, changes during processing and sensory properties of meat products. *Meat Science*, 62, 309-321.

- 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., 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.
- Gatfield, I. L. (1988).** Production of flavour and aroma compounds by biotechnology. *Food Technology*, 42, 110-123.
- Gill, C.O. (1976).** Substrate limitation of bacterial growth at meat surfaces. *Journal of Applied Bacteriology*, 41, 401-410.
- Gimeno, O., Ansorena, D., Astiasarán, I., Bello, J. (2000).** Characterization of chorizo de Pamplona: instrumental measurements of colour and texture. *Food Chemistry*, 69, 195-200.
- Gokalp, H. Y. (1986).** Residual NO^3^- , NO^2^- and TBA values of Turkish soudjouk manufactured by adding different starter cultures and using different ripening temperatures. *Journal of Food Technology*, 21, 615-625.
- Gómez, M., Lorenzo, J. M. (2012).** Effect of packaging conditions on shelf-life of fresh foal meat. *Meat Science*, 91, 513-520.
- González-Tenorio, R. (2011).** Evaluación de diversas características responsables de la calidad de los chorizos elaborados en México. Tesis Doctoral. Universidad de León. España.
- Guerrero, I., Osborne, W. R., Ashton, G. C. (1988).** Extending the Retail Storage Time of Pork Sausage using Modified Atmospheres and Freezing. *Meat Science*, 23, 21-36.
- Gray, K. I., Monahan, F. J. (1992).** Measurement of lipid oxidation in meat and meat products. Review. *Trends in Food Science and Technology*, 3, 315-319.
- Halvarson, H. (1973).** Formation of lactic acid, volatile fatty acids and neutral, volatile monocarbonyl compounds in Swedish fermented sausage. *Journal of Food Science*, 38, 310-312.

- Han, J. H., Zhang, Y., Buffo, R. (2005).** Surface chemistry of food, packaging and biopolimer materials. En: *Innovations in food packaging*. Ed. Han, J. H. Elsevier Academic Press, Amsterdam, Holanda. Págs. 45-57.
- Hansen, M., Feilberg, A., Adamsen, A. (2010).** Stability of volatile reduced sulphur compounds in the dilution system of an olfactometer. *Chemical engineering transactions*, 23, 67-72.
- Hanum, T., Sinha, N. K., Guyer, D. E., Cash, J. N. (1995).** Pyruvate and flavor development in macerated onions (*Allium cepa L.*) by α -glutamyl transpeptidase and exogenous C-S lyase. *Food Chemistry*, 54, 183-188.
- Henriksen, A. P., Stahnke, L. H. (1997).** Sensory and chromatographic evaluations of water soluble fractions from dried sausages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45, 2679-2684.
- 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.
- Hinrichsen, L. L., Pedersen, S. B. (1995).** Relationship among flavour, volatile compounds, chemical changes, and the microflora in Italian-type dry-cured ham using processing. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 43, 2932-2940.
- Hirasa, K., Takemasa, M. (2002).** Ciencia y tecnología de las especias. Acribia. Zaragoza.
- Honikel, K. O. (2008).** The use and control of nitrate and nitrite for the processing of meat products. *Meat Science*, 78, 68-76.
- Hughes, M. C., Kerry, J. P., Arendt, E. K., Kenneally, P. M., Mc Sweeney, P. L., O'Neill, E. (2002).** Characterization of proteolysis during the ripening of semi-dry fermented sausages. *Meat Science*, 62, 205-216.
- Incze, K. (1992).** Raw fermented and dried meat products. *Fleischwirtsch*, 72, 1, 58-62.
- Järvenpää, E. P., Zhang, Z., Huopalahti, R., King, J. W. (1998).** Determination of fresh onion (*Allium cepa L.*) volatiles by solid phase microextraction

combined with gas chromatography-mass spectrometry. *Z Lebensm Unters Forsch A*, 207, 39-43.

- Jelen, H., Wasowicz, E. (1998).** Volatile fungal metabolites and their relation to the spoilage of agricultural commodities. *Food Review International* 14, 331-426.
- 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 xylosus* as starter cultures. *Meat Science*, 38, 203-218.
- Kandem, S. S., Patrignani, F., Guerzoni, M. E. (2007).** Shelf life and safety characteristics of Italian Toscana traditional fresh sausage (Salsiccia) combining two commercial ready-to-use additives and spices. *Food Control*, 18, 421-429.
- Kandler, O. (1983).** Carbohydrate metabolism in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 49, 209– 224.
- Kato, H., Rhue, M. R., Nishimura, T. (1989).** Role of free amino acids and peptides in food taste. En: *Flavor chemistry: Trends and developments*. Eds. Teranishi, R. Buttery, R. G. F., Shahidi, F. DC: American Chemical Society, Washington, EEUU. Págs. 158-174.
- Kenneally, P. M., Fransen, N. G., Grau, H., O'neil, E. E., Arendt, E. K. (1999).** Effects of environmental conditions on microbial proteolysis in a pork myofibril model system. *Journal of Applied Microbiology*, 87, 794–803.
- 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.
- Labuza, T. P. (1982).** Shelf life dating of foods. En: Food and Nutrition Press. Westport, Connecticut, EEUU.
- Ladikos, D., Lugovois, V. (1990).** Lipid Oxidation in Muscle Foods: a Review. *Food Chemistry*, 54, 295-314.

- Leistner, L. (1978).** Microbiology of ready-to-serve foods. *Fleischwirtschaft*, 58, 2008-2011.
- Leistner, L. (1990).** Microbiologia durante a fermentação e maturação de produtos crus. En: Aplicação da biotecnologia em produtos cárneos. Ed. Silva, R. Z. M. ITAL, Campinas, Brasil. Págs. 127-150.
- 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. (1995).** Stable and safe fermented sausages world-wide. Cap. 7. En: *Fermented meats*. Coord. Campbell Platt, Cook, P.F. Blackie Academic & Profesional, 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. *Fleischwirtschafft español*, 2, 42-48.
- Lizaso, G., Chasco, J., Beriain, M. J. (1999).** Microbiological and biochemical changes during ripening of salchichón, a Spanish dry cured sausage. *Food microbiology*, 16, 219-228.
- Liu, D-C., Tsau, R-T., Lin, Y-C., Jan, S-S. Tan, F-J. (2009).** Effect of various levels of rosemary or Chinese mahogany on the quality of fresh chicken sausage during refrigerated storage. *Food Chemistry*, 117, 106-113.
- Löliger, J. (1990).** Headspace gas analysis of volatile hydrocarbons as a tool for the determination of the state of oxidation of foods stored in sealed containers. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 52, 119-128.
- Lois, A. L., Gutiérrez, L. M., Zumalacárregui, J. M., López, A. (1987).** Changes in several constituents during the ripening of Chorizo - a Spanish dry sausage. *Meat Science*, 19, 169-177.
- Lücke, F. K. (1985).** Fermented sausages. En: *Microbiology of fermented foods*. Vol.2. Ed. Wood B. J. B. Elsevier Applied Science, London, Reino Unido. Págs. 41-83.

- Luzón-Merino, F., Martín-Bejarano, S. (2001).** Embutidos crudo curados. En: *Enciclopedia de la carne y los productos cárnicos*. Coord. Martín Bejarano. M&M, Plasencia, España. Págs. 1090-1162.
- Machiels, D., Istasse, L., van Ruth, S. M. (2004).** Gas chromatography-olfactometry analysis of beef meat originating from differently fed Belgian Blue, Limousin and Aberdeen Angus bulls. *Food Chemistry*, 86, 377-383.
- Machiels, D., van Ruth, S. M., Posthumus, M. A., Istasse, L. (2003).** Gas chromatography-olfactometry analysis of the volatile compounds of two commercial Irish beef meats. *Talanta*, 60, 755-764.
- Masson, F., Hinrichsen, L., Talon, R., Montel, M. C. (1999).** Factors influencing leucine catabolism by a strain of *Staphylococcus carnosus*. *International Journal of Food Microbiology*, 49, 173-178.
- Marco, A., Navarro, J. L., Flores, M. (2004).** Volatile compounds of dry-fermented sausages as affected bay solid-phase microextraction (SPME). *Food Chemistry*, 84, 633-641.
- Marco, A., Navarro, J. L., Flores, M. (2006).** The influence of nitrite and nitrate on microbial, chemical and sensory parameters of slow dry fermented sausage. *Meat Science*, 73, 660-673.
- Marco, A., Navarro, J. L., Flores, M. (2008).** The quality of dry fermented sausages as affected by fermentation stage and curing agents. *European Food Research and Technology*, 226, 449-458.
- Martinez, L., Djenane, D., Cilla, I., Beltrán, J. A., Roncales, P. (2005).** Effect of different concentrations of carbon dioxide and low concentration of carbon monoxide on the shelf-life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere. *Meat Science*, 71, 563-570.
- Martinez, L., Djenane, D., Cilla, I., Beltrán, J. A., Roncales, P. (2006).** Effect of varying oxygen concentrations on the shelf-life of fresh pork sausages packaged in modified atmosphere. *Food Chemistry*, 94, 219-225.
- Masson, F., Hinrichsen, L., Talon, R., Montel, M. C. (1999).** Factors influencing leucine catabolism by a strain of *Staphylococcus carnosus*. *International Journal of Food Microbiology*, 49, 173-78.

- Mastromatteo, M., Incoronato, A. L., Conte, C., del Nobile, M. A. (2011).** Shelf life of reduced pork back-fat content sausages as affected by antimicrobial compounds and modified atmosphere packaging. *International Journal of Food Microbiology*, 150, 1-7.
- Mateo, J., (1995).** Estudio de los compuestos responsables del flavor del chorizo. Tesis doctoral. Universidad de León. España.
- Mateo, J., Aguirrezábal, M. Domínguez, C., Zumalacárregui, J. M. (1997).** Volatile Compounds in Spanish Paprika. *Journal of Food Composition and Analysis*, 10, 225-232.
- 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. (1996).** Volatile compounds in chorizo and their changes during ripening, *Meat Science*, 44, 255-273.
- Melton, S. L. (1983).** Methodology for following lipid oxidation in muscle foods. *Food Technology*, 37, 105-111, 116.
- Meynier, A., Novelli, E., Chizzolini, R., Zanardi, E., Gandemer, G. (1999).** Volatile compounds of commercial Milano salami. *Meat Science*, 51, 175-183.
- Molimard, P., Spinnler, H. E. (1996).** Compounds involved in the flavour of surface mold-ripened cheeses: Origins and properties. *Journal of Dairy Science*, 79, 169-184.
- 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.
- 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.

- Montel, M. C., Masson, F., Talon, R. (1998).** Bacterial role in flavour development. *Meat Science*, 49, 111-123.
- 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 Sicilian salami ripened in different conditions. *Meat Science*, 66, 845-854.
- Mottram, D. S. (1991).** Meat. En *Volatile Compounds in Foods and Beverages*. Ed. Maarse, H. Marcel Dekker, New York, EEUU. Págs. 107-177.
- Mottram, D. S. (1998).** Flavour formation in meat and meat products: a review. *Food Chemistry*, 62, 415-424.
- Mottram, D. S., Madruga, M. S. (1994).** Important sulfur containing aroma volatiles in meat. En: *Sulfur compounds in foods*. ACS symposium series. Vol. 564. Eds. Mussinan, J. C., Keelan, M. E. American Chemical Society. Washington, DC. Págs. 180-087.
- Nagata, Y. (2003).** Measurement of odor threshold by triangle odor bag method. En: *Odor Measurement Review*. Ministerio de Medio Ambiente, Japón. Págs. 118-127.
- Nagy, A., Mihály, V., Incze, K. (1989).** Ripening and storage of Hungarian salami. Chemical and organoleptic changes. *Fleischwirtschaft*, 69, 587-588.
- NIST (2011).** NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69, Eds. P.J. Linstrom and W.G. Mallard, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, EEUU. Disponible en internet: <http://webbook.nist.gov>, consultado en enero de 2012.
- Nottingham, P. M. (1982).** Microbiology of carcass meats. En: *Meat microbiology*. Ed. Brown, M. H. Applied Science Publishers. Londres, Reino Unido. Págs. 13-65.
- Nychas, G-J. E., Skandamis, P. N., Tassou, C. T., Koutsoumanis, K. P. (2008).** Meat spoilage during distribution. *Meat Science*, 78, 77-89.

- Olesen, P. T., Meyer, A. S., Stahnke, L. H. (2004).** Generation of flavour compounds in fermented sausages—the influence of curing ingredients, *Staphylococcus* starter culture and ripening time. *Meat Science*, 66, 675-687.
- Olivares, A., Navarro, J. L., Flores, M. (2009).** Distribution of volatile compounds in lean and subcutaneous fat tissues during processing of dry fermented sausages. *Food Research International*, 42, 1303-1308.
- 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., Hoz, L. (1999).** Changes in the components of dry fermented sausages during ripening. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 39, 329-367.
- Palumbo, S. A., Smith, J. L. (1977).** Chemical and microbiological changes during sausage fermentation and ripening. En: *Enzymes in Food and Beverage Processing*. Eds. Ory, L., Angelo, J. S. T. ACS Symposium series, No. 47. Págs. 279-294.
- Palcari, M. A., Moretti, M., Beretta, G., Mentasti, T., Bersani, C. (2003).** Cured products from different animal species. *Meat Science*, 63, 485-489.
- Panseri S., Duchini M., Chiesa L.M., Biondi P.A., Cantoni C. (2007).** Archivos del Congreso de la Associazione Italiana Veterinari Igienisti (AIVI). Disponible en internet: <http://aivi.it/atti2007.php>, consultado en enero de 2012.
- Pearson, A. M., Tauber, F. W. (1984).** Processed meats (2nd ed.). En: AVI Publishing. Westport, Connecticut, EEUU.
- 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.
- Pham, A. J., Schilling, M. W., Mikel, W. B., Williams, J. B., Martin, J. M., Coggins, P. C. (2008).** Relationships between sensory descriptors, consumer acceptability and volatile flavor compounds of American dry-cured ham. *Meat Science*, 80, 728-737.

- Prändl, O., Fischer, A., Schmidhoffer, T., Snel, H.-J. (1994).** Tecnología e higiene de la carne. Acribia, Zaragoza, España.
- Real Decreto 1043/1973 (1973).** Normalización de productos ganaderos. BOE nº 135 de 4 de Junio de 1973, 1106-1128.
- 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 Nº 273, de 14 de Noviembre de 2003, 40094-40101.
- Resconi, V. C., Campo, M. M., Montossi, F., Ferreira, V., Sañudo, C., Escudero, A. (2010).** Relationship between odour-active compounds and flavour perception in meat from lambs fed different diets. *Meat Science*, 85, 700-706.
- Rhee, K. S. (1989).** Chemistry of meat flavor. En: *Flavor chemistry of lipid foods*. Eds. Min, D. B., Smouse, T. H. AOCS, Champaign, Illinois, EEUU. Pág. 462.
- Roncalés, P. (1995).** Tecnología, cambios bioquímicos y calidad sensorial, de los embutidos curados. *Alimentación, Equipos y Tecnología*, 14, 73-82.
- Roseiro, L. C., Santos, C., Sol, M., Borges, M. J., Anjos, M., Gonçalves, H., Carvalho, A. S. (2008).** Proteolysis in *Painho de Portalegre* dry fermented sausage in relation to ripening time and salt content. *Meat Science*, 79, 784-794.
- 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.
- Schliemann, J., Wolm, G., Schrodter, R., Ruttloff, H. (1987).** Chicken flavor-formation, composition and production. Part 1. Flavor precursors. *Nahrung*, 31, 47-56.
- Schmidt, S., Berger, R. C. (1998a).** Microbially formed aroma compounds during the maturation of dry fermented sausage (salami). *Advances in Food Sciences*, 20, 144-152.

- Schmidt, S., Berger, R. (1998b).** Aroma compounds in fermented sausages of different origins. *Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie*, 31, 559-567.
- Seco, F. (1987).** Estudio de los principales grupos de microorganismos durante la maduración del chorizo de León. Tesina. Universidad de León. España.
- Selgas, M. D., García, M. L., García de Fernando, G. D., Ordóñez, J. A. (1993).** Lipolytic and proteolytic activity of *Micrococci* isolated from dry fermented sausages. *Fleischwirtschaft*, 73, 1164-1170.
- Shahidi, F. (1989).** Flavor of cooked meat. En: Flavor chemistry trends and developments. Eds. Teranishi, R., Buttery, R. G., Shahidi, F. American Chemical Society. Washington, DC. Págs. 188-201.
- Shahidi, F., Pegg, R. B. (1992).** Nitrite-free meat curing systems: Update and review. *Food Chemistry*, 43, 185-191.
- Shahidi, F., Pegg, R. B. (1994a).** Hexanal as an indicator of the flavor deterioration of meat and meat products. En: *Lipids in Food Flavors*. ACS Symposium Series, Vol. 558. Ed. Ho, C. T., Hartman, T. G. American Chemical Society. Washington, DC, EEUU. Págs. 256-279.
- Shahidi, F., Pegg, R. B. (1994b).** Hexanal as an indicator or meat flavour deterioration. *Journal of Food Lipids*, 1, 177-186.
- Shay, B. J., Egan, A. F. (2004).** [En línea]: <The packaging of processed meats. CSIRO Division of Food Processing. En: *Meat Research Laboratory*. http://meatupdate.csiro.au/data/Meat_products_04-88.pdf > (Consultado: Enero, 2012).
- Silliker, J. H., Wolfe, S. K. (1980).** Microbiological safety considerations in controlled-atmosphere storage of meats. *Food Technology*, 34, 59-63.
- Singh, R. P. (1996).** Scientific principles of shelf life evaluation. En: *Shelf life evaluation of foods*. Eds. Man, C. M. D., Jones, A. A. Chapman & Hall, Suffolk, Reino Unido. Págs. 3-26.
- Skibsted, L. H. (1996).** Chemical changes in meat and meat products during storage, transportation and retail display—theoretical considerations. En: *Meat*

quality and meat packaging. Eds. S. A. Taylor, A. Raimundo, M. Severini, F. J. M. Smulders. Utrecht, Holanda. Págs. 169-181.

Skibsted, L. H., Bertelsen, G., Quist, S. (1994). Quality changes during storage of meat and slightly preserved meat products. En: Proceedings of 40° IcoMST, La haya, Holanda. Documento S-II, MP1.

Smit, B. A., Engels, W. J. M., Smit, G. (2009). Branched chain aldehydes: production and breakdown pathways and relevance for flavour in foods. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 81, 987-999.

Smith, J. P., Ramaswami, H. S., Simpson, B. K. (1990). Developments in food packaging technology. Part II: Storage aspects. *Trends in Food Science and Technology* November, 11-18

de Souza, E. L., Stamford, T. L. M., Lima, E. O., Barbosa-Filho, J. M., Marques, M. O. M. (2008). Interference of heating on the antimicrobial activity and chemical composition of *Origanum vulgare* L. (Lamiaceae) essential oil. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 28, 418-422.

Spaziani, M., del Torre, M., Stecchini, M. L. (2009). Changes of physicochemical, microbiological, and textural properties during ripening of Italian low-acid sausages. Proteolysis, sensory and volatile profiles. *Meat Science*, 81, 77-85.

Stahnke, L. H. (1994). Aroma components from dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosus*. *Meat Science*, 38, 39-53.

Stahnke, L. H. (1995a). Dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosus* at different temperatures and with different ingredient levels. Part II. volatile components. *Meat Science*, 41, 193-209.

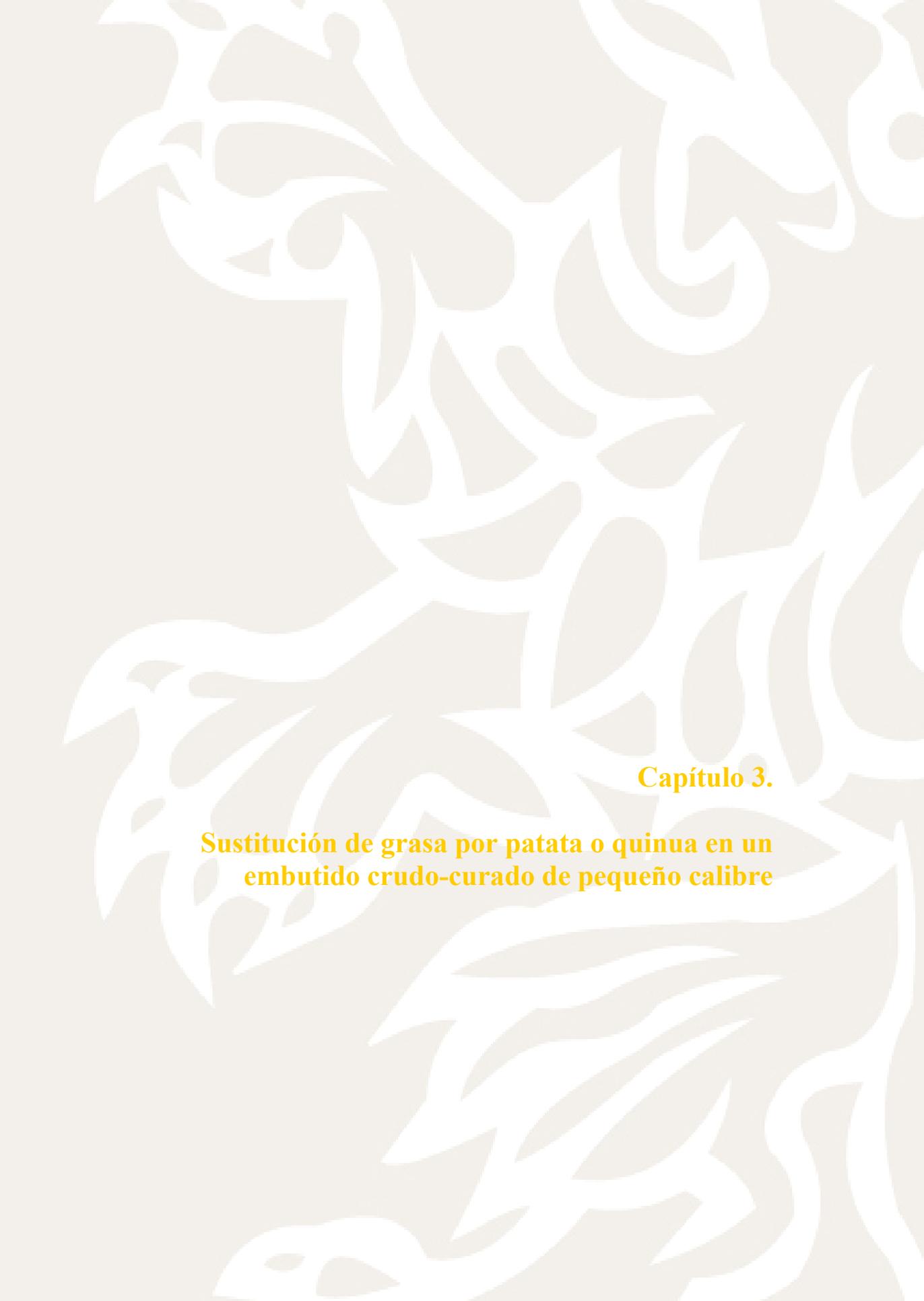
Stahnke, L. H. (1995b). Dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosus* at different temperatures and with different ingredients levels. Part III. Sensory evaluation. *Meat Science*, 41, 211–223.

Stahnke, L. H. (1999). Volatiles produced by *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus carnosus* during growth in sausage minces—Part I. Collection and identification. *Food Science and Technology-Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie*, 32, 357-364.

- Stahnke, L. H. (2002).** Recent research developments in quality of meat and meat products. Ed. Toldrá, F. Research Signpost. India. Pág. 193.
- Stahnke, L. H. (2003).** Flavor formation in fermented sausages – the influence of bacteria., 49th International Congress of Meat Science and Technology. *Brazilian Journal of Food Technology*, 6(special issue), 112-118. Campinas, Brazil.
- Stahnke, L. H., Zeuthen, P. (1992).** *38th International Congress MST*. Clermont-Ferrand, France. Pág. 835.
- Stiebing, A., Rödel, W. (1990).** Influence of the pH on the drying pattern in dry sausage. *Fleischwirtschaft*, 70, 1039-1043.
- Summo, C., Caponio, F., Pasqualone, A. (2006).** Effect of vacuum-packaging storage on the quality level of ripened sausages. *Meat Science*, 74, 249-254.
- Summo, C., Caponio, F., Paradiso, V. M., Pasqualone, A., Gomes, T. (2010a).** Vacuum-packed ripened sausages: Evolution of oxidative and hydrolytic degradation of lipid fraction during long-term storage and influence on the sensory properties. *Meat Science*, 84, 147-151.
- Summo, C., Caponio, F., Tricarico, F., Pasquallone, A., Gomes, T. (2010b).** Evolution of the volatile compounds of ripened sausages as a function of both storage time and composition of packaging atmosphere. *Meat Science*, 86, 839-844.
- Sunesen, L. O., Dorigoni, V., Zanardi, E., Stahnke, L. (2001).** Volatile compounds released during ripening in Italian dried sausage. *Meat Science*, 58, 93-97.
- Tabanelli, G., Coloretti, F., Chiavari, C., Grazia, L., Lanciotti, R., Gardini, F. (2012).** Effects of starter cultures and fermentation climate on the properties of two types of typical Italian dry fermented sausages produced under industrial conditions. *Food Control*, 26, 416-426.
- Talon, R., Montel, M. C. (1997).** Hydrolysis of esters by *Staphylococci*. *International Journal of Food Microbiology*, 36, 207-214.
- Tändler, K., Rödel, W. (1983).** Manufacture and stability of thin-calibre longlife sausages. II. Stability. *Fleischwirtschaft*, 63, 1170-1179.

- Toledo, V. M., Selgas, M. D., Casa, M. C., Ordóñez, J. A., García, M. L. (1997).** Effect of selected mould strains on proteolysis in dry fermented sausages. *Zeitschrift für Lebensmittel Untersuchung Forschung*, 204, 385-390.
- Ullrich, F., Grosch, W. (1987).** Identification of the most intense volatile flavour compounds formed during autoxidation of linoleic acid. *Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung A*, 184, 277-282.
- Valencia, I., Ansorena, D., Astiasarán, I. (2006).** Stability of linseed oil and antioxidants containing dry fermented sausages: A study of the lipid fraction during different storage conditions. *Meat Science*, 73, 269-277.
- Valencia, I., Ansorena, D., Astiasarán, I. (2007).** Development of dry fermented sausages rich in docosahexaenoic acid with oil from the microalgae *Schizochytrium sp.*: Influence on nutritional properties, sensorial quality and oxidation stability. *Food Chemistry*, 104, 1087-1096.
- Varnam, H. A., Sutherland, J. P. (1995).** Carne y productos cárnicos. Acribia, Zaragoza, España.
- Verplaetse, A., de Bosschere, M., Demeyer, D. (1989).** Proteolysis during dry sausage ripening. Proceedings of the 35th International Congress of Meat Science and Technology, Copenhagen, Dinamarca, 815-818.
- Viallón, C., Berdagué, J. L., Montel, M. C., Talon, R., Martín, J. F., Kondjoyan, N., Denoyer, C. (1996).** The effect of stage of ripening and packaging on volatile content and flavour of dry sausage. *Food Research International*, 29, 667-674.
- Warriss P. D., (2000).** Meat science: An introductory text. CABInternational, Cambridge University Press, Cambridge. Págs. 1-223.
- Weber, H. (1994).** Dry sausage manufacture, the importance of protective cultures and their metabolic products. *Fleischwirtschaft*, 74, 278-282.
- 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.

- Xie, J., Sun, B., Zheng, F., Wang, S. (2008).** Volatile flavor constituents in roasted pork of Mini-pig. *Food Chemistry*, 109, 506–514.
- 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.
- Zanardi, E., Ghidini, S., Battaglia, A., Chizzolini, R. (2004).** Lipolysis and lipid oxidation in fermented sausages depending on different processing conditions and different antioxidants. *Meat Science*, 66, 415-423.
- Zhou, G. H., Xu, X. L., Liu, Y. (2010).** Preservation technologies for fresh meat – A review. *Meat Science*, 86, 119-128.
- 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: *Productos cárnicos y lácteos. Aspectos tecnológicos, sanitarios y legislación*. Coord. González, I., Otero, A., Rodríguez, R., y Sanz, J.J. Departamento de Higiene y Tecnología de los Alimentos. Facultad de Veterinaria. Universidad de León.



Capítulo 3.

Sustitución de grasa por patata o quinua en un embutido crudo-curado de pequeño calibre

RESUMEN

Se ha desarrollado un embutido crudo-curado bajo en grasa con tecnologías apropiadas para zonas donde la producción de cerdo es mínima y por lo tanto la obtención de grasa es difícil (zona Andina) e indicado para dietas bajas en grasa. Para la realización del estudio se elaboraron por triplicado embutidos de pequeño calibre con cinco formulaciones diferentes en función del contenido en grasa: una control, con una proporción carne/grasa de cerdo habitual (70/30) y otras cuatro con contenido en grasa reducido, en los que parte de la grasa (50 y 85% de la grasa) se sustituyó por un ingrediente vegetal: quinua o patata cocidas. Los embutidos se mantuvieron en cámara de maduración a 15 °C y humedad relativa de 60 % durante 17 días. Durante esta fase de secado se evaluaron la pérdida de humedad (peso) y los cambios de a_w y pH de los embutidos. Además, en los embutidos madurados se determinaron humedad, grasa, proteína, cenizas, sustancias reactivas al ácido barbitúrico (TBARS), compuestos volátiles, color (CIE $L^*a^*b^*$), textura instrumental, análisis microbiológicos (microbiota aerobia mesófila viable, bacterias ácido lácticas y, cocos Gram + halotolerantes) y análisis sensorial.

La reducción del contenido graso ocasionó una mayor pérdida de humedad durante el secado de los embutidos y un mayor descenso en el valor de pH. Al disminuir la grasa disminuyeron los niveles de compuestos volátiles derivados de la oxidación de la misma (aldehídos y alcoholes alifáticos lineales y 2-heptanona). Por el contrario, los compuestos volátiles terpénicos experimentaron un aumento significativo a medida que se redujo el contenido graso. Además, a medida que disminuyó la grasa aumentaron los valores de dureza y masticabilidad y de los índices rojo y amarillo. La utilización de quinua o patata ocasionó que los hidrocarburos alifáticos lineales, el pentanol y el heptenal fuesen más abundantes los embutidos con patata, mientras que los ácidos butanoico y acético presentaran mayores niveles en los embutidos con quinua. En los análisis de textura se observaron mayores valores de

masticabilidad en los embutidos elaborados con patata que en los elaborados con quinua. El análisis sensorial mostró mayor sensación picante en los embutidos con menor contenido graso. La percepción de jugosidad descendió cuando se sustituyó la mitad de la grasa por quinua o patata y se incrementó al aumentar la sustitución de grasa hasta el 85%, sin llegar a los valores del control, que presentó los valores más elevados. A pesar de todas esas diferencias, la aceptabilidad fue similar para todos los embutidos.

INTRODUCCIÓN

1.1. Generalidades

El desarrollo de alimentos con bajo contenido en grasa constituye uno de los retos principales de la industria alimentaria. Un elevado consumo de grasa ha sido relacionado con obesidad, hipercolesterolemia, enfermedades cardiovasculares o cáncer (Jiménez Colmenero, 1996; Chizzolini et al., 1998; Muguerza et al., 2004; Weiss et al., 2010). Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) las enfermedades cardiovasculares fueron la causa principal de defunción en los últimos años y la obesidad ha alcanzado proporciones de epidemia a nivel mundial. Sin embargo, no hay que olvidar que la grasa es un nutriente fundamental en la dieta humana, como fuente de energía, ácidos grasos esenciales o vitaminas liposolubles, y su consumo debe ser moderado pero no eliminado (Akoh, 1998). El informe “Dieta, nutrición y prevención de enfermedades crónicas”, elaborado de forma conjunta por la Organización para la alimentación y la agricultura (FAO) y la OMS en 2003, recomienda un consumo de grasas que oscile entre el 15 y el 30% de la ingesta diaria de energía.

En este contexto, durante los últimos años el consumo de carne y productos cárnicos con elevado contenido en grasa ha sido relacionado con diversas enfermedades crónicas debidas a la cantidad y calidad de la grasa de los mismos y en consecuencia han tenido lugar campañas publicitarias y sanitarias dirigidas a disminuir una ingesta abusiva. Por este motivo, con el fin de satisfacer las necesidades del consumidor actual y ofrecer productos cárnicos con mejores características nutritivas se han llevado a cabo numerosas investigaciones encaminadas a la reducción de su contenido en grasa (Giese, 1992; Jiménez-Colmenero, 1996; Jiménez-Colmenero et al., 2001; Muguerza et al., 2004; Valsta et al., 2005; Jiménez-Colmenero, 2007; Weiss et al., 2010). No obstante, se considera que el contenido en grasa de un producto cárnico es uno de los factores determinantes de sus características

sensoriales. El nivel de grasa condiciona la apariencia visual, la textura y el aroma y sabor de los alimentos (Akoh, 1998), no solo por el sabor y aroma característicos aportados por la grasa, sino también por el efecto modulador que ésta tiene sobre la liberación (intensidad y duración) de aromas y sabores presentes en la matriz del alimento (Lucca y Tepper, 1994; García et al., 2002). La reducción de grasa, por lo tanto, podría conllevar una serie de inconvenientes sobre las características sensoriales de los productos cárnicos. Es por esto que el tipo de producto cárnico en cuestión, su contenido en grasa, la reducción de grasa deseada, o el tipo de procesado necesario para su elaboración, condicionarán en gran medida las posibles estrategias a seguir para conseguir una reducción apropiada de los niveles de grasa (Ospina-E et al., 2010).

Los embutidos crudo-curados son productos cárnicos con una proporción de grasa (normalmente grasa de cerdo) de aproximadamente un 30-50% (Feiner, 2006). Este elevado contenido nos da una idea del papel fundamental de la grasa sobre las propiedades de este tipo de productos. Como se señaló anteriormente, las estrategias encaminadas a reducir este contenido se verán limitadas por las modificaciones asociadas sobre la apariencia, textura y sabor de los embutidos. Jiménez-Colmenero et al. (2001) llevaron a cabo una revisión sobre la obtención de carne y productos cárnicos más saludables, en la que resumen como, el éxito del nuevo producto elaborado, implica que este debe poseer unas adecuadas propiedades tecnológicas, sensoriales y nutricionales, además de ser seguro y conveniente para el consumo.

La grasa en los alimentos puede ser reemplazada en primera instancia por técnicas sencillas y en cierta manera convencionales como la sustitución de ésta por agua o aire, el uso de materias primas con menos grasa (por ejemplo carne más magra) o cocinando con horno en lugar de fritura. Adicionalmente, se puede recurrir a la reformulación de los alimentos incluyendo reemplazantes de la grasa como ingredientes de naturaleza

lipídica, proteínas o carbohidratos, individualmente o en combinación, con propiedades tecnológicas (textura, capacidad de retención de agua, capacidad de emulsión, etc.) y fisiológicas diversas y características (Akoh, 1998). Los reemplazantes de la grasa en cierta manera tienen que imitar a las propiedades tecnológicas de la grasa en el alimento.

El anterior autor (Akoh, 1998) clasifica los reemplazantes de la grasa en dos tipos: i) “fat substitutes”, entendidos como macromoléculas que se parecen química y físicamente a los triglicéridos, que proceden de los lípidos (y son obtenidas normalmente por modificación química de los mismos) y que permiten teóricamente la sustitución total de la grasa por estas sustancias (sustitución g por g); ejemplos de este tipo son los ésteres de ácidos grasos con sacarosa, diversos emulsionantes con ácidos grasos en su molécula o grasas estructuradas con ácidos grasos de cadena corta o media; ii) “fat mimetics”, que son sustancias que pretenden imitar las propiedades físicas y organolépticas que ejercen las grasas pero que químicamente son diferentes a las mismas y normalmente no se usan para lograr una sustitución total sino parcial de la grasa del alimento; ejemplos de este tipo son los carbohidratos como el almidón, la celulosa o la inulina, proteínas como la proteína de suero o de soja. En los productos cárnicos se están utilizando a nivel industrial ambos tipos de reemplazantes, tanto sustancias sintéticas procedentes de la grasa o aceites vegetales, como derivados del almidón de la fibra, gomas, proteínas, o combinaciones de varios reemplazantes de uno o los dos tipos mencionados (Tokusoglu y Ünal, 2003; Ospina-E et al., 2012).

1.2. Estrategias seguidas para la reducción del contenido en grasa de los embutidos crudo-curados

Para la obtención de embutidos crudo-curados de reducido o bajo contenido graso, las principales estrategias encontradas en la bibliografía consisten fundamentalmente, por una parte, en la simple reducción de la proporción de grasa empleada en su formulación, usando por tanto mayor

porcentaje de carne magra (eliminación de grasa sin sustituto) y, por otra parte, en la reducción de grasa acompañada de la adición simultánea de otros u otros ingredientes no grasos distintos a la carne (reemplazantes de la grasa).

En relación al primer planteamiento, se han llevado a cabo diversos estudios en los que se ha evaluado el efecto del empleo de una menor proporción de grasa en la formulación de los embutido crudo-curados, contrastando las características analizadas de estos embutidos con las de un embutido control, con una cantidad de grasa normal o convencional: Papadima y Bloukas (1999), Yoo et al. (2007), Liaros et al. (2009), Olivares et al. (2010), Olivares et al. (2011), Lorenzo y Franco (2012). En estos estudios se analizan embutidos con un contenido en tocino añadido entre un 0 (embutidos sin grasa) y un 30%, evaluando el efecto de la reducción de este contenido sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas, tecnológicas o sensoriales de los distintos embutidos. En general, el objetivo principal de todos estos estudios se basa en conocer el límite de reducción del contenido en grasa que permite que los embutidos conserven una adecuada calidad tecnológica y sensorial.

En segundo lugar, con el fin de paliar las consecuencias negativas derivadas de la reducción o eliminación del contenido en grasa en los embutidos crudo-curados, se han llevado a cabo estudios en los que esta eliminación, total o parcial, de grasa se acompaña con la adición de otros ingredientes no grasos. Mendoza et al. (2001) elaboraron embutidos bajos en grasa a los que adicionaron distintas proporciones (6, 7, 10 y 11,5%) de inulina previamente hidratada, con el fin del evaluar sus efectos sobre las características sensoriales y de textura de los mismos. García et al. (2002) elaboraron embutidos con un contenido graso del 6 y el 10%, a los que añadieron fibra de cereal (trigo o avena) y fibra de frutas (melocotón, manzana o naranja) en concentraciones de 1,5 y 3%. En otro estudio recientemente publicado, Yalinkılıç et al. (2012) combinaron la utilización de diferentes proporciones de grasa (10, 15 y 20%) con la adición de pequeñas

cantidades de fibra de naranja (0, 2 y 4%) en la elaboración de sucuk (un embutido turco).

En otros estudios se utilizaron geles de hidrocoloides para la sustitución parcial o total de la grasa, como es el caso del estudio Ruiz-Capillas et al. (2012), quienes evaluaron las características de embutidos en los que se sustituyó el 0, el 50 y el 80% de la grasa habitualmente empleada en su formulación por gel de konjac. De forma similar, en el estudio llevado a cabo por Campagnol et al. (2012) se sustituyó el 25, el 50, el 75 y el 100% de la grasa utilizada en la elaboración de embutidos por gel de celulosa amorfo. En el trabajo de Yoo et al. (2007) se elaboraron embutidos sin grasa en su formulación a los que se añadió agua, harina de konjac y carragenano (ambos en proporciones del 0,5%) y un ingrediente proteico (proteína de soja, caseinato de sodio, proteína de suero concentrada o proteína de huevo) en una proporción del 1,5%. Por su parte y finalmente, Park et al. (2009) evaluaron el efecto de la adición de lisina (0,1 M) y de azúcares (glucosa, fructosa o sucrosa) en distintas proporciones (0,05, 0,1 y 0,2 M) sobre la calidad, especialmente sobre el sabor, de embutidos en los que no se utilizó grasa en su elaboración.

1.3. Efectos de la reducción del contenido en grasa sobre la calidad sensorial de los embutidos crudo-curados

1.3.1. Reducción del contenido en grasa sin adición del reemplazante

Tal como se describe en los trabajos previamente mencionados, la reducción de grasa en la formulación de embutidos crudo-curados, sin adición simultánea de ningún otro ingrediente como reemplazante, ocasiona cambios significativos en las características sensoriales de los embutidos.

Apariencia

A continuación se describen algunos de los efectos observados en la apariencia de los embutidos descritos en los estudios consultados. En general,

en todos ellos se observa como la disminución de grasa ocasionaba un oscurecimiento de los embutidos, aunque este oscurecimiento no supuso obligatoriamente un deterioro en la percepción de la calidad desde el punto de vista del consumidor.

Papadima y Bloukas (1999) realizaron el análisis sensorial de embutidos con 10, 20 y 30% de grasa y encontraron como las mejores puntuaciones de los catadores en cuanto a la apariencia de los embutidos fueron otorgadas a los embutidos con un 20% de grasa, seguidos de los embutidos con un 10% y, en último lugar, los embutidos con un mayor contenido graso. Olivares et al. (2010) también llevaron a cabo un análisis sensorial sobre embutidos con 10, 20 y 30% de grasa, siendo en este caso los embutidos con mayor contenido graso los mejor valorados y los de menor contenido graso los peores.

Liaros et al. (2009) observaron como a nivel instrumental, los embutidos con bajo contenido en grasa (10%) eran más oscuros y tenían un color rojo más intenso que aquellos con un alto contenido en grasa (30%) y, sin embargo, el análisis sensorial no mostró diferencias significativas entre los tratamientos para estos parámetros. No obstante, cuando los catadores evaluaron la apariencia general de los embutidos otorgaron peores puntuaciones a los embutidos bajos en grasa, que presentaron una superficie más arrugada.

En el estudio realizado por Yalınkılıç et al. (2012) también se observó un descenso significativo de la luminosidad de los embutidos a medida que disminuyó el contenido graso (embutidos con 10, 15 y 20% de grasa), aunque estas diferencias no se reflejaron en el análisis sensorial, no encontrándose diferencias significativas entre los distintos tratamientos. Finalmente, Lorenzo y Franco (2012) analizaron las diferencias en la apariencia de embutidos con un contenido graso de 5, 10 y 20% y observaron como a medida que disminuyó este contenido, los embutidos perdieron luminosidad y tonalidad amarilla y se incrementó el color rojo. En el análisis sensorial, los embutidos

con más grasa obtuvieron las mejores puntuaciones en cuanto a la distribución de la grasa y el ratio grasa/magro, mientras que los embutidos con menor contenido graso obtuvieron las mejores puntuaciones en cuanto a la apreciación de la cohesividad grasa/magro.

Textura

Tal y como se ha mencionado, la reducción del contenido graso de embutidos crudo-curados ocasiona cambios significativos en la textura de los mismos. En general, la reducción del contenido graso se asocia a un aumento de la dureza. Papadima y Bloukas (1999) y Olivares et al. (2010) analizaron las variaciones en la textura existentes entre embutidos con contenidos en grasa de 10, 20 y 30%. Ambos estudios describen un aumento de la dureza a medida que disminuyó el contenido graso. En el análisis sensorial, los primeros autores encontraron que los embutidos mejor valorados en cuanto a sus características de textura fueron los embutidos con un contenido en grasa intermedio (20%) y los peor valorados fueron los embutidos de mayor contenido graso. Estos embutidos (30%) fueron descritos por los catadores como los más suaves, pero demasiado grasos, ocasionando una sensación en boca negativa.

Por su parte, Olivares et al. (2010) realizaron el análisis sensorial de los embutidos a dos tiempos de maduración y encontraron que las diferencias observadas en las puntuaciones estaban condicionadas por el mayor o menor tiempo de maduración y por la preparación de muestras. De esta manera, la percepción de dureza y elasticidad fue similar para todos los tratamientos cuando el periodo de maduración fue de 42 días. Sin embargo, después de 63 días de maduración sí que se observaron diferencias en la percepción de la dureza y la masticabilidad (mayores en los embutidos bajos en grasa). Por otra parte, cuando las muestras se cortaban en rebanadas, los embutidos con menor contenido graso presentaron valores de cohesividad y masticabilidad significativamente mayores y cuando las muestras se presentaron en forma de

cubos, aunque los menos grasos mostraron también los valores más elevados, las diferencias entre tratamientos disminuyeron.

En el estudio de Liaros et al., (2009) se compararon embutidos de alto y bajo contenido graso (10 y 30%). Los resultados obtenidos concuerdan con los encontrados en los estudios descritos anteriormente, de forma que los embutidos con menor contenido graso fueron más duros; no obstante, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la cohesividad, elasticidad, masticabilidad y gomosidad. Algo similar describen Lorenzo y Franco (2012), quienes redujeron hasta un 5% el contenido graso, comparando embutidos con niveles de grasa de 5, 10 y 20%, encontrando que a medida que disminuyó el contenido graso aumentó significativamente la dureza y la gomosidad de los embutidos y disminuyó la jugosidad.

Yoo et al. (2007) analizaron las diferencias en la textura de embutidos con un contenido en grasa del 0, 5, 10 y 15%. Los resultados mostraron como a medida que se redujo la adición de grasa aumentaron la fracturabilidad, la elasticidad y la dureza de los embutidos. Los valores de gomosidad, masticabilidad y cohesividad se mantuvieron constantes para los embutidos con niveles de grasa entre el 20 y el 5% pero, cuando la grasa se eliminó totalmente (0%) aumentó significativamente la masticabilidad y la cohesividad y disminuyó la gomosidad de los embutidos.

Finalmente, a diferencia de los estudios citados, Yalinkiliç et al. (2012) no encontraron diferencias sensoriales en cuanto a la textura de embutidos con un contenido graso de 10, 15 y 20%.

Aroma y sabor

Los estudios consultados describen como la grasa es en gran medida responsable del aroma y sabor característico de los embutidos crudo-curados. Tal y como se describe a continuación, la reducción de la misma repercute notablemente en el aroma y sabor de los mismos. En general la reducción del contenido graso acarrea un empeoramiento del aroma y sabor de los

embutidos, especialmente cuando la cantidad de grasa o tocino utilizada en la formulación baja por debajo de niveles del 15-20%.

Olivares et al. (2010) observaron como las puntuaciones otorgadas a los embutidos en cuanto a su sabor disminuyeron a la vez que se reducía el contenido en grasa. En un estudio posterior (Olivares et al., 2011), se observó como a un tiempo de maduración de 42 días no hubo diferencias significativas en el aroma y sabor de los embutidos en relación a su contenido graso; sin embargo, después de 63 días de maduración aunque no hubo diferencias entre los embutidos con un 20 y un 30% de grasa, las puntuaciones empeoraron significativamente para los embutidos con un 10% de grasa. En el análisis sensorial del aroma y sabor realizado en el estudio de Papadima y Bloukas (1999), los embutidos mejor valorados fueron aquellos con un contenido medio de grasa (20%), seguidos de los embutidos con mayor contenido graso (30%). Estos autores observaron además que no era posible distinguir por su olor los embutidos elaborados con distintos porcentajes de grasa (10, 20 y 30%), tal vez debido a la presencia de especias, que podrían enmascarar las diferencias existentes.

En esa misma línea, Yalınkılıç et al. (2012) compararon embutidos con niveles de grasa de 10, 15 y 20%, y observaron un aumento en las puntuaciones otorgadas por los catadores cuando el contenido en grasa se redujo del 20 al 15%, siendo estos últimos los embutidos con las máximas puntuaciones. Por el contrario, Liaros et al. (2009) no encontraron diferencias significativas relativas al aroma y sabor entre embutidos con un contenido graso del 10 y el 30%. Finalmente, Lorenzo y Franco (2012) encontraron un aumento de las puntuaciones de aromas asociados a especias, ácido láctico o champiñón, a medida que disminuyó el contenido graso de los embutidos.

1.3.2. Reducción del contenido en grasa con inclusión de reemplazantes

La utilización de distintos ingredientes como reemplazantes de la grasa en embutidos crudo-curados ha tenido mejores y peores resultados en

cuanto a corregir los cambios derivados de la reducción del contenido en grasa. Además de minimizar los defectos asociados a un descenso de la grasa, en algunos casos se ha buscado la adición de ingredientes con efecto beneficioso sobre la salud, como la fibra, otorgando así un valor añadido a los embutidos elaborados.

Apariencia

En cuanto a la apariencia, la reducción del contenido graso en los embutidos fermentados ha ocasionado cambios en el color de los mismos, principalmente en la luminosidad del producto, de modo que la disminución de grasa puede provocar un descenso en la luminosidad. No obstante, el uso de fibra o hidrocoloides no proteicos ha compensado en algunos casos dicho descenso. De esta forma, en el estudio llevado a cabo por Mendoza et al. (2001) se observó como la adición de inulina hidratada no corrigió los cambios en el color (pérdida de luminosidad) ocasionados por la reducción de grasa cuando se añadió en pequeñas cantidades (6-7%), pero sí lo hizo en mayores concentraciones (10-11,5 %), consiguiendo una apariencia brillante, parecida a la de la grasa. Yalınkılıç et al. (2012) observaron como la utilización de fibra de naranja aumentaba la luminosidad de los embutidos, corrigiendo así la pérdida de brillo que tiene lugar al reducir el contenido graso. Del mismo modo, García et al. (2012) realizaron el análisis sensorial de embutidos crudo-curados con sustitución parcial de la grasa por fibra de cereales y frutas (reducción de grasa del 6 y 10% y adición de fibras de cereales (trigo y avena) y frutas (melocotón, manzana y naranja) en proporción del 1,5 y 3% y observaron como todos los embutidos obtuvieron puntuaciones similares respecto al color de los mismos. Igualmente, Ruiz-Capillas et al. (2012) emplearon gel de konjac como sustituto de la grasa de embutidos (sustitución de 0, 50 y 80% de grasa). El color de este gel es muy parecido al de la grasa, de modo que las variaciones en la apariencia de los embutidos fueron ligeras y no hubo diferencias estadísticamente significativas en el análisis sensorial de los mismos. Campagnol et al. (2012) sustituyeron

diferentes proporciones de la grasa empleada en la elaboración de embutidos fermentados (sustitución del 25, 50, 75 y 100%) por gel amorfo de celulosa y tampoco observaron diferencias estadísticamente significativas en la apariencia de los embutidos.

Por otra parte, aunque también relacionado con el color, el uso de reemplazantes proteicos ha sido relacionado con un aumento en los valores de b^* . Yoo et al. (2007) elaboraron embutidos con un contenido en grasa del 0, 5, 10 y 15%, adicionando diversos ingredientes proteicos (1,5% de proteína de soja, caseinato de sodio, proteína de suero concentrada o proteína de huevo) como sustitutos y observaron que estos reemplazantes ocasionaban un incremento de las tonalidades amarillas en los embutidos, excepto cuando se empleó caseinato de sodio como sustituto de la grasa. Estos últimos autores observaron como la tonalidad roja no fue afectada por los ingredientes empleados pero sí por la mayor o menor proporción de carne magra. Cabe señalar que en este estudio se incluyeron nitritos en la formulación de los embutidos que pudo ocasionar valores de a^* similares para todos ellos. La adición de nitritos en la formulación de embutidos crudo-curados está implicada en la formación y estabilidad de la tonalidad rojiza característica de estos productos. El color rojo se debe a la reacción entre el óxido nítrico, aportado por los nitritos, y la mioglobina, generándose nitrosilmioglobina (Gøtterup et al., 2008; Pegg y Shahidi, 1997). Durante la maduración de los embutidos la fracción proteica de la nitrosilmioglobina se desnaturaliza, formándose así el micromógeno, que mejora la estabilidad del color (Liaros et al., 2009).

Textura

Como ya se ha mencionado, en general, se ha visto que la reducción del contenido en grasa de los embutidos disminuye la jugosidad y aumenta la dureza de los mismos, aunque los reemplazantes pueden contribuir a paliar en cierta medida ese efecto. Los resultados obtenidos por Mendoza et al. (2001) mostraron como la adición de inulina a los embutidos (embutidos con un

contenido en grasa del 6,3, 12 y 25 % y adición de 6, 7, 10 y 11,5 % de inulina en solución acuosa) corrigió lo relativo a la dureza, asemejándola al control con grasa, pero no corrigió la pérdida de jugosidad asociada a la disminución de grasa. A pesar de la pérdida de jugosidad, en el análisis sensorial todas las muestras con reducción de grasa y adición de inulina fueron consideradas como aceptables en cuanto a su textura.

En el trabajo de García et al. (2002) también se observó como la utilización de fibra de cereales y frutas cuando se emplearon en proporciones del 1,5%, tuvo como consecuencia una disminución de la dureza de los embutidos con contenido en grasa reducido (6 y 10%). Sin embargo, con el uso de mayores proporciones de fibra de cereales (3%) la dureza de los embutidos elaborados aumentó. En el trabajo de Chang y Carpenter (1997), el uso de fibras de cereales, como la fibra de avena, también produjo un aumento de la dureza de los embutidos. En este sentido, la utilización de fibra de frutas parece ralentizar la pérdida de humedad de los embutidos durante el secado, consiguiendo una menor dureza de los mismos, al compararla con la de los embutidos con fibra de cereales. La fibra de frutas parece tener una mayor capacidad de retención de agua, debido a sus componentes solubles, principalmente pectina. Yalınkılıç et al. (2012) elaboraron embutidos fermentados con un contenido en grasa del 5, 10 y 15% a los que adicionaron fibra de naranja (0, 2 y 4%, respectivamente). En el análisis sensorial de textura de los embutidos no se encontraron diferencias significativas respecto al control.

Por otra parte, en el estudio de Campagnol et al. (2012), en el que se utilizó un gel amorfo de celulosa como sustituto de la grasa, no se observaron diferencias significativas en la textura de los embutidos hasta niveles de sustitución del contenido graso del 50%. A partir de esta proporción (niveles de sustitución de grasa del 75 y 100%), la valoración de la textura de los embutidos por los catadores se vio afectada negativamente, probablemente debido a los cambios en la dureza o la jugosidad. Por otra parte, el uso de gel

de konjac como reemplazante de la grasa ocasionó un aumento en la dureza y masticabilidad de los embutidos y una disminución de la cohesividad y jugosidad (Ruiz-Capillas et al. 2012). Finalmente, la utilización de ingredientes proteicos no cárnicos (1,5% de proteína de soja, caseinato de sodio, proteína de suero concentrada o proteína de huevo) en embutidos bajos en grasa ocasionó un incremento de todos los parámetros del análisis de perfil de textura de los embutidos, excepto en el caso de la fracturabilidad (Yoo et al., 2007). La utilización de soja consiguió la textura más parecida a la de los embutidos con contenido en grasa normal. Por el contrario, la utilización de proteína de huevo obtuvo los peores resultados.

Sabor y olor

En general, en los estudios consultados se observa que aunque la reducción de grasa y adición de reemplazantes puede afectar a la formación y presencia de compuestos sápidos y volátiles, el efecto sobre la percepción del sabor de los embutidos no es claro y muchas veces no se detecta en el análisis sensorial.

Respecto a la formación y presencia de compuestos sápidos y volátiles, Park et al. (2009) realizaron el análisis del contenido en volátiles de los embutidos crudo-curados bajos en grasa y adición de agua y diversos ingredientes como reemplazantes de la grasa (lisina y glucosa, fructosa o sacarosa). Estos autores describieron como la reducción de grasa con utilización de azúcares suponía una disminución en la liberación de volátiles. Campagnol et al. (2012) también estudiaron los componentes volátiles en embutidos bajos en grasa utilizando gel amorfo de celulosa como sustituto. Estos autores observaron una disminución de la liberación de compuestos volátiles derivados de la oxidación lipídica en los embutidos bajos en grasa. Por el contrario, la sustitución de grasa por el gel ocasionó un aumento significativo del 2- y 3-metilbutanal y los compuestos azufrados, asociados estos positivamente al aroma, y de compuestos derivados del catabolismo de carbohidratos, con aromas característicos de los productos lácteos;

igualmente, la reducción de grasa ocasionó un aumento de la liberación de compuestos terpénicos en los embutidos.

En relación a los estudios sensoriales, Mendoza et al. (2001) y Ruiz-Capillas et al. (2012) emplearon inulina hidratada y gel de konjac, como reemplazantes de la grasa y no encontraron diferencias significativas en el sabor de los distintos embutidos elaborados. Yalınkılıç et al. (2012) adicionaron fibra de naranja en distintas proporciones y los resultados del análisis sensorial mostraron como los embutidos con cantidades pequeñas de fibra (2%) recibían puntuaciones similares a los embutidos con contenido en grasa normal, mientras que cantidades mayores (4%) suponían un deterioro en las puntuaciones. En el estudio de García et al. (2002) se observó un comportamiento similar, cantidades pequeñas (1,5%) de fibra de de distintas fibras de cereales (trigo y avena) y frutas (manzana, melocotón y naranja) no suponían diferencias significativas en el sabor de los embutidos, pero cantidades mayores (3%) eran valoradas negativamente por los catadores – los embutidos elaborados con un 1,5% de fibra de melocotón fueron los mejor valorados en este estudio, por encima de los embutidos tradicionales; por el contrario, los embutidos en los que se utilizó fibra de naranja recibieron las peores puntuaciones en cuanto al olor.

Para resumir esta revisión bibliográfica, se puede decir de todo lo visto que la reducción de grasa puede provocar una pérdida de calidad sensorial en los embutidos, ya que se ha observado que disminuye la luminosidad del embutido, aumenta su dureza y disminuye su jugosidad, y puede afectar al sabor, modificando la presencia o liberación de compuestos volátiles de la grasa. El uso de reemplazantes (fibra, proteína, azúcares) puede reducir o paliar los efectos sobre la apariencia y textura, en función del tipo y la cantidad de reemplazante y la cantidad de grasa sustituida. La elección del sustituto de la grasa más adecuado debe orientarse a mantener las características típicas de este tipo de productos cárnicos. En este sentido, mediante la elección de ingredientes con una coloración parecida a la de la

grasa, como en el caso del gel de konjac o la inulina, se ha conseguido asemejar el color de los embutidos bajos en grasa al de los convencionales. Tanto la luminosidad como la dureza y jugosidad de los embutidos parece estar fuertemente relacionada con la pérdida de humedad, por lo que es deseable utilizar reemplazantes que ralenticen la velocidad de secado de los embutidos. También cabe pensar en usar ingredientes que aporten sabor al embutido para compensar las eventuales pérdidas de sabor provocada por la menor cantidad de compuestos volátiles derivados de las grasas. Aunque por otra parte, se ha de tener en cuenta que la liberación de los compuestos volátiles de las especias es mayor en embutidos bajos en grasa.

1.4. Objetivos del presente estudio

Con el presente estudio se pretende desarrollar un embutido bajo en grasa que sea apropiado para su producción y consumo en zonas donde la producción de cerdos es mínima y la obtención de grasa de cerdo es inexistente o nula, como es el caso de la región Andina. Asimismo, este embutido también podría considerarse adecuado para poblaciones que demandan embutidos bajos en grasa. En realidad, este estudio experimental se ha diseñado como consecuencia de la detección de una oportunidad focalizada la zona altoandina de Perú, consistente en la posibilidad de elaborar a escala doméstica productos cárnicos sin grasa (ya que no es viable la producción de cerdo en la zona), de fácil secado y larga conservación. Adicionalmente, se pretende obtener un embutido nutritivamente más saludable por su reducido contenido en grasa sin un deterioro de la calidad tecnológica y sensorial. Para ello se propone un producto, un modelo o prototipo fruto de una reflexión colectiva de docentes e investigadores peruanos y españoles y productores locales o agentes de extensión agraria, y se evalúa el efecto de la reducción del contenido en grasa sobre las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de embutidos crudo-curados de pequeño calibre. De esta forma, se elaboraron embutidos con un 30% de grasa en su

formulación (proporción habitualmente empleada en estos embutidos típicos de la zona mediterránea de Europa) y embutidos en los que se sustituyó el 50 y el 85% de esta grasa por quinua o por patata, ingredientes disponibles y típicos de la región andina. Paralelamente se compararon las posibles diferencias originadas por la elección de quinua o patata como sustitutos de la grasa en la formulación de los embutidos.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1. Elaboración de los embutidos, monitorización de la pérdida de peso, el pH y la a_w durante el secado de los mismos, muestreo y preparación de muestras para análisis

Este estudio se llevó a cabo con muestras de embutido crudo-curado de pequeño calibre elaborado en la planta piloto de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de León. Para ello se elaboraron dos tipos de embutidos en relación a su formulación: embutidos convencionales de acuerdo a una proporción carne/grasa habitualmente empleada en la industria cárnica, y embutidos bajos en grasa, en los que se sustituyó parte de esa grasa por quinua o patata cocidas. Las materias primas cárnicas consistieron en carne de espalda y grasa dorsal de cerdo, adquiridas en una industria cárnica regional.

Se prepararon 3 lotes de embutido, cada uno en un día diferente. Cada lote constó de 5 sub-lotes de 2 kg cada uno, de acuerdo al porcentaje de sustitución de grasa (0, 50 y 85% de grasa sustituida) y el ingrediente utilizado para la sustitución de la misma, quinua ecológica procedente de los Andes peruanos y adquirida en una tienda de productos ecológicos de la ciudad de León, España, o patata gallega de denominación de origen. Ambas materias primas fueron cocidas antes de su incorporación al embutido. Para cocer la quinua se mezcló una parte de este pseudocereal con tres de agua y se hirvió la mezcla durante 15 min en una cazuela tapada, a fuego lento. En el caso de las patatas, éstas se hirvieron en agua durante 25-30 min de la misma

forma que se indicó anteriormente para la quinua. De esta forma, el primer sub-lote, control, consistió en embutidos elaborados con una proporción de 70% de carne y 30% de grasa (0% grasa sustituida). En el segundo y tercer sub-lotes se sustituyó el 50 y el 85% de la cantidad de grasa utilizada para la elaboración del embutido por quinua cocida. En último lugar, el cuarto y quinto sub-lotes se elaboraron reemplazando el 50 y el 85% de la grasa por patata cocida (Tabla 3.1).

Tabla 3.1. Contenido de ingredientes mayoritarios de los embutidos expresados en g por kg de masa inicial

	Tipo de embutido (sub-lotes) 2 kg cada; elaborados por triplicado				
	Control	Quinua 50%	Quinua 85%	Patata 50%	Patata 85%
Carne magra de cerdo (paleta)	700	700	700	700	700
Grasa de cerdo	300	150	50	150	50
Quinua	-	150	250	-	-
Patata	-	-	-	150	50

Las materias primas cárnicas (carne y grasa de cerdo) y, en su caso, la patata (fig. 3.1) y quinua cocidas se picaron simultáneamente empleando una picadora Mainca (Zaragoza, España), equipada con una placa de acero inoxidable de 5 mm de diámetro. El picado se realizó con las materias primas a 4 °C. Posteriormente, se añadió a cada una de las mezclas picadas el resto de ingredientes y aditivos utilizados para la elaboración de los embutidos (fig. 3.2): pimentón agrdulce de la Vera, 3 g/kg; pimienta negra, 2 g/kg; ajo fresco picado, 2 g/kg; pimienta negra molida, 1 g/kg; clavo, 0,75 g/kg; comino, 0,2 g/kg; nitrito de sodio, 200 ppm.



Figura 3.1. Carne y grasa de cerdo y patata cocida antes del picado.



Figura 3.2. Adición del resto de ingredientes y aditivos a la mezcla picada de carne y grasa o de carne, grasa y sustituto de la grasa (quinua o patata).

Las mezclas fueron amasadas durante 6 minutos (amasadora As-60-80, Mainca) obteniéndose así la masa inicial del embutido (fig. 3.3). A continuación se procedió al embutido de las masas en tripa natural de ovino de 22-24 mm de diámetro, mediante una embutidora de acero inoxidable con un pistón accionado manualmente. La eventual presencia de aire en el embutido se eliminó pinchando y presionando la tripa donde se detectaron visualmente bolsas de aire.



Figura 3.3. Masa inicial del embutido.

Para su secado, los embutidos se colocaron colgados, tal y como se observa en la fig. 3.4, en una cámara de maduración (Koxka, Navarra, España) con una humedad relativa (HR) de 60% y temperatura de 15 °C durante un total de 17 días. La pérdida de humedad (peso) y los cambios en los valores de a_w y el pH de los embutidos fueron controlados durante el secado cada 2-3 días del secado. La pérdida de humedad se determinó a partir de tres porciones de unos 200 g de peso para cada sub-lote de embutido,

pesando cada día de medida. Para determinar la a_w y el pH, cada día de medida, se tomó y homogeneizó una porción de embutido de unos 5 cm, obtenida después de haber cortado y eliminado el extremo final (5 cm) de la porción de embutido de donde se tomaba la muestra. La a_w se determinó por duplicado mediante el método de punto de rocío con un equipo Aqualab CX-2 (Decagon Devices, Inc., Pullman, WA, EEUU). En una cubeta de plástico especial del equipo de medida se depositaron aproximadamente 2 g de muestra previamente molida y se procedió a realizar dos mediciones, calculando posteriormente el valor medio entre ambas medidas. Las medidas se efectuaron a temperatura ambiente ($\sim 20\text{ }^\circ\text{C}$). La medición del pH se realizó con un pH-metro Crison modelo GLP 22 (Crison, Barcelona, España) acoplado a un electrodo de pH 52-02 de la misma marca. Se pesaron aproximadamente 3 g de muestra y se procedió a realizar una mezcla 1:1 (P/V) en agua destilada por duplicado. Se midió el pH de cada mezcla y se calculó el valor medio. Las medidas se efectuaron a temperatura ambiente ($\sim 20\text{ }^\circ\text{C}$).



Figura 3.4. Embutidos colgados durante el secado en la cámara de maduración.

Después de su secado, los embutidos se cortaron en porciones de unos 20 cm y las porciones se envasaron al vacío en varias bolsas de aproximadamente 150 g cada una (fig. 3.5), que se congelaron a $-50\text{ }^\circ\text{C}$, manteniéndose congeladas hasta el momento del análisis, durante un periodo nunca superior a 45 días. Antes de los análisis, los embutidos fueron descongelados a temperatura ambiente durante 1 hora aproximadamente. Una

de las bolsas de embutidos de cada sub-lote fue destinada al análisis de composición proximal (humedad, grasa, proteína y cenizas). Después de su descongelación y antes de los análisis, los embutidos de esa bolsa se homogeneizaron en una picadora doméstica. Para los análisis de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (SRATB), compuestos volátiles, color, textura y análisis sensorial los embutidos de otras bolsas fueron cortados y, en su caso, homogeneizados tal y como se describe más adelante en los procesos correspondientes.



Figura 3.5. Porciones de embutido envasadas a vacío.

2.2. Determinación de la humedad

La determinación del contenido en humedad se realizó (por duplicado) mediante desecación en estufa de aire forzado caliente hasta peso constante, siguiendo la Norma ISO 1442 (1997).

Reactivos

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

Procedimiento

Para la realización del análisis, se emplearon cápsulas de acero inoxidable, que se mantuvieron a 100 °C durante 1 h. A continuación, se pesaron aproximadamente 15 g de arena de mar de grano fino en cada cápsula, colocando además en su interior una varilla de vidrio. El conjunto

formado por cápsula, arena y varilla se introdujo en una estufa, donde fue desecado a $102 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 30 min, trasladándose inmediatamente después a un desecador, donde se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. Tras el secado, se pesó de nuevo el conjunto con una precisión de $\pm 0,01$ g.

Posteriormente, se adicionaron en cada cápsula aproximadamente 5 g de muestra y se pesaron nuevamente, se añadieron 5 ml de alcohol etílico al 96% y se mezcló la muestra con la arena con la ayuda de la varilla de vidrio. Una vez mezcladas la muestra y la arena, las cápsulas permanecieron en baño de arena caliente hasta la evaporación del alcohol, agitando periódicamente para prevenir la formación de costras y de proyecciones. Finalmente, se sometió el conjunto a desecación a $102 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 4 h. Transcurrido este tiempo, se dejó enfriar en desecador y el conjunto se pesó de nuevo.

El contenido en agua del embutido se calculó por diferencia de pesada antes y después del tratamiento. La humedad se expresó como porcentaje en peso y se calculó según la siguiente fórmula:

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

En la que:

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

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

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

2.3. Determinación de la grasa

Para la determinación de la grasa se siguió la Norma AOAC 960.39 (AOAC, 1999b), utilizando el extractor de grasa automatizado modelo “SOXTEC System HT 1043 Extraction Unit” (Foss, Hillerød, Dinamarca).

Reactivos

- Éter de petróleo 40-60 °C.

Procedimiento

Previamente a la realización del análisis, los vasos metálicos (conteniendo cada uno 3 perlas de vidrio) en los que se va a recoger la grasa fueron secados a 102 ± 2 °C durante 30 min. A continuación, se dejaron enfriar en desecador y se pesaron con precisión de $\pm 0,1$ mg (al igual que el resto de las pesadas que se indican a continuación). El análisis se realizó sobre muestra seca, obtenida tras la determinación de la humedad (2.2), que se introdujo cuidadosamente y de forma cuantitativa en un cartucho de extracción de celulosa.

Los cartuchos de extracción, ya con la muestra de embutido, se taponaron con algodón y se fijaron al instrumento de extracción Soxhlet. Una vez acoplados, los cartuchos fueron sumergidos en los recipientes metálicos, (en los que previamente se adicionaron 40 ml de éter de petróleo) y comenzó la extracción, manteniendo el conjunto a ebullición durante 15 min. Durante los siguientes 30 min, los cartuchos se sacaron de los recipientes metálicos y se continuó con la destilación a reflujo. Posteriormente, se cerró la válvula de reflujo durante 5 min con el fin de evaporar el éter de las cápsulas y, finalmente, durante otros 5 min se mantuvo el modo de evaporación con aire para secar el éter de los cartuchos. Por último, los vasos metálicos con la grasa fueron retirados y sometidos a desecación en estufa a 102 ± 2 °C durante 45 min. A continuación, se dejaron enfriar en desecador hasta alcanzar temperatura ambiente y se pesaron.

La grasa se expresó como porcentaje en peso según la siguiente fórmula:

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

En la que:

P_0 = Peso en g de cada vaso metálico vacío

P_1 = Peso en g del vaso metálico con la grasa

P_2 = Peso en g de la muestra

2.4. Determinación de la proteína

Para la determinación de la proteína se siguió el método de la AOAC 992.15 (1999a), cuantificando el nitrógeno total por el método Kjeldahl, utilizando un digestor Tecator modelo 1007 (Foss, Hillerød, Dinamarca) y una unidad de destilación Tecator modelo Kjelttec System 1002 Distilling Unit.

Reactivos

- Ácido sulfúrico de 98% (v/v).
- Hidróxido de sodio de 40% (p/v).
- Disolución valorada de ácido clorhídrico 0,1 M.
- Pastillas catalizadoras “Special Kjeltabs S 3,5” (3,5 g de sulfato potásico y 0,0035 g de selenio).
- 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 y se añadieron 10 ml de una disolución de verde de bromocresol y 7 ml de una disolución de rojo de metilo (ambas disoluciones, 100 mg en 100 ml de alcohol etílico). Se enrasó a un volumen final de 1 L con agua destilada y se mezcló homogéneamente.

Procedimiento

Se pesó (por duplicado) $1 \pm 0,01$ g de muestra en el tubo de digestión, añadiendo unas perlas de vidrio y una pastilla de catalizador. Seguidamente, se adicionaron 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 (temperatura alcanzada progresivamente). La digestión se mantuvo durante 3 horas, hasta la total clarificación, transformándose el nitrógeno en amoníaco y quedando éste en forma de sulfato amónico. Una vez realizada la digestión, se liberó el amonio del sulfato amónico mediante la alcalinización del medio con 25 ml de hidróxido de sodio de 40%, después de haber añadido 100 ml de agua Mili-Q y 5-6 gotas de fenolftaleína.

El amoníaco se arrastró mediante corriente de vapor durante aproximadamente 7 min en la unidad de destilación, hasta alcanzar un

volumen de 150 ml de destilado, que se recogió sobre 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 graduada. Además de las muestras se realizaron dos blancos.

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

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

En la que:

f = Factor del ácido clorhídrico

V_f = ml de ácido clorhídrico gastados en la valoración de la muestra

V_0 = ml de ácido clorhídrico gastados en la valoración del blanco

P = Peso en g de la muestra.

M = Molaridad del ácido clorhídrico.

El porcentaje de proteína se calculó a partir del porcentaje de nitrógeno del modo siguiente:

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ Nitrógeno} \times 6,25$$

2.5. Determinación de las cenizas

Para la determinación de las cenizas se siguió el método de la AOAC 920.153 (1999c) consistente en la calcinación en mufla.

Reactivos

- Agua Mili-Q.
- Acetato de magnesio anhidro al 15% (p/v).

Procedimiento

Las cápsulas de porcelana fueron desecadas previamente en una estufa a 102 ± 2 °C durante 30 min, se dejaron enfriar en desecador durante 30

min y se anotó su peso. A continuación, se añadieron (por duplicado) 3 g de muestra y 1 ml de solución de acetato magnésico en cada cápsula, se mezclaron, y se introdujeron las cápsulas en la mufla a 100 ° C. La temperatura se incrementó hasta 250 ° C subiendo 50 °C cada 30 min y posteriormente se incrementó de una vez hasta 550 °C, temperatura que se mantuvo durante 1 h. Al finalizar, si las cenizas presentaban un color blanco o ligeramente gris la calcinación se dio por terminada. En caso contrario, fueron añadidos 2 ml de agua Mili-Q y se repitió el proceso de calcinación. Finalmente, se enfriaron las cápsulas con las cenizas y se mantuvieron en el desecador hasta su posterior pesada.

Paralelamente al análisis descrito se realizó un blanco por duplicado, incinerando una cápsula 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:

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

En la que:

P_0 = Peso en g de la cápsula.

P_1 = Peso en g de la cápsula conteniendo la muestra.

P_2 = Peso en g de la cápsula y el residuo después de la incineración.

P_3 = Peso en g del óxido de magnesio proveniente de la disolución de acetato de magnesio añadido (blanco).

2.6. Determinación de las sustancias reactivas al ácido-2-tiobarbitúrico (ATB)

Las sustancias reactivas al ATB se determinaron por reacción del ATB directamente sobre la muestra, mediante espectrofotometría de acuerdo al método descrito por Nam and Ahn (2003), con ligeras modificaciones, tal y cómo se describe a continuación.

Reactivos

- Ácido 2-tiobarbitúrico (ATB)
- Butil-hidroxi-tolueno (BHT)
- Etanol
- Ácido tricloro-acético (ATC)
- 1,1,3,3-tetra-etoxi-propano (TEP)

Procedimiento

Los embutidos fueron troceados manualmente en pedazos de aproximadamente 10 cm, eliminando los extremos finales de la pieza de embutido (5 cm). Los trozos obtenidos se homogeneizaron con una picadora doméstica. Una cantidad de 10 g de muestra se mezcló con 90 ml de agua destilada en un homogeneizador (Sorvall Omni-Mixer, 17105W; Ivan Sorvall, Inc., Norwalk, CT, EEUU), añadiéndose previamente 0,05 ml de una solución alcohólica de BHT (7,2%) con el fin de evitar la oxidación durante la preparación de las muestras. Para cada muestra, se mezclaron en un tubo 1 ml de homogeneizado con 2 ml de solución de ATB 0,02 M en ATC al 15% y los tubos se introdujeron en un baño de agua a 80 °C donde se mantuvieron 60 min. A continuación, los tubos se centrifugaron a 4 °C durante 20 min a 3500 rpm y se midió la absorbancia de los sobrenadantes a 532 nm. La absorbancia se utilizó para calcular la cantidad de malonaldehído formado, a partir de una curva patrón, realizada con una solución de cantidades crecientes de TEP sometida al mismo tratamiento que las muestras.

Para preparar dicha curva patrón se midieron con una precisión de $\pm 0,001$ ml en un matraz aforado de 100 ml, 0,0081 ml de TEP, pesando dicha cantidad, se disolvieron en 70 ml de agua destilada y, posteriormente, se completó el volumen para obtener así la solución stock de TEP 3×10^{-4} M. Esta solución se mantuvo en refrigeración (4 °C) hasta 1 semana, y a partir de ella se preparó la solución de trabajo 3×10^{-5} M diluyendo 10 ml de la solución stock en agua destilada desionizada hasta completar un volumen de 100 ml. Se pipetearon alícuotas de 0; 0,33; 0,66; 1,00; 1,33; 1,67 y 2,00 ml de la solución de trabajo en matraces volumétricos de 10 ml y se adicionó agua

destilada desionizada hasta completar el volumen. Un ml de cada dilución preparada se puso en tubos de ensayo con tapón de rosca conteniendo 2 ml del reactivo de TBA (0,02 M en 15% de ATC) y se agitaron. Finalmente, los tubos se mantuvieron en un baño de agua a 80 °C durante 20 min, hasta desarrollarse el color y se enfriaron durante 10 min en un baño de agua fría. La absorbancia de los estándares fue medida a 531 nm (longitud de onda de máxima absorción).

2.7. Determinación del contenido en compuestos volátiles

El análisis del contenido en compuestos volátiles de los embutidos crudo-curados se llevó a cabo por extracción mediante la técnica de micro extracción en fase sólida (SPME) y análisis por cromatografía de gases acoplada a un detector de espectrometría de masas, de acuerdo a la metodología descrita por Tabanelli et al. (2012), con algunas modificaciones.

Reactivos

- Patrones de n-alcanos desde C₅ hasta C₂₀ (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EEUU)

Procedimiento

Los embutidos se trocearon manualmente en pedazos de aproximadamente 10 cm, eliminando los extremos finales de la pieza de embutido (5 cm). Los trozos obtenidos fueron homogeneizados con una picadora doméstica. A continuación, se introdujeron 4 g de homogeneizado en viales de vidrio de 15 ml (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EEUU) que se cerraron herméticamente con tapón de rosca con septo de silicona/PTFE (Agilent Technologies).

Una vez en el vial, la muestra se acondicionó a 40 °C durante 15 min en estufa de aire continuo (Selecta P, Barcelona, España). A continuación, se insertó manualmente una fibra de Carboxen-PDMS de 75 µm (Supelco, Sigma-Aldrich) en el vial (la fibra se acondicionó previamente durante 30 min

a 250 °C) y se procedió a la extracción de los compuestos volátiles (el vial con la fibra en su interior) a 40 °C durante 40 min. Tras el tiempo de exposición, la fibra se retiró del vial e inmediatamente se colocó en el inyector de un cromatógrafo de gases (Hewlett Packard, HP6890, EEUU), acoplado a un espectrómetro de masas (HP mass selective detector), donde se mantuvo durante un tiempo de desorción de 2 min. En la figura 3.6 se observa de forma esquemática la extracción de volátiles en el espacio de cabeza de la muestra y su posterior desorción en el cromatógrafo de gases mediante la técnica de SPME.

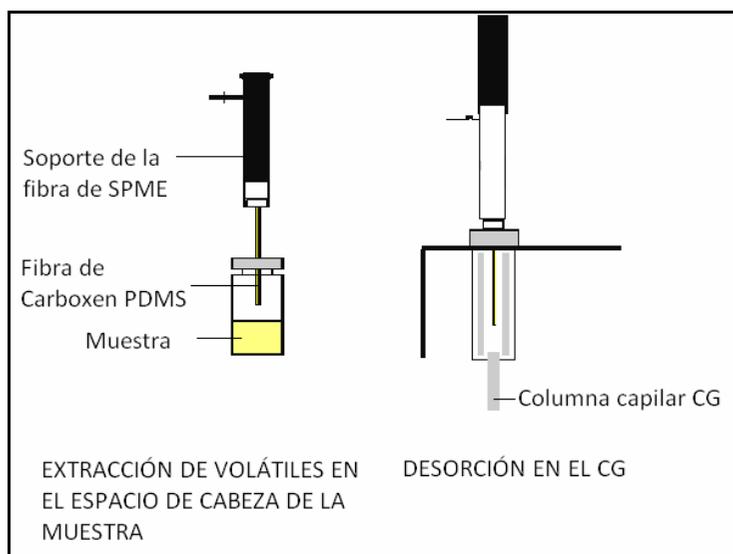


Figura 3.6. Esquema de los procesos de extracción de volátiles en el espacio de cabeza de la muestra y su desorción en el cromatógrafo de gases (CG) mediante la técnica de SPME.

Los compuestos volátiles fueron separados usando una columna DB-5MS (60 m x 0.25 mm ID x 0.25 μm grosor del relleno; J&W Scientific, Folsom, CA, EEUU). Las condiciones de trabajo utilizadas para el análisis cromatográfico fueron las siguientes:

- Gas portador: Helio.
- Velocidad de flujo constante: 1,5 mL.
- Temperatura del inyector: 260 °C.
- Inyección: Modo splitless.
- Tiempo de splitless: 2 min.

- La programación del horno comenzó a una temperatura de 40 °C durante 5 min, posteriormente se incrementó la temperatura hasta 50 °C a una velocidad de 10 °C/min, 4 °C/min hasta 146 °C y 50 °C/min hasta 250 °C, temperatura a la cual se mantuvo durante 2 min. Finalmente, se incrementó la temperatura del horno hasta 260 °C a una velocidad de 10 °C/min y se mantuvo esta temperatura durante 6 min.
- Temperatura de transferencia en el detector: 280 °C.
- Energía electrónica de impacto: 70 eV.
- Modo: Scan; rango de masas de m/z 30-220 a 3.94 s/scan.

Identificación

Los volátiles detectados fueron identificados comparando su espectro de masas con los de los compuestos presentes en la base de datos de espectros de masas HP Willey 275.L Mass Spectral Library (Hewlett Packard, revisión D 01.00, 1998) y, en su caso, en diversas referencias bibliográficas. Además, se utilizó una serie de n-alcenos, hidrocarburos de cadena lineal de 5 a 20 átomos de carbono (Sigma-Aldrich), para calcular los tiempos de retención relativos o experimentales (TRR) o índices de Kovats para cada volátil, y siempre que fue posible las identificaciones se confirmaron por comparación de los valores de TRR estimados en este trabajo con valores de TRR publicados. Para calcular los TRR experimentales de cada uno de los compuestos detectados en el embutido se empleó la siguiente fórmula descrita por David et al. (2002).

$$\text{TRR} = \frac{100 \times (t_{\text{RX}} - t_{\text{RZ}})}{(t_{\text{RZ}+1} - t_{\text{RZ}})} + (Z \times 100)$$

En la que:

TRR = Tiempo de retención relativo o índice de Kovats.

Z = Número de carbonos del n-alceno precedente.

$t_{\text{RZ}+1}$ y t_{RZ} = Tiempos de retención obtenidos para los n-alcenos posterior y precedente al compuesto problema, respectivamente.

t_{RX} = Tiempo de retención obtenido para el compuesto problema.

La mezcla de n-alcenos inyectada se obtuvo adicionando en un vial con cierre hermético 1 ml de n-hexano y 50 μl de los siguientes compuestos: n-pentano, n-heptano, n-octano, n-nonano, n-decano, n-undecano, n-

dodecano, n-tridecano, n-tetradecano, n-pentadecano, n-hexadecano, n-heptadecano, n-octadecano, n-nonadecano y n-eicosano. Se mezcló el contenido del vial y se inyectó en el cromatógrafo 1 µl de la mezcla en las mismas condiciones de operación del cromatógrafo que las descritas para el análisis de las muestras.

Cuantificación

La cuantificación se realizó en base a la comparación de las áreas de pico de los compuestos volátiles encontrados con el área de undecano obtenida inyectando la serie de n-alcanos anteriormente descrita. Las cantidades relativas de los compuestos volátiles fueron así pues expresadas en ng de undecano por g de muestra.

2.8. Determinación del color

La determinación del color se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita por Honikel (1997), utilizando un colorímetro de reflectancia CM-500 (Minolta, Osaka, Japón; fig. 3.7) con iluminante D65, modo SCI, 10° de ángulo observador y 8 mm de diámetro de la ventana de medida.

Para la realización del análisis, se homogeneizaron aproximadamente 150 g de embutido con una picadora doméstica. Inmediatamente, la masa se depositó en una placa de Petri de 90 mm de diámetro y 15 mm de altura, se cubrió con un film plástico de polietileno (fig. 3.7) y la superficie superior se compactó por medio de una presión ejercida por un cuerpo plano de 2 kg de peso durante 15 min. A continuación, se retiró el film plástico de la superficie de la muestra y sobre este homogeneizado se realizaron las lecturas de color por triplicado, cambiando la posición del colorímetro en cada medida.

Previamente a las determinaciones de color realizadas, el equipo fue calibrado diariamente usando una placa estándar blanca 677 T3 proporcionada

por el fabricante. Los parámetros de color de la escala CIELab estudiados fueron las coordenadas: luminosidad (L^*), componente rojo-verde (a^*) y componente amarillo-azul (b^*).



Figura 3.7. Colorímetro Minolta.

2.9. Análisis de perfil de textura

La textura de los embutidos se determinó mediante un método mecánico de compresión, realizado con un texturómetro SMS TA-XT2i (Texture Technologies, Westchester county, NY, EEUU), basándose en el análisis de perfil de textura (TPA), propuesto por Szczesniak (1963), adaptado por Bourne (1978). El TPA consiste en definir la textura como un atributo multiparamétrico. Como parámetros de textura se calcularon: dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad.

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

Elasticidad: Se relaciona con el grado en el que el alimento recupera altura durante el tiempo que transcurre entre la primera y la segunda compresión. 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 desintegración de la muestra bajo una acción mecánica de compresión.

Masticabilidad: Producto de dureza x cohesividad x elasticidad, que se refiere a la cantidad de energía requerida para masticar un alimento sólido. No se expresa con unidades.

Para el análisis de dichos parámetros se tomaron dos porciones de embutido y se obtuvieron de las mismas 20 rodajas de 1,5 cm de ancho mediante cortes paralelos al eje del embutido. Se seleccionaron 5 rodajas de las 20 obtenidas de forma que para cada tipo de embutido se analizara la textura por quintuplicado colocando cada rodaja en el aparato de medida apoyada sobre una de sus caras planas.

Parámetros instrumentales

- Velocidad de la sonda preensayo, ensayo y retorno: 10; 2 y 10 mm/seg.
- Distancia de penetración: 50% de la altura (7,5 mm)
- Fuerza de trigger: 0,2 N.
- Diámetro sonda: 75 mm (sonda SMSP 75)
- Tiempo de espera entre ciclos: 6 seg.
- Peso para calibración de fuerza: 5 kg

2.10. Análisis microbiológicos (microbiota aerobia mesófila viable, bacterias ácido lácticas y, cocos Gram + halotolerantes)

Preparación de las muestras, suspensiones iniciales y diluciones decimales

La preparación de las muestras y obtención de las diluciones decimales se llevó a cabo siguiendo la metodología descrita en la norma ISO 6887-2 (ISO, 2003a). Se pesaron asépticamente $10 \pm 0,1$ g de muestra en una bolsa estéril de Stomacher, se diluyeron en 90 ml de una solución estéril de

agua peptonada (dicha solución contenía 0,1% de peptona y 0,85% de NaCl) y se homogenizó en Stomacher durante 2 min a 150 rpm para obtener la primera dilución (1:10 p/v); a partir de la que se realizaron las siguientes diluciones con la misma solución estéril.

Expresión de resultados microbiológicos

Las colonias se contaron dentro de las cuatro horas siguientes a la finalización del periodo de incubación. Se seleccionaron las placas en las cuales se desarrollaron entre 30 - 300 colonias. Los recuentos obtenidos se expresaron como Log₁₀ de unidades formadoras de colonias (ufc) por g.

Sensibilidad de los métodos

Los métodos de siembra empleados para el recuento microbiano en la masa del embutido tienen una sensibilidad de 10 ufc/g para aerobias mesófilas, cocos Gram + halotolerantes y BAL. Esto quiere decir, que poblaciones inferiores a estos valores no pueden ser detectados por los métodos empleados.

2.10.1 Microbiota aerobia mesófila viable (FAMV)

El análisis de FAMV se llevó a cabo según se describe en la norma ISO 4833 (ISO, 2003b).

Material – reactivos – medios 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

A partir de la serie de diluciones decimales y por duplicado, se depositó usando puntas estériles y con la ayuda de una micropipeta, 1 ml de cada dilución en placas de Petri. A cada placa se le añadieron aproximadamente 15-20 ml de medio PCA, el cual previamente fue diluido en

agua destilada y esterilizado a 151 °C durante 15 min. Este fue adicionado a una temperatura de $45 \pm 0,5$ °C, se mezcló cuidadosamente y se dejó solidificar, colocando las placas sobre una superficie horizontal (Método de siembra en profundidad). Una vez solidificadas las placas se introdujeron invertidas en estufa de incubación a 30 ± 1 °C durante 72 ± 3 h.

2.10.2 Bacterias ácido lácticas (BAL)

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

Material – reactivos – medios de cultivo

- Placas de Petri estériles de 90 mm de diámetro.
- Agar MRS (de Man, Rogosa y Sharp) (CM0361, Oxoid, Ltd.).

Procedimiento

Se realizó el mismo procedimiento descrito en el punto anterior, empleando el método de siembra en profundidad, adicionando una segunda capa de medio. Una vez solidificadas las placas de agar MRS se introdujeron invertidas en estufa de incubación a 30 ± 2 °C durante 72 h.

2.10.3 Cocos Gram + halotolerantes

El análisis de Cocos Gram + halotolerantes se realizó de acuerdo a la metodología descrita por Cordero et al. (2000).

Material – Reactivos – Medios de cultivo

- Placas de Petri estériles de 90 mm de diámetro.
- Agar sal manitol (MSA) (CM85, Oxoid, Ltd.).

Procedimiento

Se realizó el mismo procedimiento descrito en puntos anteriores empleando el método de siembra en profundidad. Una vez solidificadas las

placas de agar MSA se introdujeron invertidas en estufa de incubación a 35 ± 2 °C durante 48 h.

2.11. Análisis sensorial

Se llevaron a cabo dos tipos de pruebas sensoriales: análisis descriptivo y prueba afectiva. En ambos casos se evaluaron los embutidos de pequeño calibre control y los embutidos con grasa parcialmente sustituida por distintas proporciones de quinua y patata. Las piezas de embutido se mantuvieron en congelación (-50 °C) hasta el momento del análisis, en el que se descongelaron en cámara de refrigeración durante 24 h y se cortaron.

2.11.1. Análisis descriptivo

Para la realización de este análisis se constituyó un panel de cata formado por 16 miembros, todos ellos estudiantes de último curso de veterinaria, integrantes de un grupo de prácticas de la asignatura Rotatorio Practicum 4, Higiene, Inspección y Tecnología de los alimentos (curso 2010/2011). El grupo estuvo constituido por una proporción de 60% mujeres y 40% hombres, con edades comprendidas entre 22 y 30 años. En un primer contacto, dentro del horario de la práctica, se les informó del objeto del estudio y de la intención de formar un equipo de evaluación sensorial específico para dicho estudio. Debido a que no presentaron ninguna incapacidad física o impedimento específico para la realización de la cata y todos ellos manifestaron interés en la realización de la misma, y con objeto de contar con el mayor número posible de catadores, se consideró a todos los alumnos como aptos para realizar el estudio.

Entrenamiento

El entrenamiento se realizó en dos fases: una formación teórica general y otra formación práctica específica de dos sesiones. De este modo, se realizaron en total tres sesiones de entrenamiento de 45 minutos de duración.

En la primera sesión se expusieron los fundamentos teóricos del análisis sensorial, del análisis descriptivo y de las escalas utilizadas para el análisis descriptivo, mostrándose dichas escalas así como el procedimiento para su uso.

La segunda sesión de entrenamiento consistió en exponer, discutir y realizar la evaluación de las características de apariencia, textura, sabor, olor y valoración general de los embutidos crudo-curados. Se utilizó como base escrita el texto del capítulo 13 “El análisis sensorial de embutidos derivados del cerdo” del libro de Sancho et al. (1999). Simultáneamente a las explicaciones se probaron tres salchichones obtenidos en el mercado con objeto de experimentar con dichos salchichones, discutiendo en grupo las eventuales diferencias en los atributos sensoriales mencionados entre salchichones. De esta forma fueron definidos los principales atributos implicados en la calidad de los embutidos, la forma o procedimiento para su evaluación descriptiva y se discutió sobre la valoración de su importancia en el contexto de la calidad de los embutidos. También se convinieron cuando fue posible, referencias para la evaluación de la jugosidad, sensación picante e intensidad de olor y de sabor. Como referencia de muy alta jugosidad se consideró la pera de agua y como referencia de baja jugosidad la galleta maría (Anzalzúa-Morales, 1994). En cuanto a la escala de picante se estableció el picor de la pimienta cayena como referencia de una sensación muy picante y la ausencia de picante como valor cero. Para la valoración de la intensidad de olor y de sabor se pidió a los catadores que se basaran en su experiencia e interpretación personal como consumidores, en relación a lo que el catador considerase un máximo de olor y sabor para un embutido y lo que considerara como un embutido sin olor y sabor.

Tercera sesión: Evaluación práctica (valoración descriptiva) individual de los atributos trabajados en la sesión previa sobre 5 embutidos obtenidos en el mercado y que presentan cierta similitud con los del estudio (color, diámetro, grado de maduración): salchichón de pequeñas empresas de

León de 20 mm de calibre (2), longaniza de pascua (2), salchichones formato mini (1), utilizando la escala que posteriormente se utilizará para los análisis. Después de la valoración individual se pusieron en común las respuestas con el fin de contribuir a una mayor homogeneización de los criterios de puntuación.

Desarrollo de las sesiones de cata

Se realizaron dos sesiones de cata, con una duración aproximada de 25 min cada una, comenzando a las 11 de la mañana en dos días consecutivos. En la primera sesión se evaluaron el olor y la jugosidad de los embutidos y en la segunda sesión la intensidad de sabor y de sensación picante. En cada sesión se evaluaron los 5 tratamientos objeto de estudio (control, quinua 50%, quinua 85%, patata 50% y patata 85%). En ambas sesiones las muestras descongeladas se trocearon y dispusieron en platos en el momento del análisis.

Las sesiones se llevaron a cabo en una sala de cata equipada cumpliendo con los requisitos de la Norma ISO 8589 (ISO, 1988). En cada una de las cabinas de cata se colocó un impreso o ficha de cata para evaluar los embutidos de cada tratamiento, un bolígrafo, una servilleta, un vaso con agua mineral natural y una rebanada de pan tostado sin sal, para limpiar la boca entre muestras. La iluminación en cada uno de los puestos fue luz blanca difusa. Una vez sentado el catador se le ofrecieron de forma secuencial cinco platos de plástico, cada uno con 3 rodajas de 1 cm de grosor de embutido de un mismo tipo. Cada muestra (cada plato) se presentó codificada por un número de tres cifras también aleatorias. No se ofreció un nuevo plato de embutido hasta que no se hubiese puntuado el embutido del plato anterior. En otras palabras, cuando un catador terminó la evaluación de una muestra, lo indicó y se le proporcionó la siguiente. El orden de presentación de muestras de cada tipo de embutido a cada catador fue aleatorio. Se permitió ingerir el embutido durante el desarrollo de las sesiones. En las figuras 3.8-A y 3.8-B se muestran las fichas de cata utilizadas para cada una de las sesiones.

2.11.2. Prueba hedónica

El análisis consistió en la realización de una prueba de grado de satisfacción de cada tipo de embutido, mediante la utilización de una escala hedónica de cinco puntos. Los participantes fueron estudiantes de veterinaria y ciencia y tecnología de los alimentos, así como becarios y personal de la facultad de veterinaria de la Universidad de León. Cada tipo de embutido con sustitución de grasa fue probado por entre 82 a 86 personas y el embutido control fue probado por el doble de catadores (164). La presentación de las muestras a los catadores se realizó de acuerdo al procedimiento descrito por Poste et al. (1991), utilizándose cabinas individuales, iluminadas con luz blanca difusa.

El análisis se llevó a cabo en dos fases de cuatro días de duración cada una. Una primera fase para probar los embutidos control y los de grasa parcialmente sustituida por quinua y una segunda fase para los embutidos control y los de patata como ingrediente de sustitución de la grasa. Las muestras, previa descongelación, fueron troceadas uniformemente en rodajas de 1 cm de espesor en el momento del análisis. A cada catador se le presentó un plato con tres muestras de embutido codificadas con tres dígitos. Durante la primera fase de pruebas (quinua) las muestras evaluadas por cada catador fueron siempre una muestra de dos rodajas de embutido control, otra con dos rodajas de quinua 50% y otra con dos rodajas de quinua 85%, presentadas en el plato en orden aleatorio. Durante la segunda fase (patata) se presentaron también aleatoriamente en cada plato un par de rodajas de embutido control, dos rodajas de patata 50% y otras dos de patata 85%. En la fig. 3.9 se incluye la ficha de cata utilizada para esta prueba.

En la fig. 3.10 se muestra la pérdida de peso (fundamentalmente pérdidas de humedad) de los embutidos durante su maduración, en función del grado de sustitución de grasa (A) y del sustituto empleado (B). Las pérdidas de peso se incrementaron con el tiempo ($P<0,05$), tendiendo a estabilizarse al final de la maduración, alcanzándose pérdidas finales de entre el 42 y 57%. Estas pérdidas permiten clasificar a estos embutidos en la categoría de embutidos secos (Adams, 1986). También se observa en la fig. 3.10-A, cómo la sustitución de grasa favorece la pérdida de humedad ($P<0,05$). A este respecto, tanto Feiner (2006) como Stiebing y Rödel (1988) señalan que a mayor contenido de grasa en un embutido madurado, el secado será más lento. Ruiz-Capillas et al. (2012) encontraron un patrón de secado similar al descrito durante el secado de embutidos con diferente grado de sustitución de grasa por un gel acuoso de konjac (*Amorphophallus konyac*), de modo que a mayor grado de sustitución, mayor fue la velocidad de secado; esto lo atribuyeron al mayor contenido acuoso de los embutidos con sustitución de grasa. Por otra parte, en la fig. 3.10-B se aprecia cómo las pérdidas de humedad fueron similares en los embutidos con quinua y patata, aunque estos últimos perdieron más humedad (55 %) que los primeros (52 %); mostrando la diferencia una tendencia estadística en el análisis de varianza ($P<0,01$).

En la fig. 3.11 se grafica la disminución en la a_w de los embutidos, parámetro que estuvo claramente relacionado con la pérdida de peso. De esta forma, a mayor tiempo de maduración, mayor fue la pérdida de peso y menor la a_w en los embutidos ($P<0,05$). El descenso en la a_w es comparable al descrito por Sayas-Barberá et al. (2012) en la longaniza de pascua, aunque en ese caso la a_w inicial fue algo menor y la pendiente del descenso algo más pronunciada, lo que tal vez sea debido a la mayor cantidad de sal utilizada en esa longaniza (2,0% vs 1,8%), a que las tripas eran un par de mm más gruesas y a algunas diferencias en las condiciones y/o diseño de la cámara de secado, que posibilitaran un secado más rápido en los embutidos analizados en el presente estudio.

En los embutidos control (fig. 3.10-B) la a_w fue más baja que en los embutidos con sustitución, a los distintos tiempos de muestreo ($P<0,05$; fig. 3.10-A). Además, esta diferencia en la a_w entre el control y los embutidos con sustitución se incrementó en la segunda mitad de la maduración. Para explicar esas diferencias se ha de tener en cuenta que la cantidad de grasa en un embutido ejerce un efecto inverso sobre su a_w (Feiner, 2006), entre otras causas porque la sal agregada a la masa del embutido tiene menor cantidad de agua, el agua de la carne, donde disolverse (más grasa implica menos carne) y por lo tanto la concentración de sal en fase acuosa es más elevada a igual contenido de sal en el embutido.

La fig. 3.10-B muestra que los embutidos con patata, a pesar de que fueron los que más peso perdieron, tuvieron valores de a_w ligeramente superiores a los de quinua (tendencia estadística; $P<0,1$). Este hecho es indicativo de que la masa inicial de los embutidos con patata fue más húmeda (probablemente por el mayor contenido en humedad de la patata cocida que el de la quinua cocida) y aunque perdieron más humedad durante la maduración, la a_w se mantuvo siempre por encima de los de quinua.

El grado de acidificación de los embutidos de pequeño calibre durante su maduración se muestra en la fig. 3.12. Se puede apreciar como el pH de los embutidos descendió con el tiempo ($P<0,05$). El descenso se produjo fundamentalmente entre los días 3 y 8 de maduración, lo que indica que fue en ese tiempo donde se desarrolló con mayor intensidad la fermentación de los azúcares (Ordóñez et al., 1999). No obstante, el descenso en el pH en esos días fue en todos los casos moderado, de forma que no se llegaron a alcanzar valores inferiores a 5,9, lo que es indicativo de embutidos de lenta y/o baja acidificación (Incze, 1992).

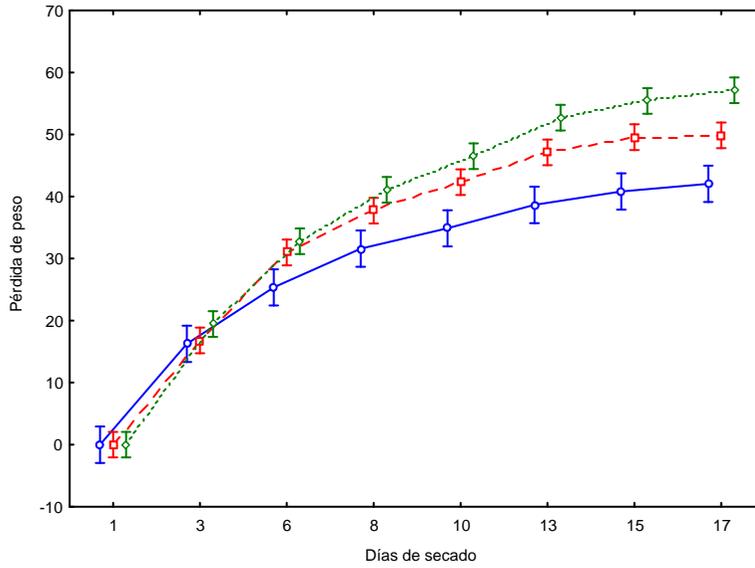
La baja acidificación de estos embutidos se puede atribuir por una parte a la baja temperatura de maduración (15 °C, sin estufaje) y por otra al pequeño calibre de los embutidos. El pequeño calibre junto con la baja HR de la cámara (75%) hacen que el embutido se seque rápidamente y su a_w alcance

en pocos días valores que inhiben el crecimiento de las bacterias ácido lácticas (BAL) y por lo tanto la fermentación (Feiner, 2006). También los pequeños diámetros permiten la difusión de una cantidad considerable de oxígeno desde el exterior al interior, lo que provoca una reducción en la formación de ácido láctico por las BAL (Flores y Bermel, 1994).

El grado de sustitución de grasa no afectó a los valores de pH en la masa inicial del embutido pero sí al pH alcanzado durante la maduración, que fue más bajo en los embutidos con quinua o patata que en el control ($P < 0,05$; fig. 3.12-A). Esta última observación se puede explicar porque los sustitutos, al ser productos de origen vegetal, aportan azúcares fermentables a la masa del embutido que son el sustrato de la fermentación de las BAL (Liepe et al., 1990). La patata tiene en torno a 2 % de azúcares (Wilson et al., 1981; USDA, 2012) y la quinua cocida en torno a 1,5 % (Koziol, 1992). También el mayor contenido en agua en los embutidos con menos grasa podría ser un factor responsable del mayor descenso del pH (Olivares et al., 2010).

Respecto la relación de la cantidad de azúcares en la masa con el descenso del pH de los embutidos, como norma general, la inclusión de 1% de azúcares en la formulación ocasiona un descenso de una unidad de pH en el embutido (Vösgen, 1994). El descenso del pH en los embutidos del presente estudio fue de 3 décimas, lo que concuerda de forma aproximada con el aporte de 0,2 a 0,4% de azúcares a la masa inicial del embutido por parte de los sustitutos de la grasa en las cantidades agregadas. También hay que tener en cuenta que dado el pequeño calibre de los embutidos, el descenso de pH puede ser menor del esperado por una inhibición del desarrollo microbiano al alcanzarse rápidamente bajos valores de a_w , tal y como se explicó anteriormente. El tipo de sustituto de la grasa (patata o quinua) no afectó a la evolución del pH ($P < 0.05$; fig. 3.12-B). Las eventuales diferencias en la cantidad de azúcares disponibles en la masa debidas a la diferente composición de los sustitutos, no tuvieron efecto sobre el pH.

A.



B.

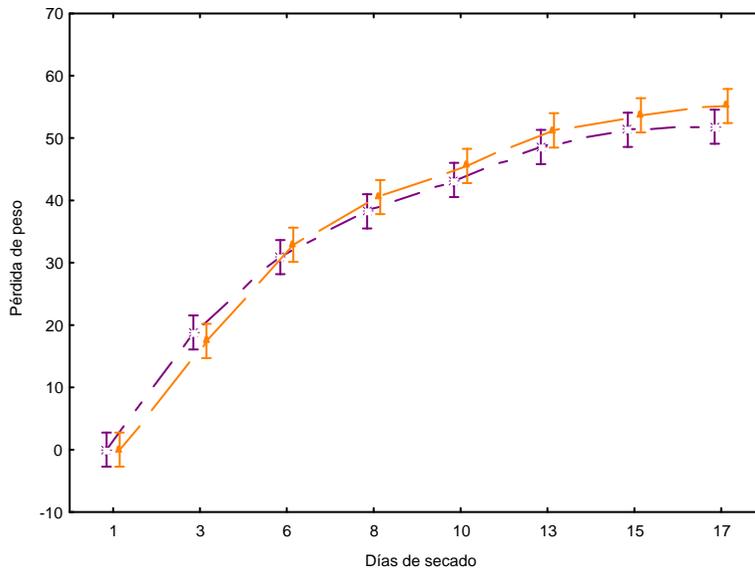
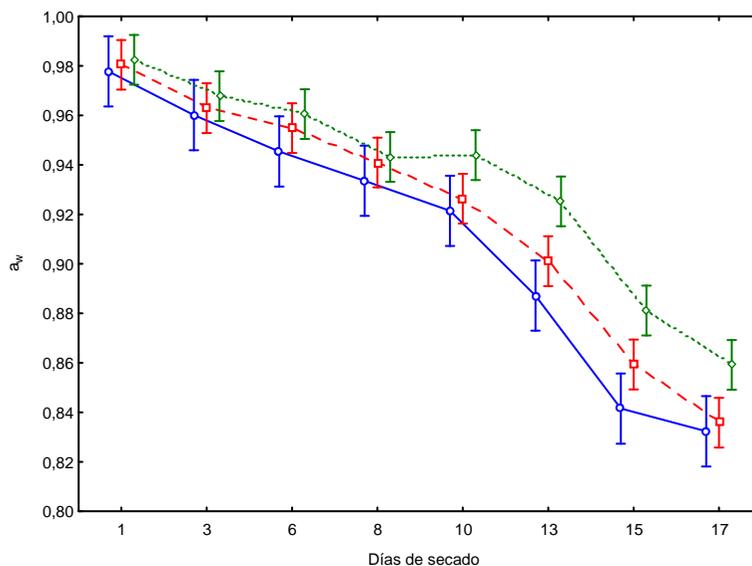


Figura 3.10. Evolución de la pérdida de peso (%) en los embutidos de acuerdo al grado de sustitución de grasa (A: —○—: 0%; --□--: 50%; ···◇···: 85%); e ingrediente utilizado para dicha sustitución (B: - - -⊗- - - : quinua; —▲—: patata). Las barras de error se corresponden con el intervalo de confianza del 95%.

A.



B.

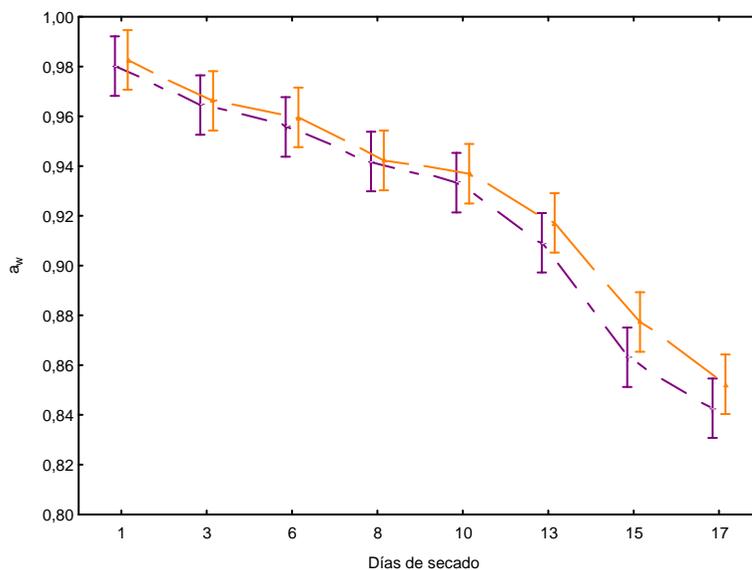
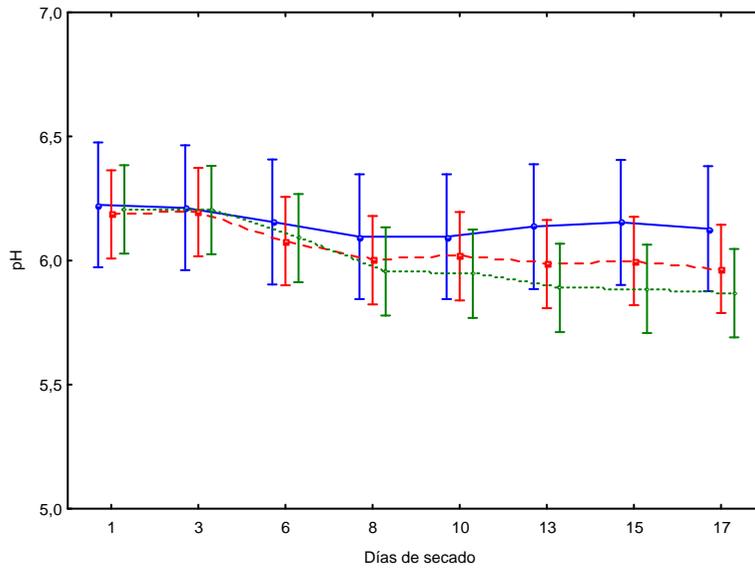


Figura 3.11. Evolución de la a_w en los embutidos de acuerdo al grado de sustitución de grasa (A: —○—: 0%; —□—: 50%; —◇—: 85%); e ingrediente utilizado para dicha sustitución (B: —☆—: quinua; —▲—: patata). Las barras de error se corresponden con el intervalo de confianza del 95%.

A.



B.

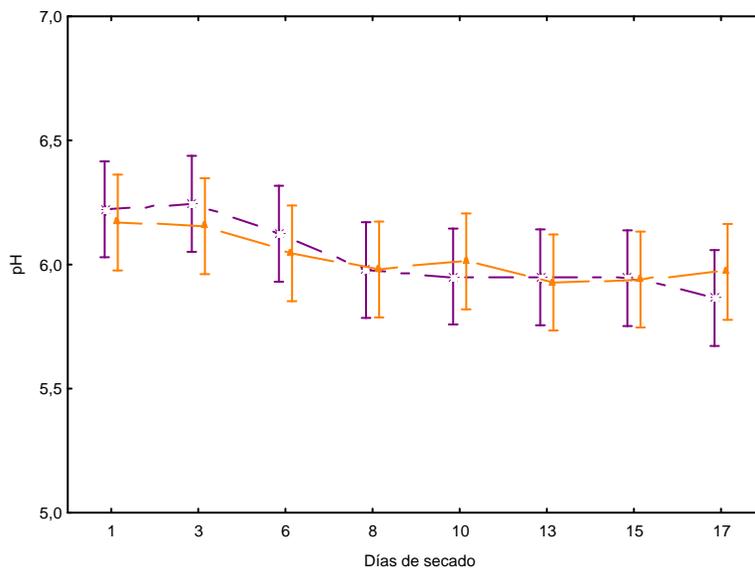


Figura 3.12. Evolución del pH en los embutidos de acuerdo al grado de sustitución de grasa (A: —○—: 0%; - -□- -: 50%; - -◇- -: 85%); e ingrediente utilizado para dicha sustitución (B: - -□- -: quinoa; —▲—: patata). Las barras de error se corresponden con el intervalo de confianza del 95%.

3.2. Composición proximal y contenido de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico de los embutidos (SRATB)

En la tabla 3.2 se muestra la composición proximal y el contenido en SRATB de los embutidos estudiados, de acuerdo al porcentaje de sustitución de la grasa (0, 50 y 85%) empleado en su formulación (la cantidad de tocino en el embutido control fue del 30%) y al tipo de ingrediente utilizado para dicha sustitución, quinua o patata. Los resultados del 50 y 85% de sustitución de la grasa son valores promedio, calculados a partir de los resultados obtenidos en los embutidos elaborados tanto con quinua como con patata. Igualmente, los datos relativos al tipo de ingrediente, quinua o patata, fueron calculados como valores promedio, incluyendo los contenidos para los dos porcentajes (50 y 85% de sustitución) estudiados con cada ingrediente.

Como se puede apreciar en la tabla 3.2, se encontraron diferencias significativas en los contenidos de grasa y humedad en relación a la mayor o menor cantidad de grasa sustituida. Como era de esperar, el contenido en humedad aumentó significativamente a medida que se sustituyó mayor proporción de grasa en la formulación. De igual manera, el contenido en grasa disminuyó de forma significativa a medida que aumentó el grado de sustitución de la grasa. La proteína, principalmente proteína cárnica, no experimentó cambios debidos al grado de sustitución de forma que la proteína aportada por la grasa se compensó por la aportada por los sustitutos – aproximadamente la grasa dorsal de cerdo tiene un contenido de proteína de 3%, la quinua cocida de 4% y la patata cocida de 2% (USDA, 2012). En cuanto al tipo de ingrediente empleado, la composición fue prácticamente igual para los embutidos elaborados con quinua y patata.

Finalmente, los niveles de SRATB fueron más elevados en el embutido control, con más cantidad de grasa, que en los embutidos con sustitución de grasa, aunque las diferencias no llegaron a ser significativas, lo que se explica por el escaso número de lotes (3) y la alta variación de las

SRATB encontrada entre los lotes elaborados. Las SRATB en los embutidos crudo-curados se utilizan con frecuencia para determinar el grado de oxidación de los mismos (Summo et al., 2010). No obstante, la relación de este índice con el grado de oxidación no siempre ofrece buenos resultados en este tipo de embutidos debido a que las SRATB reaccionan con otras sustancias del embutido y por lo tanto desaparecen a lo largo de la maduración, llegándose a observar una disminución de la concentración de SRATB durante la maduración de los embutidos (Marco et al., 2006). En cualquier caso, los valores obtenidos fueron elevados en comparación con los encontrados en otros estudios para diferentes embutidos crudo-curados (Bozkurt y Erkment, 2007; Marco et al., 2006; Ruiz-Capillas et al., 2012; Summo et al., 2010). Esta mayor cantidad se puede atribuir al menos parcialmente al pequeño calibre de los embutidos, que posibilita una mayor difusión de oxígeno en la masa creando condiciones de mayor Eh.

Tabla 3.2. Composición proximal (%) y contenido de sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico (SRATB; mg de malonaldehído/kg) de los embutidos según el grado de sustitución de grasa y tipo de ingrediente utilizado para dicha sustitución

Composición	% de sustitución de grasa			EEM	P	Ingrediente		EEM	P
	0 (n=3)	50 (n=6)	85 (n=6)			Quinua (n=6)	Patata (n=6)		
Humedad	54,3 ^c	62,5 ^b	66,9 ^a	1,4	***	64,0	65,5	1,1	NS
Grasa	28,9 ^a	18,5 ^b	9,9 ^c	1,9	***	14,3	14,1	1,4	NS
Proteína	15,4	14,3	14,3	0,2	NS	13,8	14,8	0,3	NS
Cenizas	2,4	2,5	2,6	0,0	NS	2,6	2,5	0,0	NS
SRATB	8,2	5,4	4,2	0,8	NS	4,5	5,2	0,5	NS

EEM: Error estándar de la media.

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

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

3.3. Recuentos microbiológicos

En las figuras 3.13 y 3.14 se muestran los recuentos de microbiota aerobia mesófila viable (FAMV; medio de cultivo PCA) y de las BAL (medio de cultivo MRS) en los días 1 y 17 del secado, respectivamente, en función del grado de sustitución de grasa (Fig. 3.13- y 3.14-A) y del ingrediente

utilizado como sustituto de la grasa (Fig. 3.13- y 3.14-B). Los niveles de recuentos en PCA y MRS fueron similares entre sí, lo que indica que las BAL fue el grupo microbiano predominante. Los recuentos de FAMV y BAL obtenidos estuvieron dentro de los rangos habituales descritos para los embutidos crudo-curados de baja acidificación (Comi et al., 2005; Kozaciński et al., 2006; Lücke, 1998; Sayas-Barberá et al., 2012).

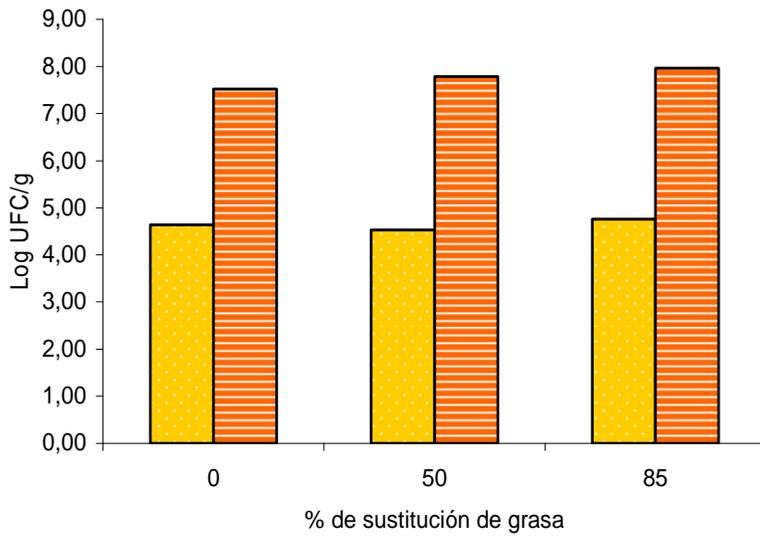
La mayor o menor proporción de grasa utilizada en la elaboración de los embutidos o la utilización de quinua o patata en lugar de grasa no mostró ningún efecto significativo sobre el crecimiento de FMAV ni BAL. Por lo tanto, la incorporación de azúcares por medio de los sustitutos de la grasa no afectó significativamente a los recuentos de FAMV o BAL. No obstante, se puede detectar cierto efecto entre la cantidad de sustituto y las BAL, fijándose en que hubo un incremento en la media de las BAL y un decremento en el pH a medida que aumentó la cantidad de sustituto, y que la correlación entre pH y recuentos de BAL fue de $r = -0,46$, con un valor de $P = 0,063$ (tendencia estadística). En cualquier caso la cantidad de azúcares en la masa, aunque si tiene un efecto claro sobre la reducción del pH de los embutidos (Liepe et al., 1990), no lo tiene tan claro sobre los recuentos finales de BAL. En este sentido, González-Fernández et al. (2006) observaron que la adición de azúcares en la formulación de los embutidos no afectó significativamente al crecimiento de las BAL.

En otros estudios se ha observado como la sustitución de grasa en la formulación de embutidos fermentados, por gel de konjac, aceite de oliva o fibra no originó cambios significativos en el crecimiento de estos microorganismos (Muguerza et al., 2002; Fernández-López et al., 2008; Ruiz-Capillas et al., 2012). Por otra parte, se ha encontrado que la fibra (fibra de naranja en niveles en torno a 4%), puede estimular el crecimiento de la BAL en los embutidos aumentando sus recuentos (Yalınkılıç et al., 2012). En nuestro caso, la cantidad de quinua o patata empleada aportaría una escasa cantidad de fibra al embutido que tal vez no sería suficiente como para

alcanzarse concentraciones suficientes que causaran ese efecto positivo sobre el crecimiento de las BAL (el contenido en fibra dietética de la quinua y de la patata cocidas está en torno al 2-3%; USDA, 2012).

Los recuentos en MSA (medio utilizado para el recuento de cocos Gram + halotolerantes) se muestran en la fig. 3.15. Se incluyen los recuentos en los embutidos al inicio y al final del periodo de secado (días 1 y 17), en función del grado de sustitución de grasa (fig. 3.15-A) y del ingrediente empleado para dicha sustitución en la formulación (fig. 3.15-B). Al igual que el resto de recuentos microbianos realizados, los niveles de cocos Gram + halotolerantes detectados fueron similares a los descritos en estudios previos de embutidos fermentados (Sayas-Barberá et al., 2012; Comi et al., 2005; Kozačinski et al., 2006). Además, el crecimiento de cocos Gram + halotolerantes en los embutidos no se vio significativamente afectado por el contenido en grasa de los mismos, ni por la adición de quinua o patata como sustitutos de la grasa. Yalınkılıç et al. (2012) observaron que aunque la mayor o menor cantidad de grasa empleada para la elaboración de los embutidos no ejerció ningún efecto sobre el crecimiento de estos microorganismos, la utilización de fibra de naranja (concentraciones de 2-4%) ejerció un efecto negativo de sobre el crecimiento de cocos Gram + halotolerantes. Este efecto de la fibra de naranja fue atribuido a la disminución del pH originada por la utilización de dicha fibra, al tratarse las cocos Gram + halotolerantes de microorganismos sensibles a las condiciones de acidez. Sin embargo, los resultados obtenidos al respecto en diversos estudios son contradictorios ya que Fernández-López et al. (2008) observaron como la adición de fibra de naranja en salchichón se asociaba a un incremento en el crecimiento de cocos Gram + halotolerantes, mientras que García et al. (2002) no observaron ningún efecto del uso de fibra de frutas sobre dicho crecimiento en los embutidos.

A.



B.

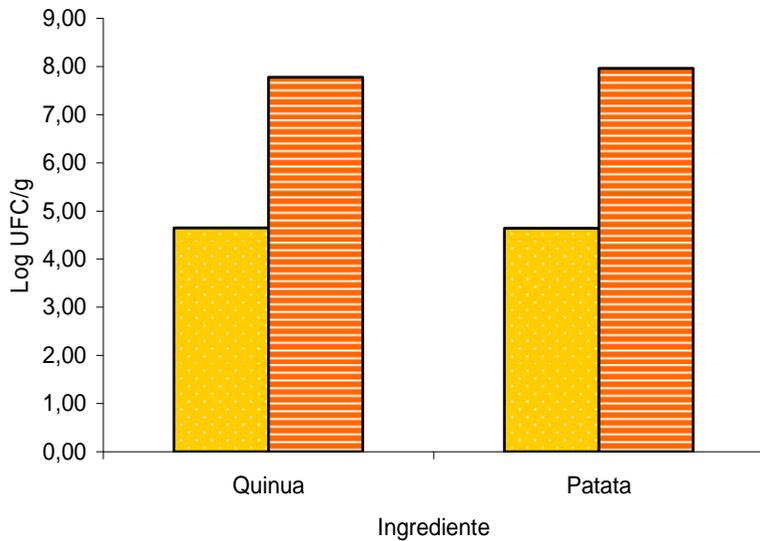
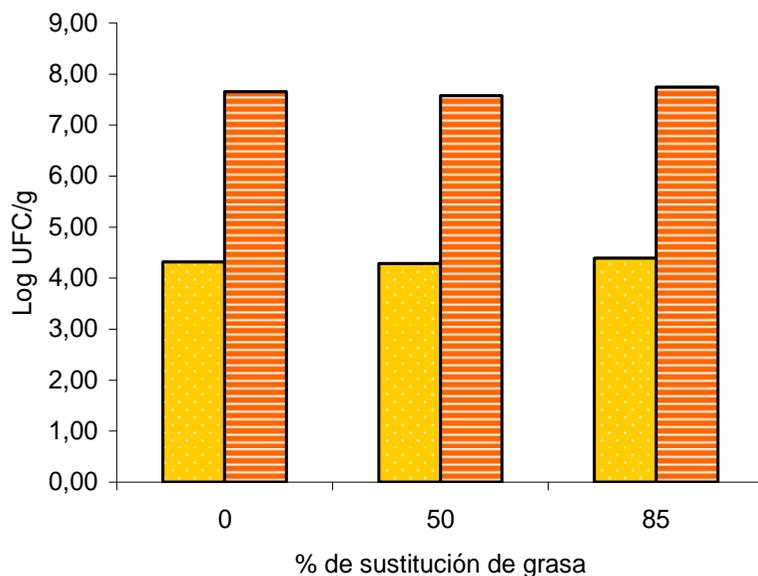


Figura 3.13. Recuentos en PCA obtenidos de embutidos de acuerdo al grado de sustitución de grasa (A) e ingrediente utilizado para dicha sustitución (B), en los días 1 (barra punteada) y 17 (barra rayada) del secado.

A.



B.

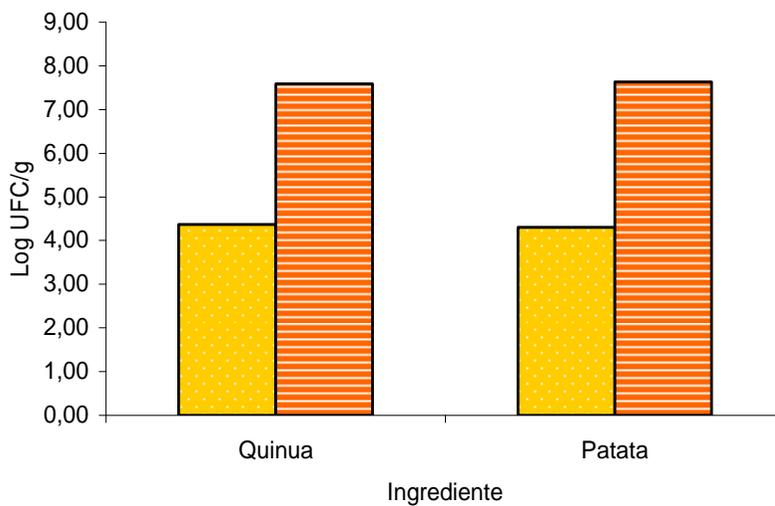
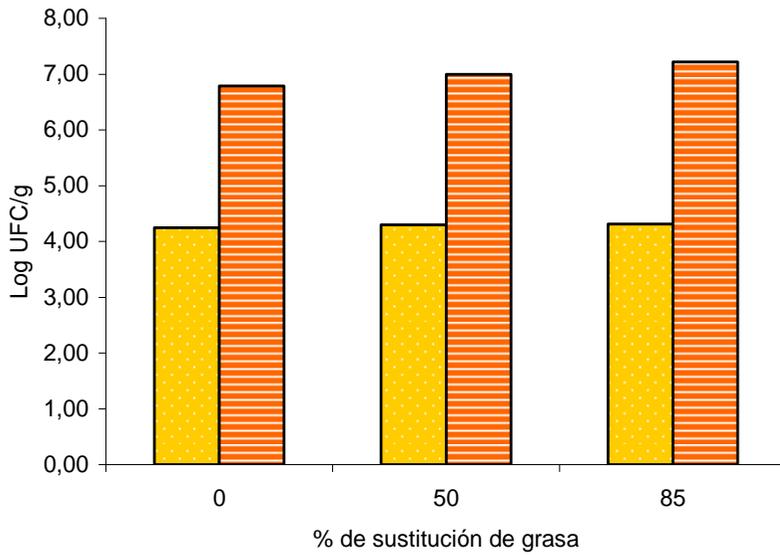


Figura 3.14. Recuentos en MRS obtenidos de embutidos de acuerdo al grado de sustitución de grasa (A) e ingrediente utilizado para dicha sustitución (B), en los días 1 (barra punteada) y 17 (barra rayada) del secado.

A.



B.

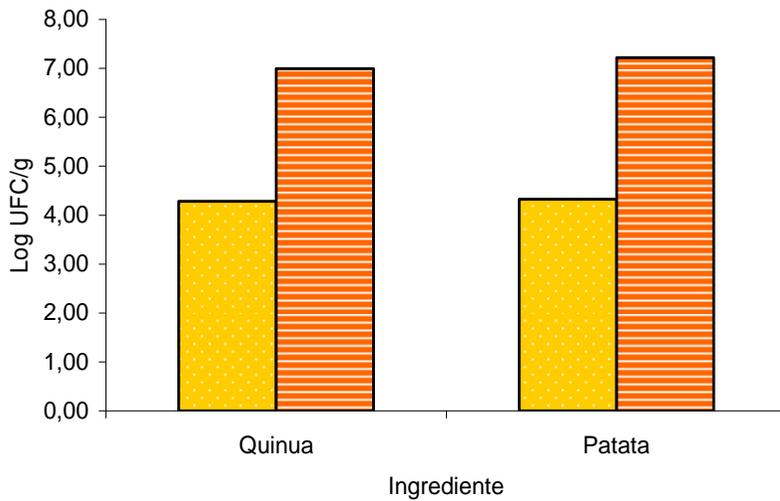


Figura 3.15. Recuentos en MSA obtenidos de embutidos de acuerdo al grado de sustitución de grasa (A) e ingrediente utilizado para dicha sustitución (B), en los días 1 (barra punteada) y 17 (barra rayada) del secado.

3.4. Compuestos volátiles

El grado de sustitución de la grasa empleada en la formulación de los embutidos mostró un claro efecto sobre el contenido en volátiles del espacio de cabeza de los mismos, condicionando principalmente los compuestos volátiles derivados de los procesos de oxidación y degradación de la misma, así como la de algunos compuestos terpénicos (tabla 3.3).

Respecto a los compuestos derivados de la oxidación de los lípidos: la 2-heptanona, los aldehídos y alcoholes alifáticos de cadena lineal (a excepción del acetaldehído y etanol cuyo origen no es la oxidación), los niveles de los mismos se vieron disminuidos a medida que aumentó el grado de sustitución de la grasa por quinua o patata, tal y como se observa en la tabla 3.3. Este descenso fue estadísticamente significativo ($P < 0,05$) en el caso de dos aldehídos, el hexanal (compuesto mayoritario de la oxidación lipídica, derivado de la degradación del ácido linoleico; Frankel, 1983; Paleari et al., 2004) y el heptenal (derivado de la oxidación de varios ácidos grasos poliinsaturados, Frankel, 1983; Elmore et al., 2005). Este último aldehído descendió con respecto al control cuando el porcentaje de sustitución de grasa fue del 50% y no fue detectado cuando la sustitución fue del 85%. Del mismo modo, la presencia de 2-heptanona fue significativamente superior en los embutidos elaborados con mayor cantidad de grasa. El origen de la 2-heptanona ha sido atribuido a la autooxidación de los ácidos grasos presentes en el embutido (Bruna et al., 2001) o a la beta-oxidación de los ácidos grasos libres mediada por la acción de enzimas microbianas (Bruna et al., 2001; Sunesen et al., 2001; di Cagno et al., 2008; Olivares et al., 2009). Esta última vía de formación implicaría la descarboxilación de un cetoácido, generándose la correspondiente metil-cetona (Bruna et al., 2001).

El efecto negativo observado del grado de sustitución de grasa sobre los compuestos volátiles originados de la degradación/oxidación de la misma también ha sido descrito en los estudios de Olivares et al. (2011) y Campagnol

et al. (2012). Estos últimos manifestaron la relevancia de este grupo de compuestos en el aroma de los embutidos debido a sus bajos umbrales de detección aromática. Al igual que en el presente estudio, en los anteriormente mencionados el hexanal fue el compuesto más abundante. En general, los compuestos de oxidación lipídica presentan umbrales de detección muy bajos, de modo que participan notablemente en el aroma del embutido. Concretamente, el aroma del hexanal ha sido habitualmente descrito como “a hierba” (Shahidi y Pegg, 1994; Stanhke, 1994), sin embargo en elevada concentración ha sido asociado a rancidez (Shahidi y Pegg, 1994; Brunton et al., 2000)

Por otra parte, respecto a los niveles de compuestos terpénicos, en general, a medida que disminuyó el contenido graso (mayor proporción de grasa sustituida por quinua o patata), aumentó el contenido de este tipo de compuestos en el espacio de cabeza de los embutidos. Esta mayor presencia fue estadísticamente significativa en el caso de numerosos compuestos: tujeno, mirceno, para-cimeno, limoneno, gamma-terpineno, linalool, copaeno, longifoleno, cariofileno (2 isómeros), alfa-humuleno, óxido de cariofileno y un sesquiterpeno de estructura no determinada. Esta observación se puede explicar por la alta solubilidad de los terpenos en la grasa de los embutidos de forma que la cantidad de grasa influye en el grado de liberación de estos compuestos al espacio de cabeza. De esta forma, a mayor contenido en grasa menor será la cantidad de compuestos terpénicos en el espacio de cabeza, a pesar de que la concentración de los mismos en el embutido pudiese ser similar. También Campagnol et al. (2012) y Yoo et al. (2007) observaron un aumento en los compuestos terpénicos con la sustitución de grasa en embutidos.

Con respecto al efecto de la cantidad de grasa sobre la liberación de los componentes volátiles de los productos cárnicos al espacio de cabeza, Carrapiso (2007) y Chevance y Farmer (1999) observaron claramente como el contenido en grasa de embutidos frescos o salchichas cocidas influyó

negativamente sobre la liberación de compuestos lipofílicos en el espacio de cabeza de los mismos (la liberación se retrasa). También se ha observado este fenómeno en modelos que simulan sistemas alimentarios (Roberts et al., 2003; Seuvre et al., 2007). Por otra parte, la presencia de carbohidratos puede influir en la volatilidad de los compuestos volátiles (Chevance et al., 2000). La liberación del aroma es un fenómeno complejo que depende de fenómenos de transferencia de masa y de las posibles interacciones con la matriz alimentaria (Roberts et al., 1996). Generalmente, los carbohidratos afectan negativamente a la volatilidad de los compuestos hidrofóbicos debido a que se establecen uniones inespecíficas entre ambos tipos de moléculas; sin embargo, si los carbohidratos superan cierta concentración en la matriz acuosa, se produce el efecto contrario (Godshall, 1997).

Además de los grupos de compuestos mencionados, hay algunos compuestos distintos a los anteriores: 2,3-butanodiol, 2-metil-butanol y ácido 2-metil-butírico que no aparecen (o aparecen en poca cantidad) en los embutidos con toda la grasa y sí aparecen cuando se le agrega el sustituto o aumentan con el grado de sustitución. La presencia de los dos compuestos metil-ramificados (2-metil-butanol y ácido 2-metil-butírico) se describe en algunos trabajos que determinan los compuestos volátiles en el espacio de cabeza de los embutidos crudo-curados (Procida et al., 1999; Olesen y Stahnke, 2000; Bruna et al., 2001; Andrade et al., 2010; Campagnol et al., 2012; Janssens et al., 2012; Lorenzo et al., 2012). Su presencia se ha atribuido al catabolismo de aminoácidos (isoleucina) y se ha relacionado con la acción específica de diversas cepas de levaduras, hongos o *Staphylococcus* spp. que han sido propuestas en los respectivos estudios para su uso como cultivos iniciadores (Olesen y Stahnke 2000; Bruna et al., 2001; Andrade et al., 2010). En relación al 2,3-butanodiol, cuya presencia en los embutidos crudo-curados es más raramente descrita y explicada, Campagnol et al. (2012) observaron, al igual que en el presente estudio, un incremento en los niveles de este compuesto en el espacio de cabeza de embutidos fermentados a medida que

disminuía su contenido en grasa. Campagnol et al. (2012) emplearon como sustituto de la grasa gel amorfo de celulosa y atribuyeron la presencia de este compuesto a un metabolismo fermentativo de los carbohidratos característico en los embutidos bajos en grasa. Dichos autores sugieren que estos compuestos podrían afectar negativamente al aroma de los embutidos por aportar notas aromáticas típicas de los productos lácteos.

La adición de quinua o patata como sustituto de la grasa de cerdo en el embutido podría implicar una modificación en el desarrollo y metabolismo microbiano con respecto a los embutidos control, de forma que hubiese dado lugar al crecimiento de bacterias distintas a las habitualmente presentes en los embutidos controles y a modificaciones en las rutas fermentativas durante la maduración de los mismos. Estos cambios habrían sido responsables de la formación de compuestos aromáticos como 2,3-butanodiol, 2- y 3-metil-butanol y ácido 2-metil-butírico, con influencia sobre el aroma de los embutidos, debido a que aunque se generan en baja cantidad, se trata de compuestos con umbrales de percepción aromática muy bajos (Montel et al., 1998; Marco et al., 2006).

La elección de quinua o patata como ingrediente de sustitución de la grasa en la elaboración del embutido originó algunas diferencias en el contenido de volátiles del espacio de cabeza tal y como se observa en la tabla 3.3. En general, cuando se empleó patata como sustituto de la grasa, en comparación con la sustitución con quinua, los niveles de hidrocarburos de cadena lineal fueron menores mientras que los de aldehídos lineales fueron superiores, aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. La presencia de estos aldehídos lineales en los embutidos se asocia al resultado de reacciones de oxidación, de modo que la utilización de quinua supondría una mayor estabilidad oxidativa que cuando se utilizó patata. Diversos estudios previos relativos a la composición de la quinua destacan por una parte el rico contenido en grasa de esta semilla (aproximadamente el 5,5%) respecto a otros cereales y el alto nivel de

poliinsaturación de la misma (Álvarez-Jubete et al., 2010; Koziol, 1992; Wood et al, 1993; Ng et al., 2007). Sin embargo, por otra parte, Ng et al. (2007) encontraron que al contrario de lo esperado, la grasa de la quinua presenta una mayor estabilidad frente a la oxidación que la de otros cereales con menor contenido graso. Estos autores atribuyeron esta protección frente a las reacciones de oxidación al efecto antioxidante ejercido por la vitamina E, muy abundante en la quinua.

Dentro del conjunto de aldehídos lineales cabe destacar un compuesto, el heptenal, que no fue detectado en los embutidos elaborados con quinua y si estuvo presente en los embutidos elaborados con patata. Este compuesto, típico de la oxidación lipídica y con muy bajo umbral de percepción (Frankel, 1982), ha sido detectado previamente en el espacio de cabeza de patatas cocidas, como compuesto típico del aroma a patata cocida (Josephson y Lindsay, 1987).

Por otra parte, los niveles de un alcohol, el pentanol, fueron significativamente superiores en los embutidos elaborados con patata (tendencia estadística, $P < 0,1$). El origen de este compuesto ha sido atribuido a la oxidación de los ácidos grasos insaturados, mediado por enzimas lipooxigenasas (Sok y Kim, 1994), muy abundantes en las patatas (Galliard y Phillips, 1971). Este tipo de reacciones podría producirse al romperse las células (Galliard y Matthew, 1973) durante el pelado y troceado de las patatas, o durante la cocción de las mismas (Josephson y Lindsay, 1987). La presencia del pentanol en el perfil de volátiles de la patata ha sido habitualmente descrita en la bibliografía (Nursten y Sheen, 1974; Petersen et al., 1997; Petersen et al., 1999).

En cuanto a los ácidos, dos compuestos se vieron afectados significativamente por la elección de quinua o patata como ingrediente de sustitución de la grasa. En primer lugar, el ácido butanoico apareció en cantidades mayores en los embutidos cuando se utilizó quinua como ingrediente de sustitución de la grasa que cuando se utilizó patata (tendencia

estadística $P < 0,1$). En segundo lugar, el ácido acético presentó niveles superiores en el espacio de cabeza de los embutidos elaborados con quinua, sin embargo, las diferencias no fueron estadísticamente significativas. Los ácidos acético y butanoico, como ya se mencionó previamente, podrían derivar de la fermentación microbiana de carbohidratos (Spaziani et al., 2009) o de la degradación de aminoácidos mediante la reacción de Stickland, también de origen microbiano (Montel et al., 1998; Spaziani et al., 2009; Summo et al., 2010). Por este motivo se puede pensar que la quinua afectaría de alguna manera al desarrollo microbiano en el embutido, que se traduciría en un aumento de esos compuestos.

Finalmente, un terpeno, el sabineno, también estuvo en mayor cantidad en las muestras con quinua que las de con patata (tendencia estadística; $P < 0,1$). No se ha encontrado en la bibliografía información sobre los compuestos volátiles de la quinua por lo que no se puede decir si el sabineno es aportado por la quinua en el embutido o bien la patata genera un efecto de degradación de este compuesto y por eso aparece en menor cantidad en los embutidos con patata.

Teniendo en cuenta las diferencias encontradas en los compuestos volátiles entre el uso de patata o quinua como sustituto de la grasa (las que se acaban de comentar) se puede decir que es de esperar un efecto en el aroma del embutido en función del sustituto utilizado.

Tabla 3.3. Concentración (ng de undecano por g de embutido) de los compuestos volátiles detectados en el espacio de cabeza de los embutidos en función del grado de sustitución de grasa e ingrediente utilizado para dicha sustitución.

	% de sustitución de grasa			EEM	P	Sustituto		EEM	P	TRR	MI [§]
	0 (n=3)	50 (n=6)	85 (n=6)			Quinua (n=6)	Patata (n=6)				
<i>Hidrocarburos alifáticos de cadena lineal</i>											
Pentadecano	1,2	3,0	0,5	0,7	NS	3,0	0,5	0,8	NS	1500	EM+TRR
Hexadecano	NC	2,7	1,7	0,8	-	2,7	1,7	1,0	NS	1600	EM+TRR
Heptadecano	8,8	7,9	11,5	3,4	NS	10,9	8,5	3,8	NS	1697	EM+TRR
<i>Aldehídos alifáticos de cadena lineal</i>											
Acetaldehído	21,1	87,3	106,6	16,8	NS	76,7	117,2	18,1	NS	<500	EM
Hexanal	460,2 ^a	141,8 ^b	51,9 ^b	60,1	*	72,9	120,8	44,0	NS	788	EM+TRR
Heptanal	16,7	8,7	2,5	2,8	NS	6,1	5,1	2,7	NS	902	EM+TRR
Heptenal	8,3 ^a	1,9 ^b	NC	1,3	-	NC	1,9	0,9	-	958	EM+TRR
Nonanal	4,8	3,2	7,0	1,8	NS	3,0	7,2	2,0	NS	1107	EM+TRR
<i>Alcoholes alifáticos de cadena lineal</i>											
Etanol	670,0	1212,6	1384,4	173,2	NS	1213,4	1383,6	189,4	NS		
Pentanol	20,3	6,9	4,4	3,9	NS	1,3	10,1	2,5	#	762	EM+TRR
Butanodiol (isómero 1)	NC	138,3	417,8	102,1	-	289,0	267,0	123,1	NS	780	EM+TRR
Butanodiol (isómero 2)	NC	156,4	293,4	61,9	-	220,7	229,1	71,9	NS	786	EM+TRR
Hexanol	9,9	3,6	3,6	1,4	NS	3,6	3,5	1,1	NS	867	EM+TRR
Octen-3-ol	NC	2,5	3,5	1,2	-	2,0	4,1	1,5	NS	980	EM+TRR
<i>Alcoholes alifáticos de cadena ramificada</i>											
3-Metil-butanol	118,8	193,5	158,2	31,3	NS	170,5	181,1	37,0	NS	732	EM+TRR
2-Metil-butanol	NC	158,3	156,4	44,6	-	162,2	152,5	52,0	NS	732	EM+TRR
<i>Alcoholes aromáticos</i>											
2-Fenil-etanol	NC	2,7	26,8	5,9	NS	9,8	19,6	7,1	NS	1120	EM+TRR
<i>Cetonas alifáticas</i>											
3-Hidroxi-2-butanona	3878,9	5184,3	5784,1	968,0	NS	5429,3	5539,1	1073,4	NS		
2-Heptanona	3853,3	5174,7	5774,9	969,2	NS	5417,9	5531,7	1073,7	NS	707	EM+TRR
	25,7 ^a	9,6 ^b	9,2 ^b	2,8	#	11,4	7,4	1,4	NS	889	EM+TRR

<i>Ésteres alifáticos</i>	276,7	822,4	577,3	201,4	NS	788,6	934,1	255,9	NS		
Etil acetato	276,7	761,3	867,0	203,1	NS	753,4	874,9	242,9	NS	608	EM+TRR
Etil isobutirato	NC	33,7	11,6	10,3	-	12,6	32,8	12,7	NS	749	EM+TRR
Etil isovalerato	NC	27,4	21,6	6,7	-	22,6	22,4	7,8	NS	847	EM+TRR
<i>Ácidos alifáticos de cadena lineal</i>	1040,3	2874,0	3541,4	502,3	NS	3964,2	2451,2	546,6	NS		
Ácido acético	1013,9	2820,6	3497,0	500,3	NS	3886,6	2431,0	544,9	NS	628	EM+TRR
Ácido butanoico	22,1	45,6	40,3	15,1	NS	73,2	12,7	18,9	#	785	EM+TRR
Ácido octanoico	2,9	1,9	1,0	0,8	NS	1,1	1,9	0,8	NS	1173	EM+TRR
Ácido nonanoico	NC	2,5	2,7	0,9	NS	2,1	3,2	1,2	NS	1199	EM+TRR
Ácido tetradecanoico	1,4	3,3	0,4	0,7	NS	1,3	2,5	0,9	NS	1757	EM+TRR
<i>Ácidos alifáticos de cadena ramificada</i>	274,0	325,8	353,2	78,4	NS	367,4	311,5	83,2	NS		
Ácido isobutírico	81,8	89,0	86,6	21,5	NS	89,6	86,0	20,8	NS	766	EM+TRR
Ácido 3-metil-butírico	141,8	150,0	174,1	45,7	NS	190,5	133,7	50,7	NS	840	EM+TRR
Ácido 2-metil-butírico	47,7	78,1	86,8	16,6	NS	82,8	82,2	18,8	NS	852	EM+TRR
Ácido etil-hexanoico	2,7	8,6	5,7	2,1	NS	4,6	9,7	2,5	NS	1119	EM+TRR
<i>Aldehídos alifáticos ramificados</i>	18,1	129,4	91,1	36,7	NS	112,3	108,2	43,9	NS		
3-Metil-butanal	15,2	105,0	61,8	26,7	NS	88,8	78,0	32,4	NS	650	EM+TRR
2-Metil-butanal	2,9	24,4	29,3	11,0	NS	23,5	30,2	13,5	NS	661	EM+TRR
<i>Compuestos terpénicos</i>	6364,8	7405,1	10142,7	959,9	NS	9232,2	8315,6	1088,1	NS		
Tujeno	31,3 ^b	39,4 ^{ab}	68,9 ^a	7,0	#	54,2	54,1	8,2	NS	925	EM+TRR
alfa-Pineno	801,5	581,9	503,0	117,3	NS	661,4	423,6	119,0	NS	933	EM+TRR
Canfeno	22,5	11,8	10,1	3,3	NS	13,4	8,6	2,6	NS	950	EM+TRR
Terpeno desconocido C10H14: 119, 93(53), 91(52), 77(26), 134(14), 79(14), 117(10), 41(10)	26,3	43,5	70,9	13,2	NS	49,1	65,4	15,7	NS	971	EM+TRR
Sabineno	104,4	111,6	133,9	20,6	NS	164,6	80,8	24,7	#	972	EM+TRR
beta-Pineno	866,9	718,3	675,1	131,9	NS	834,5	558,9	142,3	NS	978	EM+TRR
Mirceno	147,7 ^b	250,2 ^{ab}	403,3 ^a	44,6	#	292,0	361,5	49,3	NS	987	EM+TRR
alfa-Felandreno	NC	4,6	16,5	3,2	-	5,3	15,7	3,8	NS	1006	EM+TRR
delta-3-Careno	2495,6	2837,7	3769,5	470,9	NS	3677,5	2929,7	547,8	NS	1010	EM+TRR
meta-Cimeno	52,1	38,6	56,6	9,6	NS	45,2	50,0	11,4	NS	1019	EM+TRR
para-Cimeno	298,4 ^b	411,2 ^{ab}	627,9 ^a	54,4	*	515,0	524,1	60,1	NS	1025	EM+TRR
Limoneno	1270,0 ^b	1913,2 ^{ab}	3096,4 ^a	299,8	*	2381,2	2628,4	332,9	NS	1030	EM+TRR

gamma-Terpineno	3,9 ^b	8,5 ^b	16,6 ^a	1,7	**	11,0	14,1	1,8	NS	1060	EM+TRR
meta-Cimeno	9,8	41,2	36,9	6,0	NS	32,4	45,6	6,1	NS	1084	EM+TRR
Terpeno desconocido C ₁₀ H ₁₆ : 132, 117(77), 93(76), 136(72), 91(63), 121(58), 115(47), 92(37)	19,3	14,7	27,0	3,1	NS	20,5	21,2	3,5	NS	1088	EM+TRR
para-Cimeno	46,0	55,0	67,0	7,8	NS	69,6	52,4	9,6	NS	1094	EM+TRR
Linalool	2,9 ^b	11,6 ^b	23,3 ^a	2,8	**	13,0	21,9	2,8	NS	1103	EM+TRR
para-Cimen-ol	NC	1,5	1,7	0,6	-	1,5	1,7	0,7	NS	1189	EM+TRR
Terpineol	NC	1,6	2,9	0,7	-	1,8	2,7	0,8	NS	1192	EM+TRR
Cuminaldehido	12,5	21,9	22,0	3,0	NS	24,9	19,0	3,3	NS	1198	EM+TRR
Sesquiterpeno desconocido C ₁₅ H ₂₄ : 121, 93(60), 136(59), 161(35), 91(25), 77(16), 105(16), 79(15)	7,0 ^b	10,6 ^b	20,8 ^a	1,7	***	13,8	17,6	1,8	NS	1348	EM+TRR
alfa-Copaeno	NC	1,1	3,3	0,5	-	1,7	2,7	0,6	NS	1360	EM+TRR
Eugenol	25,1	46,2	67,2	17,5	NS	53,4	60,0	21,3	NS	1363	EM+TRR
Copaeno	12,6 ^c	22,8 ^b	43,8 ^a	3,7	***	29,6	36,9	3,7	NS	1386	EM+TRR
Longifoleno	2,1 ^b	3,8 ^{ab}	8,2 ^a	1,0	*	5,7	6,3	1,1	NS	1395	EM+TRR
Cariofileno (isómero 1)	6,3 ^b	12,1 ^{ab}	22,6 ^a	2,6	*	15,4	19,2	2,9	NS	1415	EM+TRR
Cariofileno (isómero 2)	79,3 ^b	146,0 ^b	280,6 ^a	28,4	**	191,3	235,4	30,8	NS	1435	EM+TRR
Isoeugenol	1,6	3,9	5,1	1,3	NS	5,0	4,0	1,6	NS	1457	EM+TRR
alfa-Humuleno	6,4 ^b	10,7 ^{ab}	18,2 ^a	1,9	*	13,4	15,5	2,2	NS	1472	EM+TRR
beta-Selineno	2,2	5,8	8,4	1,2	NS	6,4	7,8	1,3	NS	1506	EM+TRR
alfa-Selineno	2,8	3,4	5,2	1,0	NS	4,1	4,9	1,1	NS	1513	EM+TRR
Óxido de cariofileno	8,1 ^b	17,0 ^{ab}	24,9 ^a	2,5	*	20,5	21,4	2,5	NS	1610	EM+TRR
Cariofiladieno-5-ol	NC	3,1	4,9	1,0	NS	3,4	5,6	1,2	NS	1669	EM+TRR
<i>Compuestos azufrados</i>	400,5	630,1	520,6	65,5	NS	556,1	594,6	73,2	NS		
Sulfuro de alilo y metilo (isómero 1)	371,2	495,7	467,7	55,8	NS	472,8	490,6	62,1	NS	695	EM+TRR
Sulfuro de alilo y metilo (isómero 2)	NC	127,2	38,8	24,0	-	69,2	96,8	28,1	NS	726	EM+TRR
Dialil-disulfuro	29,2	7,2	14,1	5,4	NS	14,1	7,2	5,6	NS	1084	EM+TRR
<i>No identificados</i>	363,4	1054,9	843,5	138,3	NS	1051,5	846,9	155,0	NS		
No identificado I: 44, 43(62), 42(19), 41(14), 56(4), 45(2), 55(1), 77(1)	NC	29,8	20,2	5,9	-	33,6	16,5	6,6	NS	<400	EM
No identificado II: 43, 41(69), 42(42), 72(25), 71(27), 57(20), 40(18), 59(15)	65,7	107,3	83,9	19,0	NS	104,4	86,8	23,0	NS	469	EM+TRR

No identificado III: 43, 86(24), 57(15), 41(12), 42(10), 56(7), 44(3), 74(1)	134,9	622,6	566,1	99,0	NS	589,4	599,2	106,3	NS	527	EM+TRR
No identificado IV: 45, 77(86), 88(43), 44(41), 43(38), 41(33), 73(31), 57(28)	154,6	245,2	113,8	48,5	NS	281,8	77,1	58,7	#	699	EM+TRR
No identificado V: 207, 45(19), 208(19), 41(18), 57(17), 56(17), 209(14), 44(12)	NC	27,2	14,8	6,5	-	15,6	26,5	7,7	NS	798	EM+TRR
No identificado VI: 57, 107(95), 43(84), 108(78), 71(57), 77(55), 70(49), 79(47)	NC	3,3	5,4	1,7	-	1,7	7,0	2,1	NS	1076	EM+TRR
No identificado VII: 69, 73(40), 55(38), 41(35), 70(30), 56(26), 97(23), 57(20), 87	NC	1,8	8,2	1,6	-	2,9	7,1	1,9	NS	1132	EM+TRR
No identificado VIII: 69, 41(39), 70(33), 55(31), 87(27), 97(24), 43(22), 56(22)	NC	1,0	7,9	1,6	-	2,8	6,0	1,9	NS	1134	EM+TRR
No identificado IX: 69, 56(36), 41(55), 70(54), 43(53), 57(48), 55(36), 84(35)	NC	2,3	10,2	2,1	-	3,6	8,8	2,5	NS	1136	EM+TRR
No identificado X: 55, 97(81), 70(52), 69(49), 56(44), 57(35), 83(23), 41(22)	NC	NC	6,2	1,2	-	1,2	4,9	1,5	NS	1148	EM+TRR
No identificado XI: 173, 55(32), 99(31), 84(15), 112(12), 111(11), 174(11), 83(9)	8,1	14,5	6,9	3,3	NS	14,5	6,8	4,1	NS	1661	EM+TRR
<i>Total</i>	13926	20250	23736	2599	NS	22906	21079	2852	NS		

^s MI: Método de identificación. EM, espectro de masas coincidente con el espectro de masas de la base de datos NIST/EPA/NIH98 y validado por interpretación personal del mismo.

TRR: El TRR experimental coincidente con el TRR encontrado en la bibliografía (Kondjoyan y Berdagué, 1996; Adams, 2007; NIST, 2011).

EEM: Error estándar de la media.

P: Nivel de significación, NS: No significativo; #: $P < 0.1$ (tendencia estadística); *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$; ***: $P < 0,001$.

^{a,b}: Medias de cada fila dentro de cada valor de a_w con distinta letra presentaron diferencias significativas ($P < 0,05$) en la prueba de Duncan

TRR: Tiempo de retención relativo experimental.

NC: Compuesto no cuantificado ($< 0,03$ ng/g)

3.5. Medidas instrumentales de la textura y color

En la Tabla 3.4 se observan los valores de los parámetros de textura y color obtenidos para los embutidos de acuerdo al porcentaje de sustitución de grasa y al tipo de ingrediente empleado para su reemplazo. La dureza y la masticabilidad de los embutidos fueron ligeramente superiores cuando se sustituyó el 50% del contenido graso y aumentaron drásticamente cuando el contenido graso se redujo en un 85% ($P < 0,001$). Los embutidos en los que se empleó patata como ingrediente de sustitución de grasa presentaron mayores valores de dureza y masticabilidad que los elaborados con quinua, aunque las diferencias fueron estadísticamente significativas únicamente en el caso de la masticabilidad ($P < 0,001$).

En general la disminución del contenido graso origina un aumento en la dureza de los embutidos (Muguerza et al., 2004). Diversos estudios previos describen un incremento significativo de la dureza y la masticabilidad en embutidos bajos en grasa en los que ésta no se sustituye por otro ingrediente, estableciendo una relación positiva significativa entre la dureza y la reducción de grasa (Muguerza et al., 2002; Liaros et al., 2009; Olivares et al., 2010). Ruiz-Capillas et al. (2012) también observaron un aumento de la dureza y masticabilidad de forma similar a lo observado en el presente estudio a medida que se sustituyó grasa por gel de konjac. Estos autores atribuyeron el aumento de la dureza tanto al efecto de la disminución de la grasa como al de la adición del gel. Mendoza et al. (2001), utilizando inulina como ingrediente de sustitución observaron la misma relación inversa entre contenido en grasa y dureza, atribuido al menor contenido en grasa. Por otra parte, la acidificación o descenso de pH es causa comprobada del incremento de la dureza de los embutidos (González-Fernández et al., 2006). No obstante, en los embutidos estudiados no se puede atribuir al pH las diferencias observadas en dureza entre tratamientos, ya que el descenso del pH fue bajo, el pH final

estuvo alejado del punto isoeléctrico de las proteínas cárnicas, y las diferencias de pH entre tratamientos fueron pequeñas.

La cohesividad de los embutidos del presente estudio disminuyó gradualmente a medida que la grasa fue sustituida por quinua o patata ($P < 0,05$). La elasticidad, aunque también disminuyó ligeramente a medida que se redujo el contenido graso, no presentó diferencias estadísticamente significativas entre los distintos embutidos. En diversos estudios previos también se observó una disminución de la cohesividad relacionada con la disminución de grasa en embutidos, acompañada con la utilización de diversos sustitutos de la misma: inulina, gel de konjac, proteína de trigo, proteína de soja o caseinato de sodio (Mendoza et al., 2001; Yoo et al., 2005; Ruiz-Capillas et al., 2012).

Teniendo en cuenta lo expuesto hasta el momento sobre la textura, el endurecimiento, el aumento de la masticabilidad y la disminución de la cohesividad, que acompaña a la sustitución de grasa en los embutidos de este estudio se puede atribuir principalmente al menor contenido en grasa y a las eventuales uniones establecidas por los almidones de la quinua y patata con los distintos componentes de la matriz cárnica.

A la hora de valorar la utilización de quinua o patata sobre la dureza y masticabilidad de los embutidos no se observaron diferencias significativas en cuanto a la dureza, cohesividad o elasticidad. Sin embargo, la masticabilidad de los embutidos con patata fue significativamente mayor que la de los embutidos elaborados con quinua. Tal vez las diferencias entre la composición química de los almidones de la quinua y la patata influyan sobre la estructura del gel del embutido y por lo tanto de menor o mayor fuerza. En este sentido, la quinua se caracteriza por tener pequeños gránulos de almidón con bajo contenido en amilasa en comparación con otros vegetales, como por ejemplo la patata (Koziol, 1992; Visser et al., 1997) – la quinua tiene un 12% de amilosa y la patata un 21%.

Los parámetros de color de los embutidos de acuerdo a la distinta proporción de grasa sustituida en su formulación y al tipo de ingrediente empleado en dicha sustitución se recogen en la Tabla 3.4. Los valores que presenta el embutido elaborado fueron comparables a los obtenidos por Sayas-Barberá (2012) para la longaniza de pascua (otro embutido de fino calibre con pH y a_w similares): Luminosidad, $L^* \approx 37$, el color rojo o índice de color rojo-verde, $a^* \approx 7$ y el color amarillo o índice de color amarillo-azul, $b^* \approx 11$.

La luminosidad de los embutidos (L^*) no se vio afectada significativamente por el mayor o menor contenido graso, ni por el tipo de sustituto empleado. El valor de a^* aumentó al disminuir la cantidad de grasa del embutido (mayor grado de sustitución de grasa) detectándose diferencias significativas ($P < 0,05$) entre el embutido control y el de 85% de sustitución de grasa. Por su parte, el valor de b^* también fue mayor en el embutido con 85% de sustitución de grasa, diferenciándose significativamente del control y del embutido con 50% de sustitución. A pesar de existir diferencias significativas, el alcance práctico de las mismas podría ser pequeño, ya que el color de la grasa no es muy diferente al de los sustitutos empleados, tal y como señalan Ruiz-Capillas et al. (2012) al comparar el color de la grasa con el del gel de konjac.

El valor L^* de los embutidos depende en gran medida de su composición, así L^* disminuye al perder humedad el embutido durante el secado (Pérez-Álvarez et al., 1999) y se relaciona de forma positiva con la cantidad graso e inversa con la cantidad de pigmento. En el caso de los embutidos estudiados se puede explicar la inexistencia de cambios en L^* por lo siguiente: 1) la cantidad de carne y por lo tanto de pigmento cárnico fue similar con independencia del grado de sustitución; 2) la cantidad de grasa y humedad (ambos aportan luminosidad) estuvieron inversamente correlacionados y la suma de ambos también fue similar, de forma que el efecto conjunto de estos dos componentes sobre L^* se podría haber compensado; 3) el descenso de pH fue muy pequeño y por lo tanto poca la

desnaturalización proteica asociada – también el valor L^* depende del grado de desnaturalización proteica debido al descenso del pH durante la fermentación (Pérez-Álvarez et al., 1999).

El desarrollo del color rojo (a^*) en embutidos fermentados sin pimentón se debe fundamentalmente a la cantidad de mioglobina y la reacción entre el óxido de nitrógeno (NO, producido a partir de los nitritos) con la mioglobina, generándose nitrosilmioglobina (Pegg y Shahidi, 1997; Gøterup et al., 2008; Ruiz-Capillas et al., 2012). La pérdida de humedad que tiene lugar durante la maduración de los mismos ocasiona una mayor concentración del pigmento (Aleson-Carbonell et al., 2003). Por otra parte, una mayor disminución del pH podría originar un incremento del valor de a^* al producirse una mayor cantidad de NO a partir de los nitritos (Sebranek, 1979) y consecuentemente una mayor cantidad de nitrosilmioglobina en el embutido (Toldrá et al., 2001). En el caso de los embutidos estudiados, la mayor pérdida de peso que tuvo lugar en los embutidos con sustitución de grasa podría ser la causa del mayor color rojo (a^*). Por otra parte, respecto a b^* , la utilización de quinua o patata podría contribuir a un color amarillo más intenso al aportar pigmentos vegetales, tales como carotenos.

Los resultados del efecto de la reducción de grasa sobre el color observados en los embutidos del presente estudio concuerdan con los estudios de Ruiz-Capillas et al. (2012). No obstante, estos autores señalan que cuantitativamente las diferencias observadas son de poco alcance práctico dado que la grasa tiene un color parecido al del gel de konjac. Los estudios realizados hasta el momento con embutidos fermentados bajos en grasa muestran resultados variables en cuanto al efecto de la disminución de grasa sobre L^* y a^* . Muguerza et al. (2004) y Salazar et al. (2009) observaron como el valor de L^* disminuía y el de a^* aumentaba al reducirse el contenido graso de embutidos fermentados. Muguerza et al. (2002) y Yalinkiliç et al. (2012) observaron como la reducción del contenido en grasa disminuía el valor de L^* y no afectaba al valor de a^* . Más uniformidad parece haber en el efecto de la

disminución de grasa sobre b^* . El incremento del valor de b^* originado al disminuir la grasa de los embutidos del presente estudio coincide con lo observado en diversos estudios previos (Muguerza et al., 2002; Liaros et al., 2009; Sayas-Barbera et al., 2012), aunque en otros estudios b^* se mantiene constante (Yalinkiliç et al., 2012). Las diferencias entre estudios se pueden explicar por diferencias en la forma de sustituir la grasa (sustitutos empleados), en el secado, en el grado de oxidación del pigmento cárnico, etc.

Finalmente, no se detectaron diferencias significativas en cuanto a la utilización de quinua o patata como sustituto en ninguno de los tres parámetros de color estudiados, aunque todos ellos mostraron valores superiores en el caso de los embutidos con patata.

Tabla 3.4. Valores del análisis de perfil de textura y de los parámetros del color en los embutidos en función del grado de sustitución de grasa y del ingrediente utilizado para dicha sustitución

	% de sustitución de grasa			EEM	P	Ingrediente		EEM	P
	0	50	85			Quinua	Patata		
	(n=3)	(n=6)	(n=6)			(n=6)	(n=6)		
<i>Textura</i>									
Dureza (N)	42,0 ^b	49,8 ^b	82,0 ^a	5,2	***	62,8	69,0	5,5	NS
Elasticidad	0,40	0,39	0,35	0,01	NS	0,38	0,36	0,01	NS
Cohesividad	0,35 ^a	0,32 ^{ab}	0,29 ^b	0,01	*	0,32	0,29	0,01	NS
Masticabilidad	5,7 ^b	6,1 ^b	8,4 ^a	0,4	***	6,1	8,4	0,4	***
<i>Color</i>									
L^*	35,4	31,5	34,2	0,9	NS	31,3	34,4	1,1	NS
a^*	5,0 ^b	5,4 ^{ab}	7,6 ^a	0,5	*	5,8	7,3	0,6	NS
b^*	8,2 ^b	6,8 ^b	10,7 ^a	0,6	**	8,5	9,0	0,7	NS

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

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

3.6. Análisis sensorial

La tabla 3.5 muestra los resultados del análisis sensorial de los embutidos de acuerdo al grado de sustitución de grasa empleado en su formulación y al ingrediente elegido como sustituto de la misma. Por una parte, de acuerdo a los resultados de la prueba hedónica realizada con

consumidores, la aceptabilidad sensorial de los embutidos fue similar para todos ellos. Ni el mayor o menor contenido en grasa de los mismos, ni la presencia de quinua o patata supuso diferencias significativas en la prueba afectiva realizada. A pesar de no encontrar diferencias en la valoración hedónica, sí hubo diferencias sensoriales significativas en algunos de los atributos evaluados en el análisis descriptivo que a continuación se detallan. Debido a esta aparente contradicción, cabe pensar que las diferencias en el análisis descriptivo, o bien no fueron importantes, o en conjunto no afectaron a la percepción sensorial.

La percepción de la intensidad del olor obtenida mediante el análisis descriptivo de los embutidos no presentó diferencias significativas entre los distintos embutidos evaluados. Sorprende este hecho si se tienen en cuenta los resultados de los compuestos volátiles en el espacio de cabeza (tabla 3.3), que muestran que a menor contenido en grasa mayor es liberación en dicho espacio de componentes volátiles procedentes de las especias. No obstante, por el contrario, los volátiles procedentes de la degradación/oxidación lipídica fueron más abundantes en los embutidos con más grasa. La sensación olfativa de los embutidos crudo-curados se debe a la acción conjunta de numerosos compuestos volátiles entre los que cabe destacar los compuestos azufrados, ácido acético, ácido 3-metil-butanoico, hexanal, heptanal, 1-octen-3-ol, y compuestos terpénicos, entre otros (Flores, 2011a). En este sentido, en el presente estudio, aunque hubo variación en los volátiles con actividad en el olor entre los tipos de embutidos (niveles de sustitución de grasa o tipo de sustituto), no fue posible establecer una diferencia en la sensación global en cuanto a intensidad del olor.

Al igual que con el olor, una vez en la boca, la intensidad del sabor de los distintos embutidos evaluados tampoco presentó diferencias significativas. Cabe destacar que la sensación del sabor es más compleja aun que la del olor. El sabor en los embutidos crudo-curados viene dado por la interacción entre el aroma (sensación producida por las sustancias aromáticas de un alimento

después de haberse puesto en la boca) y el gusto, dependiente principalmente de la sal, el ácido láctico y del perfil peptídico y de aminoácidos libres (Flores, 2011b). En otros trabajos sobre embutidos crudo-curados bajos en grasa, tampoco se ha detectado el efecto de la cantidad de grasa en su sabor (Liaros et al., 2009; Ruiz-Capillas et al., 2012). Por el contrario, en el estudio de Mendoza et al. (2011) se obtuvieron peores puntuaciones para el sabor de embutidos bajos en grasa con respecto al control, con alto contenido en grasa. Finalmente, Olivares et al. (2011) no encontraron diferencias en el aroma de embutidos crudo-curados con distintos contenidos de grasa a los 42 días de maduración, pero sí a los 63 días, a favor de los embutidos con contenido en grasa estándar. La discrepancia entre estudios se puede atribuir a las diferentes características de los embutidos, como son la estrategia para la reducción de grasa (con o sin sustituto y grado de reducción de grasa), azúcares, especias y condimentos en la formulación, condiciones de maduración, así como al tipo de catadores.

Sí que se observaron diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) en cuanto a la sensación picante y la jugosidad de los embutidos, en relación al mayor o menor contenido en grasa. La sensación picante de los embutidos se vio significativamente incrementada cuando se sustituyó el 85% de la grasa por quinua o patata. Esta mayor sensación picante podría ser debida a que la menor cantidad de grasa presente permitiría una mayor liberación de compuestos terpénicos, como aquellos de la pimienta, u otros compuestos, como el ácido acético. También podría deberse a la ausencia del efecto protector de la película grasa que se forma sobre la lengua y paladar y que dificulta, de formarse, el contacto de las sustancias con efecto picante sobre los receptores trigeminales. A su vez, la mayor sensación picante pudo influir sobre la percepción aromática del sabor de los embutidos, ya que el picante afecta negativamente a la intensidad del sabor percibido durante la deglución (Maruniak, 1988). Por su parte, la elección de quinua o patata no ocasionó diferencias estadísticamente significativas en las puntuaciones.

En cuanto a la jugosidad, los embutidos con una mayor percepción de jugosidad fueron los embutidos control, seguidos por los embutidos con un 85% de grasa sustituida y finalmente los embutidos con una sustitución del 50% (diferencias estadísticamente significativas entre los tres tratamientos, $P < 0,001$). La utilización de quinua o patata no presentó diferencias en cuanto a la jugosidad de los embutidos.

Tabla 3.5. Resultados del análisis sensorial en los embutidos en función del grado de sustitución de grasa y del ingrediente utilizado para dicha sustitución

	% de sustitución de grasa			EEM	P	Ingrediente		EEM	P	
	0	50	85			Quinua	Patata			
<i>Prueba afectiva</i>										
n	153	168	168			164	172			
Puntuación (1-5)	3,51	3,69	3,57	0,04	NS	3,68	3,58	0,05	NS	
<i>Prueba descriptiva</i>										
n	15	30	30			30	30			
Puntuación (1-5)										
Intensidad olor	2,65	2,69	2,94	0,10	NS	2,81	2,82	0,11	NS	
Intensidad sabor	2,85	3,09	3,13	0,11	NS	3,26	2,97	0,12	NS	
Sensación picante	1,42 ^b	1,62 ^b	2,22 ^a	0,09	**	1,93	1,90	0,11	NS	
Jugosidad	4,15 ^a	2,80 ^c	3,40 ^b	0,11	***	3,07	3,13	0,12	NS	

EEM: error estándar de la media.

n: número de muestras.

P: Nivel de significación, NS: No significativo; #: $P < 0,1$ (tendencia estadística); *: $P < 0,05$; **: $P < 0,01$; ***: $P < 0,001$.

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

La jugosidad de la carne y derivados es un atributo influenciado tanto por las características del alimento que generan una liberación de jugo en la boca, como por la salivación estimulada por el alimento; además, la jugosidad está en cierta manera inversamente influenciada por la sensación de dureza (Winger y Hagyard, 1994). En los embutidos bajos en grasa, una mayor presencia de grasa parece aportar una mayor sensación de jugosidad (Ruiz-Capillas et al., 2012). La grasa contiene componentes aromáticos que estimulan la salivación y al fundirse en la boca es una fuente de jugo

procedente del alimento (Winger y Hagyard, 1994). En el presente estudio, la percepción de jugosidad descendió cuando el contenido en grasa se redujo a la mitad pero, sin embargo, se incrementó al aumentar la sustitución de grasa hasta el 85%, sin llegar a los valores del control. Este aumento se puede asociar, dados los resultados, al incremento en la sensación picante, que puede afectar la salivación (Christensen y Navazesh, 1984; Lawless, 1984). Otro factor además de la grasa que influye en la jugosidad de los embutidos es la acidez (Spaziani et al., 2009), aunque la diferencia de acidez entre embutidos fue baja y por lo tanto este factor puede no considerarse como determinante.

4. CONCLUSIONES

La reducción del contenido graso en los embutidos y su sustitución por quinua o patata ocasiona una serie de modificaciones en sus características desde el punto de vista del análisis químico e instrumental. Sin embargo, desde el punto de vista del consumidor (análisis sensorial hedónico) estas diferencias no parecen tener consecuencias relevantes sobre la valoración sensorial global de los embutidos.

La reducción del contenido graso de los embutidos aporta una ventaja nutritiva a estos productos. Además, desde una perspectiva tecnológica, la reducción de grasa permitiría elaborar este tipo de embutidos en poblaciones como la de los Andes donde la producción de cerdos es escasa o nula, al igual que la disponibilidad de grasa de cerdo. De hecho, el desarrollo tecnológico de un embutido crudo-curado apropiado para la zona Andina fue el principal motivo para realizar este estudio.

La reducción de grasa con sustitución de la misma por quinua o patata ocasiona una disminución de los compuestos volátiles derivados de reacciones de oxidación y degradación de grasa (en el espacio de cabeza), está asociada a una mayor liberación de volátiles procedentes de las especias (compuestos

terpénicos) y afecta la producción de algunos compuestos procedentes de la fermentación de los carbohidratos, como el ácido láctico y ciertos volátiles. Todos estos compuestos forman parte importante del aroma y sabor de los embutidos crudo-curados, dada su abundancia y/o sus bajos umbrales de percepción. Por lo tanto la reducción de grasa y sustitución por quinua o patata aportaría notas aromáticas y de sabor diferenciadas a los embutidos respecto al control. Sin embargo, esto no parece repercutir a favor ni en contra en la valoración sensorial global.

La reducción del contenido graso ocasiona un aumento significativo de la dureza y la masticabilidad de los embutidos. Con el fin de minimizar estas diferencias, sería necesaria la utilización de sustitutos de la grasa que asemejen la textura de la misma. No obstante, al tratarse de un embutido de pequeño calibre, parece que el aumento en la dureza no repercute negativamente sobre su calidad sensorial.

La elección de quinua o patata no supuso diferencias significativas en cuanto a la mayor idoneidad de uno u otro ingrediente como sustituto de la grasa.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Adams, R. P. (2007).** Alphabetical listing of compounds with their retention time and arithmetic retention index on DB-5. En: Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, 4th Ed. Allured Publishing Corporation, Carol Stream, Illinois, EEUU.
- Adams, M. R. (1986).** Fermented fresh foods. En: *Progress in industrial microbiology*, Vol. 23. Ed. Adams. M.R., Elsevier, Amsterdam, Holanda. Págs. 159 -198.
- Akoh, C. C. (1998).** Fat replacers. *Food Technology*, 52, 47-53.

- Aleson-Carbonell, L., Fernández-López, J., Sayas-Barberá, E., Sendra, E., Pérez-Alvarez, J. A. (2003).** Utilization of lemon albedo in dry-cured sausages. *Journal of Food Science*, 68, 1826–1830.
- Alvarez-Jubete, L., Arendt, E. K., Gallagher, E. (2010).** Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional glutenfree ingredients. *Trends in Food Science and Technology*, 21, 106-113
- Andrade, M. J., Córdoba, J. J., Casado, E. M., Córdoba, M. G., Rodríguez, M. (2010).** Effect of selected strains of *Debaryomyces hansenii* on the volatile compound production of dry fermented sausage “salchichón”. *Meat Science*, 85, 256-264.
- Anzaldúa-Morales, A. (1994).** La Evaluación sensorial de los alimentos. Acribia. Zaragoza.
- AOAC (1999a).** Official Method 992.15. Crude protein in meat and meat products. Chapter 39: Meat and Meat Products. Vol. II. En: Official Methods of Analysis of AOAC international. 16th Edition, 5th Revision. Cunniff, P. (Editor). Gaithersburg, Maryland, EEUU.
- AOAC (1999b).** Official Method 960.39 Fat (Crude) or Ether Extract in Meat. Chapter 39: Meat and Meat Products. Vol. II. En: Official Methods of Analysis of AOAC international. 16th Edition, 5th Revision. Cunniff, P. (Editor). Gaithersburg, Maryland, EEUU.
- AOAC (1999c).** Official Method 920.153 Ash in meat and meat products. Gravimetric Method. Chapter 39: Meat and meat products. Vol. II. En: Official Methods of Analysis of AOAC international, 16th Edition, 5th Revision. Cunniff, P. (Editor). Gaithersburg, Maryland, EEUU.
- Bourne, M.C. (1978).** Texture profile analysis. *Food Technology*, 32, 62–66.
- Bozkurt, H., Erkmen, O. (2007).** Effects of some commercial additives on the quality of sucuk (Turkish dry-fermented sausage). *Food Chemistry*, 101, 1465–1473.
- Bruna, J. M., Hierro, E. M., de la Hoz, L., Mottram, D. S., Fernández, M., Ordóñez, J. A. (2001).** The contribution of *Penicillium aurantiogriseum* to

the volatile composition and sensory quality of dry fermented sausages. *Meat Science*, 59, 97-107.

Brunton, N P., Cronin, D. A., Monahan, F. J., Durcan, R. (2000). A comparison of solid-phase microextraction (SPME) fibres for measurement of hexanal and pentanal in cooked turkey. *Food Chemistry*, 98, 339-345.

di Cagno, R., López, C. C., Tofalo, R., Gallo, G., de Angelis, M., Paparella, A., Hammes, W. P., Gobetti, M. (2008). Comparison of the compositional, microbiological, biochemical and volatile profile characteristics of three Italian PDO fermented sausages. *Meat Science*, 79, 224-235.

Campagnol, P. C. B., dos Santos, B. A., Wagner, R., Terra, N. N., Rodrigues Pollonio, M. A. (2012). Amorphous cellulose gel as a fat substitute in fermented sausages. *Meat Science*, 90, 36-42.

Carrapiso, A. I. (2007). Effect of fat content on flavour release from sausages. *Food Chemistry*, 103, 396-403.

Chang, H., Carpenter, J. A. (1997). Optimizing quality of frankfurters containing oat bran and added water. *Journal of Food Science*, 62, 194-197.

Chevance, F. F. V., Farmer, L. J. (1998). Influence of fat on the flavour of an emulsified meat product. *Developments in Food Science*, 40, 255-270.

Chevance, F. F., Farmer, L. J., Desmond, E. M., Novelli, E., Troy, D. J., Chizzolini, R. (2000). Effect of some fat replacers on the release of volatile aroma compounds from low-fat meat products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3476-3484.

Chizzolini, R., Novelli, E., Zanardi, E. (1998). Oxidation in traditional Mediterranean meat products. *Meat Science*, 49, 587-599.

Christensen C. M., Navazesh M. (1984). Anticipatory salivary flow to the sight of different foods. *Appetite*, 5, 307-15.

Comi, G., Urso, R., Iacumin, L., Rantsiou, K., Cattaneo, P., Cantoni, C., Coccolin, 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.
- FAO/OMS (2003).** Diet, nutrition and the prevention of chronic diseases Report of the joint WHO/FAO expert consultation WHO Technical Report Series, No. 916 (TRS 916). Roma, Italia. Disponible en <http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/trs916/download/en/index.html> (consultado el 23 de octubre de 2013).
- Feiner (2006).** Raw fermented salami. En: *Meat products handbook*. Woodhead Publishing, Cambridge, Reino Unido. Págs. 314-375.
- Fernández-López, J., Sendra, E., Sayas-Barberá, E., Navarro, C., Pérez-Álvarez, J. A. (2008).** Physico-chemical and microbiological profiles of “salchichón” (Spanish dry-fermented sausage) enriched with orange fiber. *Meat Science*, 80, 410-417.
- Flores, J. (1997).** Mediterranean vs northern European meat products. Processing technologies and main differences. *Food Chemistry*, 59, 505-510.
- Flores, J., Bermel, S. (1994).** Curado de los embutidos. Consecuencias de la acidificación y factores que la afectan. *Fleischwirsch español*, 2, 22-26.
- Flores, M. (2011a).** Flavour of meat products. En: *Sensory analysis of food of animal origin*. Ed. M.L. Nollet y F. Toldrá. CRC Press. Taylor & Francis Group. Boca Raton, FL, EEUU. Págs. 131-146.
- Flores, M. (2011b).** Sensory descriptors for dry-cured meat products. En: *Sensory analysis of food of animal origin*. Ed. M.L. Nollet y F. Toldrá. CRC Press. Taylor & Francis Group. Boca Raton, FL, EEUU. Págs. 173-196.
- Frankel, E. N., (1983).** Volatile lipid oxidation products. *Progress in Lipid Research*, 22, 1-33.
- Galliard, T., Matthew, J. A. (1973).** Lipids of potato tubers. II. Lipid-degrading enzymes in different varieties of potato tuber. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 24, 623-627.

- Galliard, T., Phillips, D. R. (1971).** Lipoxygenase from potato tubers. *Biochemical Journal*, 124, 431-438.
- García, M. L., Domínguez, R., Gálvez, M. D., Casas, C., Selgas, M. D. (2002).** Utilization of cereal and fruit fibres in low fat dry fermented sausages. *Meat Science*, 60, 227-236.
- Giese, J. (1992).** Developing low-fat meat products. *Food Technology*, 46, 100–108.
- Godshall, M. A. (1997).** How carbohydrates influence food flavour. *Food Technology*, 51, 63-74.
- 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.
- Gøtterup, J., Olsen, K., Knøchel, S., Tjener, K., Stahke, L. H., Møller, J. K. S. (2008).** Colour formation in fermented sausages by meat-associated staphylococci with different nitrite- and nitrate-reductase activities. *Meat Science*, 78, 492–501.
- Honikel, K. O. (1997).** Reference methods supported by OECD and their use in Mediterranean meat products. *Food Chemistry*, 9, 573-582.
- Incze, K. (1992).** Raw fermented and dried meat products. *Fleischwirtsch*, 72, 58-62.
- ISO (1997).** ISO 1442 standard. Determination of moisture content. International standards meat and meat products. International Organization for Standardization, Genève, Suiza.
- ISO (1988).** ISO 8589 standard. Sensory analysis. General guidance for the design of test rooms. International Organization for Standardization, Genève, Suiza.
- ISO (1998).** 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 (2003a).** ISO 6887 standard. Microbiology of food and animal feeding stuffs - Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilutions for microbiological examination - Part 2: Specific rules for the preparation of

meat and meat products. International Organization for Standardization, Genève, Suiza.

ISO (2003b). ISO 4833 Standar. 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.

Janssens, M., Myter, N., De Vuyst, L., Leroy, F. (2012). Species diversity and metabolic impact of the microbiota are low in spontaneously acidified Belgian sausages with an added starter culture of *Staphylococcus carnosus*. *Food Microbiology*, 29, 167-177.

Jiménez-Colmenero, F. (1996). Technologies for developing low-fat meat products. *Trends in Food Science and Technology*, 7, 41–48.

Jiménez-Colmenero, F. (2007). Healthier lipid formulation approaches in meat-based functional foods. Technological options for replacement of meat fats by non-meat fats. *Trends in Food Science and Technology*, 18, 567-578.

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

Josephson, D. B., Lindsay, R. C. (1987). c4-Heptenal: An influential volatile compound in boiled potato flavour. *Journal of Food Science*, 52, 328-331.

Kondjoyan, N., Berdagué, J. L. (1996). *A compilation of relative retention indices for the analysis of aromatic compounds*. Theix: Laboratoire Flaveur, Institut National de la Recherche Agronomique. Págs. 1-234.

Kozačinski, L., Zdolec, N., Hadžiosmanović, M., Cvrtila, Z., Filipović, I., Majić, T. (2006). Microbial flora of the Croatian traditionally fermented sausage. *Archives für Lebensmittelhygiene*, 57, 141–147.

Koziol, M. J. (1992). Chemical composition and nutritional evaluation of quinoa (*Chenopodium quinoa Willd.*). *Journal of Food composition and Analysis*, 5, 35-68.

Lawless, H. T. (1984). Oral chemical irritation. *Chemical Senses*, 9, 143-155.

- Liaros, N. G., Katsanidis, E., Bloukas, J. G. (2009).** Effect of the ripening time under vacuum and packaging film permeability on processing and quality characteristics of low-fat fermented sausages. *Meat Science*, 83, 589-598.
- Liepe, H. U., Pfeil, E., Porobic, R., (1990).** Influencia de los azúcares y las bacterias sobre la acidificación de los embutidos secos. *Fleischwirtschafft español*, 2, 42-48.
- Lorenzo, J. M., Franco, D. (2012).** Fat effect on physico-chemical, microbial and textural changes through the manufactured of dry-cured foal sausage lypolysis, proteolysis and sensory properties. *Meat Science*, 92, 704-714.
- Lucca, P. A., Tepper, B. J. (1994).** Fat replacers and the functionality of fat in foods. *Trends in Food Science and Technology*, 5, 12-19.
- Lücke, F. K. (1998).** Fermented sausages. En: *Microbiology of fermented foods*. Vol. 2. Brian, J.B. (Coord.). Wood. Blackie Academic & Professional. Londres, Reino Unido.
- Marco, A., Navarro, J. L., Flores, M. (2006).** The influence of nitrite and nitrate on microbial, chemical and sensory parameters of slow dry fermented sausage. *Meat Science*, 73, 660-673.
- Maruniak, J.A. (1988).** The sense of smell. En: *Sensory analysis of foods*. Ed. Piggott, J.R. Elsevier Applied Science. Essex, Inglaterra. Págs. 25-68.
- Mendoza, E., García, M. L., Casas, C., Selgas, M. D. (2001).** Inulin as fat substitute in low fat, dry fermented sausages. *Meat Science*, 57, 387-393.
- Montel, M. C., Masson, F., Talon, R. (1998).** Bacterial role in flavour development. *Meat Science*, 49, S111-S123.
- Muguerza, E., Fista, G., Ansorena, D., Astiasarán, I., Bloukas, J. G. (2002).** Effect of fat level and partial replacement of pork backfat with olive oil on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 61, 397-404.
- Muguerza, E., Gimeno, O., Ansorena, D., Astiasarán, I. (2004).** New formulations for helthier dry fermented sausages: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 15, 452-457.

- Nam, K. C., Ahn, D. U. (2003).** Use of antioxidants to reduce lipid oxidation and off-odor volatiles of irradiated pork homogenates and patties. *Meat Science*, 63, 1-8.
- Ng, S-C., Anderson, A., Coker, J., Ondrus, M. (2007).** Characterization of lipid oxidation products in quinoa (*Chenopodium quinoa*). *Food Chemistry*, 101, 185-192.
- NIST (2011).** NIST Chemistry WebBook, NIST Standard Reference Database Number 69, Eds. P.J. Linstrom and W.G. Mallard, National Institute of Standards and Technology, Gaithersburg, EEUU. Disponible en Internet: <http://webbook.nist.gov>, consultado en enero de 2012.
- Nursten, H. E., Sheen, M. R. (1974).** Volatile flavour components of cooked potato. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 25, 643-663.
- Olesen, P. T., Stahnke, L. H. (2000).** The influence of *Debaryomyces hansenii* and *Candida utilis* on the aroma formation in garlic spiced fermented sausages and model minces. *Meat Science*, 56, 357-368.
- Olivares, A., Navarro, J. L., Flores, M. (2009).** Distribution of volatile compounds in lean and subcutaneous fat tissues during processing of dry fermented sausages. *Food Research International*, 42, 1303-1308.
- Olivares, A., Navarro, J. L., Flores, M. (2011).** Effect of fat content on aroma generation during processing of dry fermented sausages. *Meat Science*, 87, 263-273.
- Olivares, A., Navarro, J. L., Salvador, A., Flores, M. (2010).** Sensory acceptability of show 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.
- Ospina-E, J. C., Cruz-S, A., Pérez-Álvarez, J. A., Fernández-López, J. (2010).** Development of combinations of chemically modified vegetable oils as pork backfat substitutes in sausages formulation. *Meat Science*, 84, 491-497.

- Ospina-E, J. C., Sierra-C, A., Ochoa, O., Pérez-Álvarez, J. A. (2012).** Substitution of saturated fat in processed meat products: a review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 52, 113-122.
- Palcari, M. A., Moretti, V. M., Bersani, C., Beretta, G., Mentasti, T. (2004).** Characterisation of a lard cured with spices and aromatic herbs. *Meat Science*, 67, 549-57.
- Papadima, S. N., Bloukas, J. G. (1999).** Effect of fat level and storage conditions on quality characteristics of traditional Greek sausages, *Meat Science*, 51, 103-113.
- Park, S. Y., Yoo, S. S., Chin, K. B. (2009).** Flavour profiles of low-fat comminuted sausages as affected by the addition of various sugars in combined with 0.1 m lysine. *International Journal of Food Science and Technology*, 44, 1786-1792.
- Pegg, R. B., Shahidi, F. (1997).** Chemistry and processing aspects of nitrite-free cured meats. En: *Chemistry of novel foods*. Eds. Spanier, A.M., Tamura, M., Okai, H., Mills, O. Illinois: Allured Publishing Corporation. Pág. 273.
- Pérez-Alvarez, J. A., Sayas-Barberá, M. A., Fernández-López, J., Aranda-Catalá, V. (1999).** Physicochemical characteristics of Spanish-type dry-cured sausage. *Food Research International*, 32, 599-607.
- Petersen, M. A., Polla, L., Larsen, L. M. (1997).** Comparison of volatiles in raw and boiled potatoes using a mild extraction technique combined with GC odour profiling and GC-MS. *Food Chemistry*, 61, 461-466.
- Petersen, M. A., Polla, L., Larsen, L. M. (1999).** Identification of compounds contributing to boiled potato off-flavour ('POF'). *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 32, 32-40.
- Poste, L. M., Mackie, D. A., Butler, G., Larmond, E. (1991).** Laboratory methods for sensory analysis of food. Publication 1864/E. *Research Branch*, Agriculture Canada.
- Procida, G., Conte, L. S., Fiorasi, S., Comi, G., Favretto, L. G. (1999).** Study on volatile components in salami by reverse carrier gas headspace gas

chromatography–mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 830, 175-182.

- Roberts, D. D., Elmore, J. S., Langley, K. R., Bakker, J. (1996).** Effects of sucrose, guar gum, and carboxymethylcellulose on the release of volatile flavour compounds under dynamic conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 1321–1326
- Roberts, D. D., Pollien, P., Antille, N., Lindinger, D., Yeretizian, C. (2003).** Comparison of nosespace, headspace, and sensory intensity ratings for the evaluation of flavour absorption by fat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 3636-3642.
- Ruiz-Capillas, C., Triki, M., Herrero, A. M., Rodriguez-Salas, L., Jiménez-Colmenero, F. (2012).** Konjac gel as pork backfat replacer in dry fermented sausages: Processing and quality characteristics. *Meat Science*, 92, 144-150.
- Sancho, J., Bota, E., de Castro, J. J. (1999).** *Introducción al análisis sensorial de los alimentos*. Ed. Ediciones Universidad de Barcelona. Barcelona, España.
- Sayas-Barberá, E., Viuda-Martos, M., Fernández-López, F., Pérez-Álvarez, J. A., Sendra, E. (2012).** Combined use of a probiotic culture and citrus fiber in a traditional sausage ‘Longaniza de Pascua’. *Food Control*, 27, 343-350.
- Sebranek, J. G. (1979).** Advances in the technology of nitrite use and consideration of alternatives. *Food Technology*, 33, 58.
- Seuvre, A-M., Philippe, E., Rochard, S., Voilley, A. (2007).** Kinetic study of the release of aroma compounds in different model food systems. *Food Research International*, 40, 480-492.
- Shahidi, F., & Pegg, R. B. (1994).** Hexanal as an indicator of meat flavour deterioration. *Journal of Food Lipids* 1, 177-186.
- Spaziani, M., del Torre, M., Stecchini, M. L. (2009).** Changes of physicochemical, microbiological, and textural properties during ripening of Italian low-acid sausages. Proteolysis, sensory and volatile profiles. *Meat Science*, 81, 77-85.
- Stahnke, L. H. (1994).** Aroma components from dried sausages fermented with *Staphylococcus xylosus*. *Meat Science*, 38, 39-53.

- Sok, D. E., Kim, M. R. (1994).** Conversion of alpha-linolenic acid to dihydroperoxyoctadecatrienoic acid isomers by soybean and potato lipoxigenases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 2703-2708.
- Stiebing, A., Rödel, W. (1988).** Influence of relative humidity on the ripening of dry sausage. *Fleischwirtschaft*, 68, 1287-1291.
- Summo, C., Caponio, F., Paradiso, M., Pasqualone, A., Gomes, T. (2010).** Vacuum-packed ripened sausages: Evolution of oxidative and hydrolytic degradation of lipid fraction during long-term storage and influence on the sensory properties. *Meat Science*, 84, 147-151.
- Sunesen, L. O., Dorigoni, V., Zanardi, E., Stahnke, L. (2001).** Volatile compounds released during ripening in Italian dried sausage. *Meat Science*, 58, 93-97.
- Szczesniak, A. S. (1963).** Classification of textural characteristics. *Journal of Food Science*, 28, 385-389.
- Tabanelli, G., Coloretti, F., Chiavari, C., Grazia, L., Lanciotti, R., Gardini, F. (2012).** Effects of starter cultures and fermentation climate on the properties of two types of typical Italian dry fermented sausages produced under industrial conditions. *Food Control*, 26, 416-426.
- Tokusoglu, Ö, Ünal, M. K. (2003).** Fat replacers in meat products. *Pakistan Journal of Nutrition*, 2, 196-203.
- Toldra, F., Sanz, Y., & Flores, M. (2001).** Meat fermentation technology. En: *Meat science and applications*. Eds. Hui, Y. H., Nip, W.-K., Rogers, R. W., Young, O. A. New York: Marcel Dekker. Págs. 537-561.
- USDA (2012).** National Nutrient Data Base for Standard Reference, Release 28. Agriculture Research Service. Nutrient Data Laboratory. United States. Department of Agriculture.
- Valsta, L. M., Tapanainen, H., Männistö, S. (2005).** Meat fats in nutrition. *Meat Science*, 70, 525-530.
- Visser, R. G. F., Suurs, L. C. J. M., Steeneken, P. A. M., Jacobsen, E. (1997).** Some physicochemical properties of amylose-free potato starch. *Starch*, 49, 443-448.

- Vösgen, W. (1994).** Dry sausage - New and establish production methods. *Fleischwirtschaft*, 74 , 62-63.
- Wilson, A. M., Work, A. A., Bushway, A. A., Bushway, R. J. (1981).** HPLC Determination of Fructose, Glucose, and Sucrose in Potatoes. *Journal of Food Science*, 46, 300-301.
- Yalınkılıç, B., Kaban, G., Kaya, M. (2012).** The effects of different levels of orange fiber and fat on microbiological, physical, chemical and sensorial properties of sucuk. *Food Microbiology*, 29, 255-259.
- Yoo, S. S., Kook, S. H., Park, S. Y., Shim, J. H., Chin, K. B. (2007).** Physicochemical characteristics, textural properties and volatile compounds in comminuted sausages as affected by various fat levels and fat replacers. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 1114–1122.
- Weiss, J., Gibis, M., Schuh, V., Salminen, H. (2010).** Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. *Meat Science*, 86, 196-213.
- Winger, R.J., Hagyard, C.J. (1994).** Juiciness- its importance and some contributing factors. En: *Quality attributes and their measurement in meat, poultry and fish products*. Ed. Pearson, A.M. y Dutson, T.R. Blackie Academic & Professional, Glasgow, Reino Unido. Págs. 94-124.
- Wood, S. G., Lawson, L. D., Fairbanks, D. J., Robison, L. R., Andersen, W. R. (1993).** Seed lipid content and fatty acid composition of three quinoa cultivars. *Journal of Food Composition and Analysis*, 6, 41-44.