

# UNIVERSITAT POLITÈCNICA DE VALÈNCIA

ESCOLA TÈCNICA SUPERIOR D'ENGINYERIA  
AGRONÒMICA I DEL MEDI NATURAL



## ***EVALUACIÓN DEL USO DE DIFERENTES ENZIMAS SOBRE LA CALIDAD DE LOS PRODUCTOS CÁRNICOS***

TRABAJO FIN DE GRADO/MÁSTER EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS  
ALIMENTOS

ALUMNO/A: Pablo Sanz Punter

TUTOR/A: Ana Fuentes López

COTUTOR/A: José Manuel Barat

*Curso Académico:2014/2015*

VALENCIA, 01/09/2015

# ÍNDICE

Lista de figuras.....	III
Lista de tablas.....	V
Resumen.....	VI
<b>1</b> Introducción.....	<b>1</b>
<b>1.1</b> La carne como alimento.....	<b>1</b>
<b>1.2</b> Productos cárnicos: los productos cárnicos curados.....	<b>2</b>
<b>1.3</b> Uso de enzimas en industria alimentaria: la transglutaminasa.....	<b>4</b>
<b>1.4</b> Reducción del contenido de sal en los alimentos.....	<b>6</b>
<b>1.5</b> La reducción de sal en los productos reestructurados.....	<b>8</b>
<b>2</b> Objetivos y plan de trabajo.....	<b>9</b>
<b>2.1</b> Objetivo.....	<b>9</b>
<b>2.2</b> Plan de trabajo.....	<b>9</b>
<b>3</b> Material y Métodos.....	<b>10</b>
<b>3.1</b> Equipos.....	<b>10</b>
<b>3.2</b> Materia prima.....	<b>11</b>
<b>3.3</b> Preparación de la muestra.....	<b>11</b>
<b>3.4</b> Determinaciones analíticas.....	<b>16</b>
<b>3.4.1</b> Humedad.....	<b>16</b>
<b>3.4.2</b> pH.....	<b>16</b>
<b>3.4.3</b> Contenido en cloruro.....	<b>17</b>
<b>3.4.4</b> Actividad de agua.....	<b>17</b>
<b>3.4.5</b> Propiedades mecánicas.....	<b>18</b>
<b>3.4.6</b> Análisis microbiológico.....	<b>20</b>
<b>3.4.7</b> Análisis sensorial.....	<b>20</b>
<b>3.5</b> Análisis estadístico.....	<b>21</b>
<b>4</b> Resultados y discusión.....	<b>22</b>

<b>4.1</b>	<b>Caracterización de la materia prima.....</b>	<b>22</b>
<b>4.2</b>	<b>Fase I: Optimización de las formulaciones.....</b>	<b>23</b>
<b>4.3</b>	<b>Fase II: Desarrollo del producto curado.....</b>	<b>31</b>
	<b>4.3.1 Monitorización de la pérdida de peso durante el proceso de curado.....</b>	<b>31</b>
	<b>4.3.2 Características fisicoquímicas de los productos reestructurados curados.....</b>	<b>32</b>
	<b>4.3.3 Calidad microbiológica de los productos reestructurados curados.....</b>	<b>35</b>
	<b>4.3.4 Evaluación sensorial de los productos reestructurados curados.....</b>	<b>36</b>
<b>5</b>	<b>Conclusiones.....</b>	<b>39</b>
<b>6</b>	<b>Anexos.....</b>	<b>40</b>
	<b>Referencias.....</b>	<b>57</b>

## LISTA DE FIGURAS

Figura 3.1. Esquema del proceso de elaboración de las muestras de lomo en la fase I del estudio.....	13
Figura 3.2. Esquema del proceso de elaboración de las muestras de lomo en la fase II del estudio.....	15
Figura 3.3. Esquema de la muestra empleada en los ensayos de tensión.....	19
Figura 3.4. Ejemplo de una curva fuerza/desplazamiento durante el ensayo de TPA.....	20
Figura 4.1. Valores de humedad en las piezas de lomo reesruturado empleando diferentes concentraciones de transglutaminasa (1, 1.25 y 1.5% (g enzima/100 g de carne fresca) y formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).....	24
Figura 4.2. Valores de pH en las piezas de lomo reesruturado empleando diferentes concentraciones de transglutaminasa (1, 1.25 y 1.5% (g enzima/100 g de carne fresca) y formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).....	25
Figura 4.3. Valores de actividad del agua ( $a_w$ ) en las piezas de lomo reesruturado empleando diferentes concentraciones de transglutaminasa (1, 1.25 y 1.5% (g enzima/100 g de carne fresca) y formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).....	25
Figura 4.4. Valores de actividad del agua ( $a_w$ ) en las piezas de lomo reesruturado empleando diferentes concentraciones de transglutaminasa (1, 1.25 y 1.5% (g enzima/100 g de carne fresca) y formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).....	26
Figura 4.5. Valores de la fuerza máxima de corte (N) de las piezas de lomo reesruturado empleando diferentes concentraciones de transglutaminasa (1, 1.25 y 1.5% (g enzima/100 g de carne fresca) y formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).....	27
Figura 4.6. Valores de la fuerza de unión ( $N/cm^2$ ) de las piezas de lomo reesruturado empleando diferentes concentraciones de transglutaminasa (1, 1.25 y 1.5% (g enzima/100 g de carne fresca) y formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).....	28

Figura 4.7. Valores de dureza (N) de las piezas de lomo reesruturado empleando diferentes concentraciones de transglutaminasa (1, 1.25 y 1.5% (g enzima/100 g de carne fresca) y formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).....	<b>29</b>
Figura 4.8. Valores de adhesividad (g-s) de las piezas de lomo reesruturado empleando diferentes concentraciones de transglutaminasa (1, 1.25 y 1.5% (g enzima/100 g de carne fresca) y formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).....	<b>29</b>
Figura 4.9. Valores de elasticidad de las piezas de lomo reesruturado empleando diferentes concentraciones de transglutaminasa (1, 1.25 y 1.5% (g enzima/100 g de carne fresca) y formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).....	<b>30</b>
Figura 4.10. Valores de masticabilidad (N) de las piezas de lomo reesruturado empleando diferentes concentraciones de transglutaminasa (1, 1.25 y 1.5% (g enzima/100 g de carne fresca) y formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).....	<b>30</b>
Figura 4.11. Valores de cohesividad de las piezas de lomo reesruturado empleando diferentes concentraciones de transglutaminasa (1, 1.25 y 1.5% (g enzima/100 g de carne fresca) y formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).....	<b>30</b>
Figura 4.12. Variación de peso de los lomos de cerdo reestructurados durante el proceso de curado (valores promedio de 3 lomos).....	<b>32</b>
Figura 4.13. Valores de humedad, pH, $a_w$ y contenido en cloruros en las piezas de lomo curado con diferentes formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).....	<b>33</b>
Figura 4.14. Valores de fuerza de corte (N) y fuerza de unión (N/cm <sup>2</sup> ) en las piezas de lomo curado con diferentes formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).....	<b>34</b>
Figura 4.15. Puntuaciones dadas por los catadores para los atributos sensoriales evaluados en las muestras de lomo curado con diferentes formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato) y en las muestras comerciales.....	<b>37</b>

## LISTA DE TABLAS

Tabla 3.1. Formulaciones empleadas en el proceso de elaboración del lomo. Concentración de los ingredientes expresados como g del ingrediente por 100 g del producto final...	<b>12</b>
Tabla 4.1. Valores de humedad y pH obtenidos en la caracterización del lomo fresco empleado como materia prima (n=3).....	<b>22</b>
Tabla 4.2. Recuentos de aerobios mesófilos, bacterias acidolácticas y enterobacterias (log UFC/g) en las muestras de lomo curado con diferentes formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).....	<b>35</b>

## **RESUMEN:**

La utilización en la industria cárnica de enzimas que favorecen el entrecruzamiento de proteínas permite el desarrollo de productos donde se utilicen los recortes y otros excedentes de la producción para la obtención de nuevos productos reestructurados. En este sentido, el desarrollo de derivados cárnicos reestructurados curados es interesante porque permite reducir las pérdidas de la industria y aumentar el rendimiento de la producción. Además, si esta aplicación se combina con la necesidad del sector por reducir la cantidad de sodio en sus productos, el interés en estas investigaciones es mayor.

El objetivo del presente trabajo es el desarrollo de un nuevo producto reestructurado tipo "lomo curado" con un bajo contenido en sodio. Para alcanzar este objetivo el presente trabajo se ha dividido en dos fases. En la fase I, se han estudiado diferentes formulaciones, combinando distintas concentraciones de transglutaminasa (1%, 1,25% y 1,5% TG) y diferentes mezclas de sales (100% NaCl, 60% NaCl:40%KCl y 70%NaCl:30%K-lactato), con el objeto de seleccionar la formulación óptima unión de las piezas de carne. En la fase II, las piezas de lomo se han sometido a un proceso de curado para obtener un producto similar a los productos convencionales. Los resultados obtenidos han mostrado que la utilización de la formulación con un 1,5% de transglutaminasa permite conseguir la correcta unión de las porciones de lomo que garanticen la preparación de la materia prima para el posterior proceso de curado. El tipo de sal utilizada en la formulación no afecta a la actividad de la enzima, por lo que la sustitución parcial del sodio en el producto sería posible sin afectar a la cohesión de las piezas de carne. El uso de lomo reestructurado empleando transglutaminasa y diferentes sales es adecuado para obtener un producto curado con características similares a los productos tradicionales y con una buena calidad higiénica.

**Palabras clave:** enzimas, productos cárnicos, transglutaminasa, reducción sodio, proceso curado.

## **ABSTRACT:**

The use of crosslinking enzymes in the meat industry allows the development of new restructured products using cuts and other surplus production. Moreover, development of restructured meat products can benefit the industry reducing losses and increasing production yields. In addition, it is especially interesting combining this application with the need to reduce the amount of sodium in their products.

The aim of this study is to develop a new restructured product type “cured loin” with low sodium content. To achieve this aim the present study has been divided in two phases. In Phase I, different formulations were used, combining different transglutaminase concentration (1%, 1,25% and 1,5% TG) and different salts mixtures (100% NaCl, 60% NaCl:40%KCl and 70%NaCl:30%K-lactate), in order to select the optimal formulation that allows the perfect binding of the meat pieces. In Phase II, loin pieces have been submitted to a curing process to obtain a new product with the characteristics of the commercial ones. The results have shown that the used of the formulation with a 1,5% of transglutaminase allows the perfect binding of the loin, to ensure the preparation of the raw material for the curing process. The salt used in the formulation does not affect the enzyme activity, so the partial substitution of sodium would be possible without affecting the cohesion of the meat pieces. Using transglutaminase and different salts in the loins is suitable to obtain a new cured product with similar characteristics to traditional products and with a good hygienic quality.

**Key words:** enzymes, meat products, transglutaminase, sodium reduction, curing process.



## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1. LA CARNE COMO ALIMENTO**

El *Codex Alimentarius* define la **carne** como “todas las partes de un animal que han sido dictaminadas como inocuas y aptas para el consumo humano o se destinan para este fin” (CODEX, 2005). La carne es un alimento esencial para conseguir una dieta equilibrada, ya que es una de las principales fuentes de proteínas y posee todos los aminoácidos esenciales que necesita el organismo. La carne se compone de agua, proteínas y aminoácidos, minerales, grasas y ácidos grasos, vitaminas y otros componentes bioactivos, así como pequeñas cantidades de carbohidratos. Las proteínas son sin duda la fracción más importante en la carne, con un contenido proteico alrededor del 14%, pudiendo encontrar diferencias entre las zonas más magras y las más grasas del animal. Es una excelente fuente de hierro, potasio, fósforo y zinc, minerales esenciales para nuestro organismo, y también de vitaminas, especialmente las vitaminas del grupo B, como la B12 o B1. En general su contenido en agua es elevado con valores que oscilan el 70-75%. El contenido energético de la carne es distinto según su porcentaje de grasa, con valores que en general oscilan entre las 200-300 kcal por cada 100 g.

Según la datos proporcionados por la FAO, el consumo de carne por habitante y año a nivel mundial se sitúa alrededor de los 40 kg (FAO, 2014), existiendo grandes diferencias en las cifras registradas entre los países desarrollados y aquellos que se encuentran en vías de desarrollo. Mientras que para los países más desarrollados el consumo de carne se sitúa entre los 70 y 80 kg por habitante y año, en los países menos desarrollados estas cifras no superan los 30 kg, llegando a un mínimo de 10 kg en los países más pobres (FAO, 2014). A pesar de estas diferencias, la demanda de carne ha sufrido un fuerte incremento en las últimas décadas, principalmente condicionado por el rápido crecimiento económico observado de algunos países emergentes, donde el aumento de los ingresos de los habitantes, ha provocado una mayor demanda de productos con un valor añadido.

En los hogares españoles, el consumo de carne supone más de un 20% del gasto total en alimentación (MAGRAMA, 2014), lo que pone de manifiesto la importancia del sector cárnico en la economía nacional.

La tendencia en el consumo dentro de nuestro país ha descrito un aumento tanto en consumo como en su producción durante los últimos años, siendo la carne de cerdo el tipo de carne más consumido. La población española consume casi tres veces más carne de cerdo que de ave, siendo esta la segunda carne más consumida. En concreto, en los últimos años se estima que la

producción de carne de cerdo es de unas 3.500.000 toneladas destinadas al consumo en fresco y 1.000.000 Tm en forma de elaborados a partir de cerdo (mayoritariamente jamón curado y cocido o York) (FAO: Perspectivas alimentarias-Análisis del mercado mundial 2014).

La producción nacional no sólo se destina al consumo interno, ya que España es uno de los grandes exportadores de productos cárnicos de Europa, siendo los destinos más habituales Francia (con un total del 33% de las toneladas exportadas), Portugal (20%), Italia (13%), Reino Unido (10%) y Alemania (7%). En el año 2013, España se situó como el cuarto productor mundial de carne porcina, con un 3,4% de la producción mundial, aunque muy lejos de China cuya producción supone la mitad de toda la producción mundial. A la producción china le siguen Estados Unidos, con un 10% de la producción mundial, y Alemania con el 5,3% (MAGRAMA, 2014).

## **1.2. PRODUCTOS CÁRNICOS: LOS PRODUCTOS CÁRNICOS CURADOS**

A lo largo del tiempo se han ido desarrollando en todo el mundo una enorme variedad de productos cárnicos elaborados o semielaborados con diferentes características sensoriales y diferente valor nutricional. En algunas regiones existen cientos de productos cárnicos distintos, con nombres y sabores diferentes (FAO, 2015). Los productos cárnicos pueden clasificarse en productos cárnicos procesados crudos, curados, cocidos, precocinados-cocinados, crudo-fermentados y secos.

En España, los productos cárnicos poseen una gran tradición y sus procesos de elaboración han ido evolucionando de forma que pueden encontrarse en el mercado productos tradicionales, elaborados siguiendo los procesos de fabricación originales, hasta las elaboraciones que emplean las tecnologías más avanzadas. En la actualidad, los productos cárnicos nacionales son muy apreciados en todo el mundo por su reconocida calidad y atributos sensoriales característicos.

El **curado** es uno de los procedimientos de conservación de la carne más utilizados desde la antigüedad. El proceso de curado consiste en la incorporación a la carne de sales y fosfatos, especias, nitritos y opcionalmente azúcares con el objetivo de aumentar su periodo de conservación y conferir al producto unas características sensoriales particulares. La adición de sal a los alimentos consigue prolongar su vida útil, ya que deprime la actividad de agua, y por tanto reduce el agua disponible para los microorganismos que causan el deterioro se

desarrollen. Además, la incorporación de sal (NaCl) a la carne junto con los fosfatos, favorece la salida de las proteínas sarcoplasmáticas al exterior, gracias al carácter soluble de éstas. La sal es esencial para la generación de características organológicas típicas de este tipo de productos; en este sentido, los iones de sodio son los responsables de dar el sabor característico salado y potenciar otros sabores mientras que los iones cloruro son los encargados de retener agua en las proteínas de la carne.

Los agentes de curado son otro de los ingredientes principales de los productos curados, ya que son los responsables de las propiedades características este tipo de productos. Los agentes de curado más utilizados son los nitritos y nitratos. A pesar de que son los nitritos mayoritariamente los responsables de los cambios durante la maduración del producto, los nitratos se adicionan como reserva de nitritos en productos que necesitan un proceso de curación lento y de un largo período de tiempo. Durante el curado, los nitratos son reducidos a nitritos por los microorganismos presentes en el producto. A pesar de que estas dos sales se adicionan en muy pocas cantidades, ya que el nitrito en altas concentraciones puede resultar tóxico para el ser humano, su efecto es muy potente e importante, lo que los convierte en componentes indispensables a la hora de procesar los productos curados.

Otro de los efectos más evidente de la adición de agentes de curado es la formación de color rojo característico de los productos curados. Las sales de nitrito proporcionan óxido nítrico, que al reaccionar con la mioglobina presente en la carne, producirá nitrosomioglobina, responsable del color rojo, y esta reacción es acelerada por los iones cloruro presentes en las sales adicionadas. Además, se ha sugerido que la liberación del óxido nítrico en el producto puede contribuir a los cambios texturales que sufren las carnes curadas, ya que favorece las interacciones entre proteínas, siendo más firme el producto final.

Otra de las características de estos productos es el sabor que aporta la carne curada. A pesar de que no se conocen todos los mecanismos y reacciones que favorecen este sabor característico, se ha relacionado con la capacidad de los nitritos de limitar las oxidaciones lípídicas, actuando como potentes antioxidantes. Además, se han encontrado componentes volátiles con compuestos nitrogenados, lo que puede ser una evidencia de su procedencia, ya que no existen otros elementos antioxidantes en la carne que puedan producirlos. Por último, las sales de curado actúan también como agentes antimicrobianos, ya que limitan el crecimiento de bacterias como *Clostridium botulinum*, además de inhibir el crecimiento de otros microorganismos patógenos.

Otro de los ingredientes utilizados en el proceso de elaboración de los productos curado son las sales de fosfato. Los fosfatos favorecen la retención de agua por parte las proteínas, aportando al producto final más jugosidad y ternura. Las sales de fosfato, además de los nitritos y nitratos, poseen carácter antioxidante, lo que protegerá al producto de reacciones oxidantes y rancidez que pueda causar el cloruro sódico, un conocido oxidante en la carne (Sebranek, 2009).

### **1.3. USO DE ENZIMAS EN INDUSTRIA ALIMENTARIA: LA TRANSGLUTAMINASA**

Las enzimas se han convertido en los últimos años en componentes importantes en la industria alimentaria. Existen multitud de sectores en los que las enzimas son un componente esencial para la cadena de producción. En la industria láctea, lactasas y quimosinas son utilizadas en la coagulación de las proteínas de la leche para la fabricación de quesos. En la producción de bebidas como vino, cerveza o zumos, las enzimas son utilizadas para clarificar los jugos, evitar malos sabores o para la hidrólisis de la sacarosa en glucosa y en fructosa. También es importante su uso en la fabricación de pan y derivados, donde amilasas y proteasas juegan un papel esencial al mejorar la calidad y viscosidad de las masas.

La industria cárnica también se ha visto favorecida por el uso de las enzimas. Aunque es cierto que existen multitud de enzimas con aplicaciones muy diferentes, las más importantes y generalmente más utilizadas son las enzimas capaces de ablandar la carne y mejorar la textura, las enzimas que favorecen el entrecruzamiento de proteínas y aquellas que son capaces de mejorar el sabor del producto final.

Las enzimas utilizadas para mejorar la textura de las carnes son las enzimas proteasas, conocidas por el término en inglés *tenderizers*. Las proteasas destruyen enlaces presentes entre proteínas mejorando así la textura de las carnes. Pueden proceder de vegetales, hongos o bacterias, y suelen utilizarse para marinar o adobar la materia prima durante su procesado, pudiendo así ablandar carnes más duras y hacerlas más agradables para el consumidor. Algunas de las más utilizadas son papaína, bromelina o aquellas obtenidas de *Aspergillus niger*.

Entre las enzimas empleadas para favorecer el entrecruzamiento de proteínas, la más utilizada es la **transglutaminasa** ( $\gamma$ -glutamyl-transferasa EC 2.3.2.13). La transglutaminasa es una enzima transferasa que se caracteriza por catalizar reacciones de cruzamiento entre los grupos

residuales  $\gamma$ -carboxiamida y los grupos  $\epsilon$ -amino residuales de lisina, resultando un cruzado molecular de proteínas mediante la formación de enlaces  $\epsilon$ -( $\gamma$  glutamil) lisina (Payne, 2009).

Existen dos grandes grupos de transglutaminasas, en función de su dependencia del calcio. El primer grupo, las enzimas calcio-dependientes se encuentran en gran cantidad de organismos eucariotas, así como en tejidos animales como el hígado y plasma de mamíferos, en pescados, algas, etc. Estas enzimas están involucradas en la coagulación sanguínea, la reparación de los tejidos y la queratinización epidérmica. El segundo grupo, las enzimas calcio-independientes, son obtenidas a partir de la fermentación que llevan a cabo microorganismos del género *Streptovercillium*, en concreto algunas especies como *Streptovercillium cinnamoneum*, *Streptovercillium mobaraense* o *Streptovercillium ladakanum*.

En los últimos años, la enzima transglutaminasa ha ido cobrando especial importancia en la industria alimentaria. Más allá de las funciones que se le atribuyen a nivel biológico, ha demostrado ser un eficiente aditivo para la conexión de proteínas en productos cárnicos, lácteos o diferentes productos de la pesca, con el objetivo de producir alimentos reestructurados con una textura adecuada. Su amplio intervalo de acción de pH, su independencia del calcio para actuar, el hecho de poseer actividad a bajas temperaturas, y su alta velocidad de reacción, la convierten en un aditivo con características muy interesantes para ser utilizada en la industria. El uso de la transglutaminasa como agente de conexión entre proteínas es el más conocido; sin embargo, la transglutaminasa también es utilizada para mejorar la textura de distintos tipos de productos. Uno de los principales usos de la transglutaminasa, es su empleo junto con la sal en emulsiones cárnicas, ya que favorece la salida de proteínas solubles a través de la sal, y el resultado final es una estabilidad mayor de las grasas presentes. Además, el uso de la enzima tiene como resultado la producción de una matriz más fuerte, que se traduce en una mayor estabilidad general de la emulsión. La transglutaminasa también permite la posibilidad de mejorar la textura durante el cocinado a temperaturas medias, entorno a los 55 °C, hasta que la enzima se desnaturaliza a temperaturas mayores (Payne, 2009).

Aunque su uso tiene especial importancia en la industria cárnica, tiene también numerosas aplicaciones en la industria láctea para mejorar la textura de los quesos, en la industria panadera, en la elaboración de productos derivados de la soja y productos derivados de pescados y mariscos. Además, permite la incorporar distintos compuestos como aminoácidos o péptidos, consiguiendo incrementar el valor nutritivo del producto.

Como agente de conexión entre proteínas, la transglutaminasa es usada especialmente en la industria cárnica. Esto permite crear productos cárnicos reestructurados, lo que puede suponer una ventaja a nivel industrial, ya que es posible utilizar restos y excedentes de la producción para crear otros con buenas características sensoriales. Generalmente, este ingrediente es utilizado en la cadena de procesado en forma de disolución o de polvo como agente de unión para la carne fresca que puede ser transformada, a continuación, en un nuevo producto elaborado. En este sentido, el uso de la transglutaminasa tiene especial interés para elaboración de derivados cárnicos como los productos curados.

En este caso, hay que considerar que la actividad de la transglutaminasa puede verse afectada según el tipo de sal utilizada durante el procesado. El tratamiento de transglutaminasa muestra un efecto sinérgico cuando es combinado con sal (cloruro sódico) y fosfatos. En este sentido, existen diferentes estudios que han demostrado que el uso de que sales como el NaCl y KCl son capaces de potenciar su efecto y estabilidad, otras como el  $\text{CaCl}_2$  y  $\text{MgCl}_2$  apenas favorecen su estabilidad térmica o incluso reducen la actividad de la enzima (Kütemeyer et al., 2005). En productos cárnicos picados y reestructurados, el uso combinado de la transglutaminasa con NaCl y tripolifosfatos es capaz de incrementar el color, aroma y sabor del producto cárnico, además de la textura. En general los productos picados y reestructurados la concentración de sal ronda el 2%, aunque se puede reducir hasta un 1% sin que los aspectos físicos y sensoriales se vean afectados (Ruusunen & Poulanne, 2005). Sin embargo también existen estudios que han demostrado que puede conseguirse una buena unión de las piezas de carne empleando transglutaminasa sin la necesidad de utilizar sal ni fosfatos (Motoki & Segura, 1998).

#### **1.4. REDUCCIÓN DEL CONTENIDO DE SAL EN LOS ALIMENTOS**

Durante los últimos años, en los países desarrollados se ha producido un importante aumento en la prevalencia de enfermedades cardiovasculares. Las enfermedades cardiovasculares engloban dolencias que afectan al corazón y los vasos sanguíneos, donde destacan patologías como la arterioesclerosis, hipertensión arterial, ictus, etc. Las enfermedades cardiovasculares suponen la causa de muerte más habitual con 17,5 millones de muertes al año, es decir, 3 de cada 10 personas en el mundo murieron por enfermedades atribuidas a cardiopatías isquémicas, accidentes cerebrovasculares, hipertensiones arteriales, etc. (OMS, 2014). Este tipo de enfermedades se ha asociado a unos hábitos alimentarios incorrectos y el sedentarismo. Es por ello, que se considera que la alimentación es una pieza clave en la prevención y recuperación de este tipo de enfermedades.

El exceso de sodio en la dieta está ligado directamente a las enfermedades cardiovasculares, por lo que las autoridades sanitarias recomiendan restringir el uso de sodio para prevenir estas patologías. La OMS propone que la ingesta de sal diaria de no debe superar los 5 g por día, lo que equivaldría a unos 2 g de sodio diarios. En concreto, en España el consumo de sal casi duplica las recomendaciones, ya que se considera que los españoles consumen una media de 9,8 g de sal al día, siendo esta uno de las ingestas más altas en toda Europa (AESAN, 2011).

Debido al enorme impacto socioeconómico de las enfermedades cardiovasculares, las autoridades sanitarias recomiendan reducir los niveles de ingesta de sodio a través de los alimentos. Para la OMS, la reducción del consumo de sal es además uno de los métodos más eficientes, de bajo coste y sencillos de reducir con efectividad la creciente prevalencia actual de enfermedades cardiovasculares. Para ello, se insta a los estados adheridos a la organización a que desarrollen planes y programas de salud para concienciar a la población de este problema y reducir el consumo en sodio.

El sodio en la dieta no solo se encuentra en forma de la sal común, sino que está presente en gran variedad de alimentos procesados disponibles para el consumidor. Alimentos como los fiambres, embutidos, quesos duros, snacks comerciales, caldos concentrados, pescados y carnes curadas y conservas o encurtidos son algunos de los alimentos que más contribuyen a aumentar la ingesta de sodio. La sal presente en este tipo de producto se conoce popularmente como 'sal oculta', ya que los consumidores no son conscientes del elevado contenido de sal en estos alimentos. En España, el consumo de este tipo de sal aporta entre el 65 y 70% de la cantidad de sal consumida, y su aporte a la dieta sigue una tendencia ascendente debido principalmente al aumento en la demanda de productos elaborados. Las principales fuentes de sodio entre la población son los productos de panadería, que suponen el 33,6% del aporte, seguido de los productos cárnicos embutidos (con un 21%) y los quesos ocuparían el tercer lugar, con un 5,83% (AESAN, 2011).

Las industrias de alimentos están estableciendo estrategias que les permitan reducir la cantidad de sodio en sus productos sin afectar a las características sensoriales del producto, su estabilidad durante el almacenamiento, ni a la aptitud tecnológica de los mismos. Una de estas estrategias de reducción de sodio es la sustitución parcial del cloruro sódico (NaCl) por otras sales. En este sentido, las sales más estudiadas son el cloruro potásico (KCl), cloruro de calcio (CaCl<sub>2</sub>), cloruro de magnesio (MgCl<sub>2</sub>) y lactato de potasio (K-lactato).

La investigación de la reducción de sodio en los productos alimenticios debe evaluar las implicaciones que tiene la reducción de la cantidad de sal o la sustitución parcial del sodio

sobre las características del alimento. La disminución de la cantidad de sal afecta principalmente al sabor del alimento, ya que la reducción de la cantidad de sal reduce la intensidad del sabor salado, y además el empleo de sales alternativas al cloruro sódico puede provocar la aparición de cierto sabor metálico y astringente en el producto final. En los productos cárnicos, la reducción de sal provoca también cambios en el color, la estabilidad microbiológica y la actividad enzimática del producto (Sofos, 1983; Toldrá, 2006). En el caso de los productos curados, otro de los problemas que esta estrategia origina es que se precisa generalmente tiempos de curado y secado más largos para alcanzar los valores de  $a_w$  que garanticen la estabilidad del producto, ya que la capacidad de las sales alternativas al NaCl para reducir la  $a_w$  del producto suele ser menor (Aliño, 2010). Este efecto aparece como consecuencia de que la sustitución parcial de la sal afecta al transporte de agua que sucede durante los fenómenos de transferencia de materia que se producen a lo largo del proceso de salado.

Se han propuesto cambios en las técnicas de procesado para reducir el impacto que tiene la reducción de sodio en el alimento usar altas presiones o utilizar carnes pre-rigor mortis De esta forma, la sustitución de la sal puede llevarse a cabo sin afectar aspectos físicos, químicos y sensoriales de los productos cárnicos.

El NaCl es la sal más barata a nivel comercial, por lo que la sustitución de ésta sal por otras puede suponer una barrera a nivel económico. La menor aceptación social de otras sales distintas al cloruro sódico también supone un inconveniente para el consumidor, que se muestra reticente a la hora de consumir estos productos que pueden no aportar el mismo sabor. No obstante, estudios han demostrado que si bien es cierto que las sales sustitutas pueden aportar una intensidad del sabor salado menor, ésta puede incrementarse combinando otras sales con compuestos potenciadores del sabor, como lactatos o glutamatos. De la misma forma, se han encontrado compuestos capaces de neutralizar el sabor metálico que pueden aportar sales como el KCl cuando se usa para sustituir el sodio (Desmond, 2006).

## **1.5. LA REDUCCIÓN DE SAL EN LOS PRODUCTOS REESTRUCTURADOS**

Debido al interés que tiene para la industria cárnica el desarrollo de productos que permitan emplear recortes y otros excedentes de la producción para la obtención de nuevos productos y la necesidad de este sector para conseguir reducir el contenido de sodio en sus productos, es interesante evaluar si las sales alternativas al NaCl pueden ser adecuadas para conseguir un



derivado cárnico reestructurado con bajo contenido en sodio adecuado para la comercialización. Tal y como se ha comentado anteriormente, el efecto que tiene la sal sobre la actividad de la enzima transglutaminasa y como las diferentes sales afectan a los procesos de curado ha sido analizado en otros estudios. Sin embargo, es necesario profundizar en el estudio de la reducción de sodio en el desarrollo de nuevos productos curados reestructurados con el objetivo de conseguir un producto con unas características sensoriales similares a los productos convencionales y que garantice su seguridad microbiológica.

## **2. OBJETIVO Y PLAN DE TRABAJO**

### **2.1. OBJETIVO**

El **objetivo general** del presente trabajo es el desarrollo de un nuevo producto reestructurado tipo “lomo curado” con un bajo contenido en sodio.

Para alcanzar este objetivo general se han planteado los siguientes **objetivos específicos**:

- Seleccionar la formulación más adecuada empleando transglutaminasa y diferentes sales para conseguir la óptima unión de las piezas de carne.
- Caracterizar fisicoquímicamente las piezas de lomo que van a ser empleadas como materia prima en el proceso de curado.
- Procesado de las piezas de lomo reestructurado para obtener un producto curado similar a los productos convencionales.

### **2.2. PLAN DE TRABAJO**

Para alcanzar los objetivos propuestos se ha establecido el siguiente plan de trabajo:

1. Revisión bibliográfica sobre la aplicación de enzimas para el desarrollo de nuevos productos cárnicos y sobre las estrategias empleadas para la reducción de sodio en alimentos.
2. Selección de los parámetros fisicoquímicos más adecuados para evaluar la correcta unión de las piezas de carne por acción de la enzima durante la etapa de preparación de la materia prima.
3. Estudio de las diferentes formulaciones de trabajo para conseguir una óptima unión de las piezas de carne fresca.

4. Caracterización fisicoquímica de las piezas de carne reestructurada susceptibles de ser utilizadas como materia prima en el proceso de curado.
5. Procesado de las piezas de carne empleando las formulaciones seleccionadas para la obtención del producto de lomo curado.
6. Caracterización fisicoquímica, microbiológica y sensorial del producto curado obtenido.
7. Análisis estadístico de los datos e interpretación de los resultados obtenidos
8. Redacción del informe final

### **3. MATERIAL Y MÉTODOS**

#### **3.1. EQUIPOS**

- Balanza Kern modelo EG 220-3NM (Kern & Sohn, Balingen, Alemania).
- Cámara de secado Binder con convección forzada modelo FD 115 (Binder GMBH, Tuttlingen, Alemania).
- Centrífuga Eppendorf modelo 5810 R (Eppendorf, Hamburgo, Alemania).
- Clorurímetro Sherwood modelo 926, precisión de  $\pm 3$  mg Cl-/L (Sherwood, Cambridge, Reino Unido).
- Congelador Liebherr modelo GNP (Liebherr-Internacional, Deutschland GmbH, Biberach an der Riss, Alemania).
- Congelador Eurofred modelo CF700 (Eurofred, Barcelona, España).
- Cortadora S&P modelo Master-N Sand P
- Estufa de secado Binder con convección forzada modelo FD 53 (Binder GMBH, Tuttlingen, Alemania).
- Frigorífico Liebherr modelo Profiline (Liebherr-Internacional, Deutschland GmbH, Biberach an der Riss, Alemania).
- Higrómetro de punto de rocío Aqualab<sup>®</sup> CX-2 (Decagon Devices Inc., Pullman, WA, USA)
- Homogeneizador Ultraturrax modelo IKA T-25 digital (IKA-Labortechnik, Staufen, Alemania).
- Mufla JP-Selecta modelo 367 PE (J.P. Selecta S.A., Barcelona, España).
- pH-metro Crisol Basic 20+, con electrodos de punción para productos sólidos (Crison Instruments S.A., Barcelona, España).
- Picadora Ariete modelo 1820 (De'Longui, Treviño, Italia).

- Prensa universal Stable Micro Systems modelo TA-XR2 (Godalming, Surrey, Reino Unido).

### **3.2. MATERIA PRIMA**

Para llevar a cabo el presente estudio se emplearon como materia prima lomos de cerdo enteros adquiridos en un supermercado de la ciudad de Valencia. Una vez adquirida la materia prima, fue trasladada inmediatamente al laboratorio bajo condiciones de refrigeración y almacenada a 4 °C hasta el inicio de las experiencias.

El estudio se dividió en dos fases, en una primera etapa se emplearon 9 porciones de lomo de cerdo con un peso medio de  $1012 \pm 207$  g, mientras que en la siguiente fase del trabajo se emplearon lomos enteros con un peso medio de  $3944 \text{ g} \pm 530$  g. Para la caracterización fisicoquímica de la materia prima, se tomaron muestras representativas de cada uno de los lomos para analizar su contenido en humedad y pH.

La transglutaminasa microbiana utilizada en los estudios fue Probind® MB 1.0 proporcionada por BDF Ingredients (Girona, España). La formulación de Probind® MB 1.0 además de la enzima transglutaminasa contiene caseinato sódico, maltodextrina y aceite de girasol. La actividad enzimática de esta formulación está comprendida en un intervalo de 40-65 unidades/g. El cloruro sódico (NaCl) fue suministrado por Scharlab S.L. (Barcelona, España). El trifosfato de sodio (STP,  $\text{Na}_5\text{P}_3\text{O}_{10}$ ) y el cloruro potásico (KCl) fueron suministrados por Panreac Química S.L.U. (Barcelona, España). El lactato potásico (K-lactato) fue suministrado por Purac Biochem (Gornichem, Holanda), estando éste diluido en una solución al 78% (p/v). Los agentes de curado utilizados, nitrato potásico ( $\text{KNO}_3$ ) y nitrito sódico ( $\text{NaNO}_2$ ) fueron suministrados por VWR Ltd. (Leuven, Bélgica).

### **3.3. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA**

El presente trabajo se estructura en dos etapas, en una primera fase se evaluó la influencia de distintas concentraciones de transglutaminasa y de distintas sales con el objetivo de seleccionar la cantidad de enzima más adecuada para obtener un producto reconstituido que pudiera ser utilizado como materia prima en el proceso de curado. En la siguiente fase del

trabajo se estudió el efecto de la sustitución parcial de sodio sobre las características del producto reestructurado de lomo curado empleando la enzima transglutaminasa

### Fase I: Selección de las formulaciones

En primer lugar, cada porción de lomo se limpió de tejido conectivo y troceó en cubos de 1,5 cm de cada lado. Para facilitar el corte de las piezas, el lomo se congeló parcialmente en un arcón congelador a -18 °C durante aproximadamente 90 min antes de su manipulación. Tras este periodo, los lomos se cortaron en lonchas de 1,5 cm de grosor empleando una cortadora eléctrica. A continuación, cada una de estas lonchas de carne, se troceó para obtener las porciones cúbicas de las dimensiones anteriormente citadas.

Una vez obtenidos los cubos de carne, se pesaron en una balanza analítica aproximadamente unos 400 g de carne (cubos de carne) y la cantidad exacta de los ingredientes a añadir en función de la formulación seleccionada (tabla 3.1.). Los ingredientes empleados en las formulaciones fueron la enzima transglutaminasa (TG) en forma de polvo, el fosfato sódico (STP), las distintas sales (NaCl, KCl y lactato de K) así como la cantidad de agua necesaria. La cantidad de STP y las sales empleadas en este trabajo se establecieron a partir de trabajos anteriores (Dietze, 2015).

Tabla 3.1. Formulaciones empleadas en el proceso de elaboración del lomo. Concentración de los ingredientes expresados como g del ingrediente por 100 g de producto final.

	Formulación	TG (%)	STP (%)	Agua (%)	Sal (%)	Composición de la sal (%)		
						NaCl	KCl	K-lactato
<b>Serie 1</b>	I	1	0,3	5	2	100	-	-
	II	1	0,3	5	2	60	40	-
	III	1	0,3	5	2	70	-	30
<b>Serie 2</b>	I	1,25	0,3	5	2	100	-	-
	II	1,25	0,3	5	2	60	40	-
	III	1,25	0,3	5	2	70	-	30
<b>Serie 3</b>	I	1,5	0,3	5	2	100	-	-
	II	1,5	0,3	5	2	60	40	-
	III	1,5	0,3	5	2	70	-	30

Tras disponer de todos los ingredientes se procedió a su mezcla, para ello, se introdujeron los cubos de carne junto con la sal, el fosfato y el agua en una mezcladora para distribuir todos los compuestos homogéneamente en la carne durante 4 min en movimiento. Tras este periodo se añadió la enzima transglutaminasa y homogeneizó otros 4 min.

Una vez homogeneizados todos los componentes, la mezcla se introdujo en bolsas de plástico que se envasaron a vacío y almacenaron en refrigeración a 4°C durante 48 h, tiempo establecido para la completa actuación de la enzima. Después del periodo de refrigeración, se extrajeron las muestras de carne de las bolsas y se observó visualmente el ligado de los cubos. Finalmente, las muestras se pesaron, para establecer la pérdida de peso del producto reestructurado, y se prepararon para la realización de los análisis fisicoquímicos correspondientes.

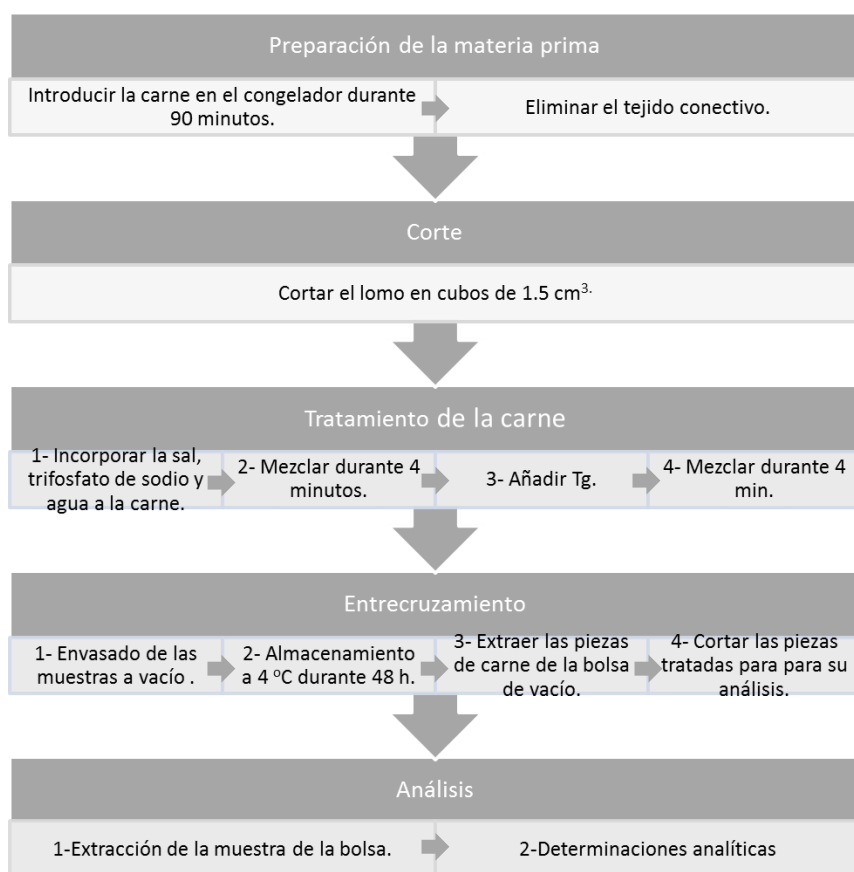


Figura 3.1. Esquema del proceso de elaboración de las muestras de lomo en la fase I del estudio

## **Fase II: Elaboración del producto reestructurado curado**

En esta fase del trabajo la preparación de los cubos de carne y dosificación de cada uno de los ingredientes de la mezcla se realizó de manera análoga a lo descrito anteriormente en la fase I. Las formulaciones empleadas fueron las seleccionadas en función de los resultados obtenidos en la fase anterior. Se emplearon aquellas formulaciones donde se consiguió una mejor conexión de las piezas y por tanto, un producto adecuado que pueda ser utilizado como materia prima en el proceso de curado.

En este caso, se adicionaron además en cada una de las formulaciones sales de curado,  $\text{NaNO}_2$  y  $\text{KNO}_3$ , necesarias para garantizar la estabilidad microbiológica del producto durante el proceso de curado y conseguir las características sensoriales adecuadas. La dosis empleada de cada una de estas sales nitrificantes fue de 150 ppm (mg  $\text{NaNO}_2$  y  $\text{KNO}_3$  por kg carne fresca).

Una vez realizada la mezcla de los ingredientes, se embutieron las muestras manualmente utilizando una tripa sintética que había sido acondicionada en una solución de agua con sal. La tripa se pesó antes y después del acondicionamiento, así como el hilo utilizado para cerrar las muestras. Se ató la tripa por un extremo y se introdujeron los cubos en el interior de ésta. Se utilizó un cilindro de plástico a modo de boquilla, y se presionaron los cubos tanto como fue posible para evitar burbujas de aire dentro del embutido. Una vez introducidos todos los cubos en la tripa, ésta se cerró con hilo y se pesó el lomo embutido para obtener su masa inicial.

Preparadas todas las muestras, se llevaron a la cámara de refrigeración donde se mantuvieron el tiempo necesario para la actuación de la enzima ( $4^\circ\text{C} / 48\text{h}$ ). A continuación, las muestras se introdujeron en una cámara de secado donde llevó a cabo el proceso de secado-curado. En esta cámara las piezas de lomo se colgaron utilizando ganchos y fueron pesadas periódicamente con el objeto de registrar la pérdida de peso del producto durante todo el proceso. En la primera etapa de curado o madurado la humedad relativa y la temperatura inicial de la cámara fueron del 80 % HR y  $8^\circ\text{C}$  durante 26 días. Transcurrido este tiempo, se cambiaron las condiciones de la cámara a una humedad relativa del 70%, aumentando la temperatura a  $12^\circ\text{C}$ . Por último, el día 42 de procesado, la humedad relativa se descendió al 65%, manteniendo estas condiciones hasta que las piezas registraron una pérdida de peso del 46%, respecto al peso inicial de las mismas.

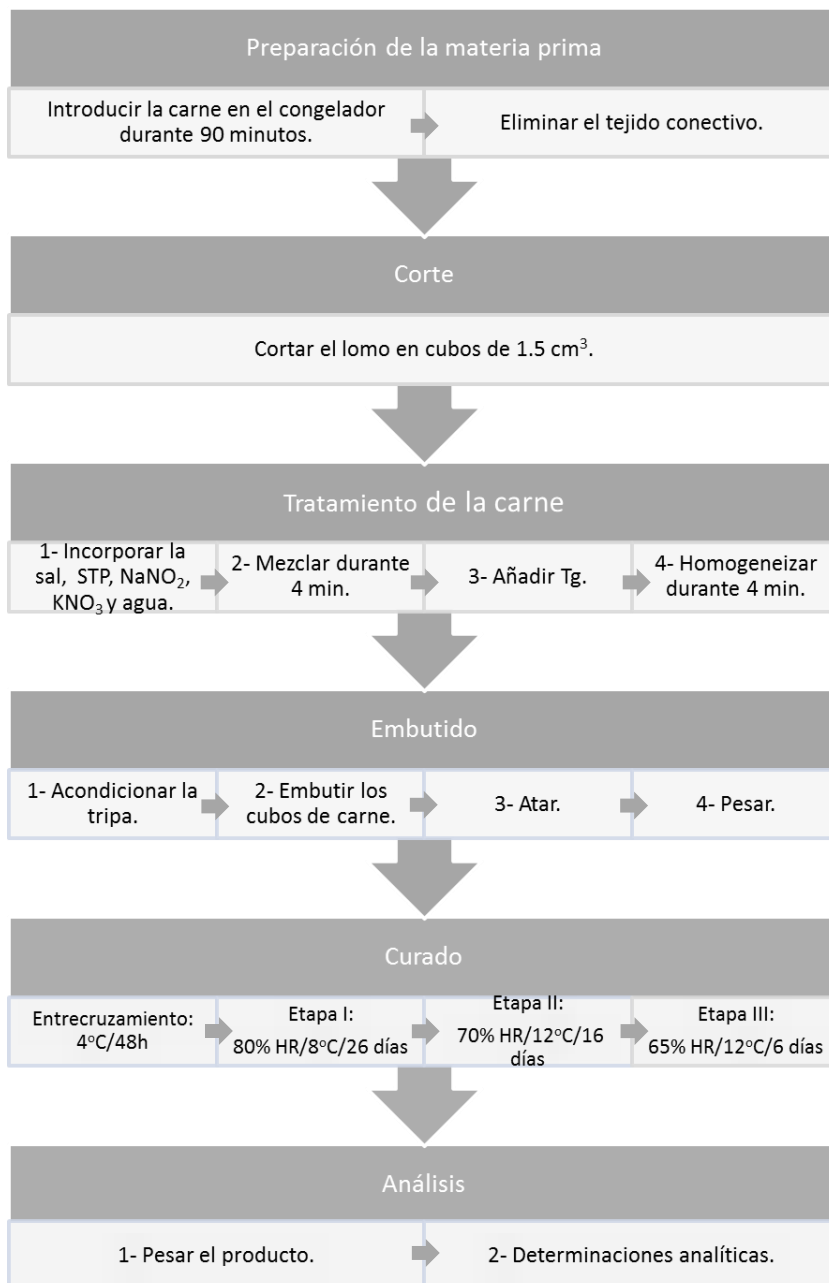


Figura 3.2. Esquema del proceso de elaboración de las muestras de lomo en la fase II del estudio

### 3.4. DETERMINACIONES ANALÍTICAS

#### 3.4.1. Humedad

La determinación de humedad se realizó según el método de la AOAC 950.46 (1997). Se añadieron aproximadamente 10 g de arena de mar junto a la varilla de cristal al pesasustancias, se secaron en estufa (J.P. Selecta, S. A., Barcelona, España) a  $103 \pm 2$  °C durante 24 h. Posteriormente, tras atemperar en un desecador, los pesasustancias se pesaron en una balanza analítica ( $m_0$ ). Se trituraron las muestras, y se añadieron 5 g en cada pesasustancias, pesándose a continuación el contenido de nuevo en una balanza analítica ( $m_1$ ). Se homogeneizó la muestra junto con la arena de mar con la ayuda de la varilla de cristal, para facilitar la salida total del agua. Se introdujeron los pesasustancias en la estufa a una temperatura de  $103 \pm 2$  °C durante 24 h. Tras este periodo, se extrajeron, atemperaron y pesaron de nuevo en la balanza analítica ( $m_2$ ).

El porcentaje de humedad de la muestra se obtuvo mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ humedad} = \frac{m_1 - m_2}{m_1 - m_0} \cdot 100$$

donde:

$m_0$  = masa del pesasustancias con arena y varilla (g).

$m_1$  = masa del pesasustancias con arena, varilla y muestra antes de la desecación (g).

$m_2$  = masa del pesasustancias con arena, varilla y muestra después de la desecación (g).

#### 3.4.2. pH

Para la determinación del pH se empleó un pHmetro Crison micropH 2001 (Crison Instruments S.A, Alella, Barcelona, España) con un electrodo de punción acoplado. Se tomaron 6 lecturas



de cada muestra en distintos puntos. A partir de estas lecturas se obtuvo el pH promedio de cada muestra.

### 3.4.3. Contenido en cloruro

La determinación del contenido de cloruro en las muestras de carne se llevó a cabo homogeneizando 2 g de muestra en agua destilada mediante el uso de un homogeneizador Ultra-turrax T-25 (IKA-Labortechnik, Staufen, Alemania). Posteriormente la disolución se enrasó con agua destilada hasta los 100 mL (V) y se centrifugó 10 min a 2000 rpm. A continuación, se filtró el sobrenadante, y se tomó una alícuota de 500 µL que se valoró en el analizador automático de cloruros (Sherwood Scientific Ltd., Cambridge, UK).

A partir del valor que proporciona el equipo (mg Cl<sup>-</sup>/L), se procedió al cálculo de la concentración de cloruro en las muestras mediante la siguiente ecuación:

$$\text{g Cl}^- / \text{g de muestra} = \frac{\text{Lectura} \cdot V}{m \cdot 10^3}$$

donde:

Lectura = valor dado por el equipo (mg Cl<sup>-</sup>/L).

V = volumen de la disolución (L).

m = masa de la muestra (g).

### 3.4.4. Actividad de agua (a<sub>w</sub>)

La actividad de agua (a<sub>w</sub>) se determinó a partir de las muestras previamente trituradas. Para esta determinación se empleó un higrómetro de punto de rocío Aqualab<sup>®</sup> CX-2 (Decagon Devices Inc., Pullman, WA, USA).

### **3.4.5. Propiedades mecánicas**

Para caracterizar las propiedades texturales de las muestras se emplearon tres ensayos diferentes, un ensayo de corte (Slice Shear Force, SSF), un ensayo de tensión (Tensile Test, TT) y un ensayo de doble compresión (Texture Profile Analysis, TPA). Para todos estos ensayos se utilizó una prensa universal TA-XT2<sup>®</sup> (Stable Micro Systems, Godalming, Surrey, UK), con una célula de carga de 250 N. Los datos instrumentales se procesaron empleando el programa Texture Exponent 32 v.1.0 (Stable Micro Systems).

#### ***Ensayo de corte (Slice Shear Force, SSF)***

Para la realización del ensayo de corte, las muestras se obtuvieron de la zona central de cada lomo y se procesaron para obtener porciones de dimensiones de 6 x 2 x 2 cm cada una.

Las porciones se colocaron transversalmente a la célula de corte Warner Bratzler (HDP/BS, ANAME). El equipo se programó a una velocidad de descenso de la cuchilla de 100 mm/min. La curva obtenida tras este ensayo nos permite conocer la fuerza máxima de corte ( $F_{max}$ ) de cada muestra.

#### ***Ensayo de tensión (Tensile Test, TT)***

Para este ensayo las muestras se situaron en una célula que consta de dos tenazas que sujetan la muestra por los dos extremos. La tenaza superior se programó para que ascendiera a una velocidad de 1 mm/s, hasta producir la rotura de la muestra.

Para este ensayo, las muestras se cortaron en forma de ‘probeta’ (Figura 3.4). Para dar esta forma se cortaron tiras de carne, a las que se les dio forma empleando un bisturí para mayor precisión y evitando manipular la muestra en exceso. Mediante el estudio de la curva que proporciona este ensayo es posible medir la fuerza máxima de tensión sin rotura ( $F_{max}$ ) de la muestra.

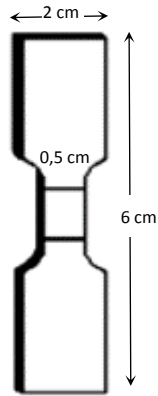


Figura 3.3. Esquema de la muestra empleada en los ensayos de tensión.

#### ***Análisis de doble compresión (Texture Profile Analysis, TPA)***

El ensayo de TPA tiene como finalidad simular el movimiento de una mandíbula durante la masticación. Para ello, se empleó un émbolo plano y circular (P/75, ANAME) de 7,5 cm de diámetro que mediante el cual se comprimió la muestra dos veces hasta el 50% de su altura, a una velocidad constante de 0,8 mm/s. Para este ensayo, las muestras se cortaron en cubos de dimensiones de 2 x 2 x 2 cm.

Durante el ensayo el equipo registra la fuerza necesaria para comprimir la muestra bajo las condiciones establecidas y la representación de estos valores da lugar a un curva fuerza/desplazamiento. El análisis de las curvas fuerza/desplazamiento dadas para este ensayo permitió obtener los parámetros de dureza, adhesividad, elasticidad, cohesividad y masticabilidad de las muestras (figura 3.3.).

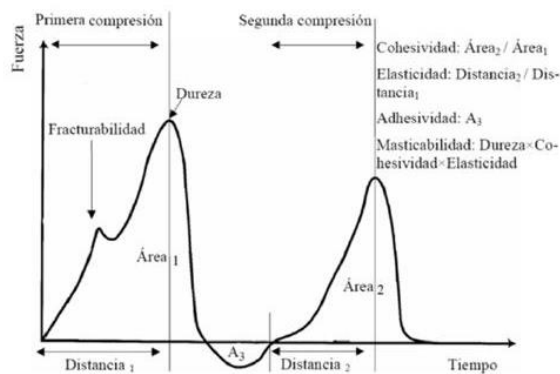


Figura 3.4. Ejemplo de una curva fuerza/desplazamiento durante el ensayo de TPA.

### 3.4.6. Análisis microbiológicos

Para llevar a cabo los análisis microbiológicos, se tomaron muestras del producto, a partir de las cuales se prepararon diluciones decimales, tal y como se describe en la Norma UNE EN-ISO 6887-3 (AENOR, 2004). El recuento de microorganismos aerobios mesófilos se realizó según la Norma UNE-EN ISO 4833 (AENOR, 2003), mediante siembra en Agar Plate Count (PCA) después de 72 h de incubación a  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ . El recuento de enterobacterias se llevó a cabo mediante siembra en doble capa en Agar Violeta Rojo Bilis Glucosa (VRBG, Scharlau), y las placas fueron incubadas a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 18-24 h (Pascual & Calderón, 2000). El recuento de bacterias del ácido láctico se llevó a cabo mediante siembra en doble capa en Agar de Man, Rogosa y Sharpe (MRS, Scharlau) y las placas se incubaron a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 48 h (ISO, 1998).

### 3.4.7. Análisis sensorial

Tras el proceso de reestructurado y curado se evaluó la apariencia, textura y aroma de las muestras de lomo. Las muestras fueron evaluadas por un panel compuesto por 9 catadores entrenados (6 mujeres y 3 hombres). La selección, entrenamiento y control de los catadores fueron llevados a cabo considerando los criterios establecidos en la norma ISO 8586:2012 (AENOR, 2014).

Se llevaron diferentes sesiones para la definición y consenso de los atributos sensoriales a evaluar, así como para el entrenamiento en el reconocimiento y evaluación de estos atributos empleando escalas adecuadas para cada uno de los atributos seleccionados. En estas sesiones de entrenamiento se emplearon diferentes muestras comerciales así como algunas muestras procesadas en el laboratorio.

En las primeras sesiones, los catadores consensuaron y seleccionaron los atributos más representativos del producto a evaluar. La selección inicial de estos atributos se realizó a partir de la nomenclatura establecida en otros estudios llevados a cabo, para el análisis de otros productos curados de cerdo (IRTA, 2006; Sanchez, 2005).

En las pruebas realizadas con las muestras definitivas, estas fueron presentadas a los catadores en porciones de 2 x 2 cm, obtenidas de la zona central de las lonchas de lomo de 2 mm de espesor. Las muestras fueron presentadas a los catadores por separado, codificadas con números aleatorios de tres cifras y en orden aleatorio.

En cada prueba, se realizó un **Análisis Cuantitativo Descriptivo (QDA)** para evaluar el aspecto (apariencia), textura y aroma de las muestras del producto curado. La valoración de los descriptores se efectuó empleando una escala no estructura de 10 cm, donde los extremos indicaban la ausencia del atributo evaluado y la máxima manifestación del mismo. La ficha de análisis empleada en esta evaluación se muestra en el anexo I.

### **3.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa Statgraphics Centurion XVI (StatPoint Technologies Inc., USA). En la fase I del trabajo se empleó un análisis multifactorial de la varianza (ANOVA multifactor) considerando como variables cada uno de los parámetros fisicoquímicos analizados y como factores la cantidad de enzima utilizada y el tipo de sal, así como la interacción entre ambos factores. En la fase II, mediante un análisis simple de la varianza (ANOVA simple) se comprobó la existencia de diferencias significativas entre las muestras de lomo procesadas con las diferentes sales respecto a sus parámetros fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales. En ambos casos se utilizó un nivel de significación  $\alpha=0.05$  en el procedimiento LSD (*Least Significant Difference*).

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA

Los valores obtenidos en la caracterización de la materia prima empleada en los ensayos realizados en la fase I (serie I: 1% TG, serie II: 1,25% TG y serie III: 1,5 TG) se muestran en la tabla 4.1.

Tabla 4.1. Valores de humedad y pH obtenidos en la caracterización del lomo fresco empleado como materia prima (n=3).

	Serie I	Serie II	Serie III	a
Humedad (g/100g)	74,85 ± 0,39 <sup>a</sup>	74,78 ± 0,65 <sup>a</sup>	73,37 ± 1,17 <sup>b</sup>	*
pH	5,64 ± 0,16	5,61 ± 0,09	5,60 ± 0,23	ns

Los valores de humedad y pH coinciden con los valores habituales para este tipo de carne. El lomo de cerdo presenta habitualmente valores de humedad altos, cercanos al 73-74% (Hayes et al., 2006; Hernandez et al., 1999) y un contenido en grasa bajo, próximo al 1%, comparado con la carne procedente de otras zonas del animal. Sin embargo, hay que considerar que estos valores pueden variar dependiendo de la especie, sistema de cría, alimentación, la época del año, temperatura del medio donde se desarrolla, etc (Omana et al., 20014, Lebret, 2008).

Respecto a los valores de pH de la carne empleada en el presente estudio, es interesante destacar que ésta presentó valores alrededor de 5,6, dentro del rango de pH óptimo (5-8) para la actividad de la enzima transglutaminasa. Algunos autores han documentado también que esta enzima presenta actividad a pH de 4 y 8 (Ando et al., 2010; Ando et al., 1989).

Además, hay que señalar que el pH post-mortem de la carne es un parámetro especialmente importante para garantizar la calidad del producto curado, ya que este parámetro está directamente asociado a la capacidad de retención de agua del músculo y por tanto, afecta de manera importante a la pérdida de peso en forma de exudado durante su conservación y procesado posterior. En este sentido, carnes con valores muy bajos de pH (inferiores a 5.4), lo que se conoce como carnes PSE (carne pálida, blanda y exudativa), se deterioran rápidamente y dan lugar a productos de una calidad muy baja calidad (Bee et al., 2007; Cannata et al., 2010). Los productores recomiendan valores de pH (a las 24 h post-mortem) entre 5.5 y 6.1 (Lesiów &

Xiong, 2013), por lo que puede considerarse que todos los lomos empleados en el presente trabajo presentaron unos valores adecuados respecto a este parámetro.

## **4.2. FASE I: OPTIMIZACIÓN DE LAS FORMULACIONES**

En la primera fase del trabajo se llevaron a cabo diferentes pruebas con el objetivo de establecer cuáles eran las formulaciones más adecuadas para conseguir la óptima unión de las porciones de carne, y por tanto, formar una única pieza que sería utilizada como materia prima en el proceso de curado. En esta fase de trabajo se ensayaron, para cada una de las sales de estudio (NaCl, NaCl:KCl y NaCl:K-lactato), diferentes concentraciones de la enzima (1, 1,25 y 1,5%), con el objeto de seleccionar la cantidad de enzima necesaria para unir la piezas en función del tipo de sal utilizada. La selección de las mezclas de sales, la cantidad de sal utilizada y los diferentes niveles de concentración de enzima se establecieron a partir de los resultados obtenidos en estudios previos (Dietze, 2015).

Todas las muestras se procesaron siguiendo el mismo procedimiento, manteniendo las mismas condiciones de procesado y respetando el tiempo de reacción de la enzima (apartado 3.3, Fase I). Una vez finalizado el proceso, las muestras fueron analizadas para determinar los valores de humedad, pH, contenido en cloruros,  $a_w$  y propiedades mecánicas. Los valores obtenidos en estas determinaciones se muestran a continuación (figuras 4.1-4.11) y los resultados obtenidos en el análisis estadístico se detallan en el anexo II.

La humedad de las piezas de carne fue similar o ligeramente inferior a los valores obtenidos en la materia prima de partida. En este sentido, es interesante destacar que una vez finalizado el tiempo de reacción, tras la apertura de los envases, se observó cierta pérdida de agua en forma de gelatina que quedó adherida a las bolsas donde se envasaron las porciones de carne. Sin embargo, estas pérdidas no provocaron una reducción significativa de humedad inicial debido a la incorporación de agua en la formulación, tal y como venía indicado por el suministrador de la enzima.

La concentración de enzima y el tipo de sal afectaron significativamente a la humedad de las piezas de lomo ( $p < 0,001$ ), de manera que los valores de humedad más bajos se observaron para las piezas procesadas con una concentración de enzima mayor, independientemente del tipo de sal utilizada. El tipo de sal también afectó significativamente a la humedad de las piezas, las muestras procesadas con 100% de NaCl fueron las que menores valores de humedad

registraron tras el tiempo de reacción seguidas por la mezcla NaCl:KCl por las procesadas con la mezcla que contenía K-lactato. Este hecho ha sido observado en diferentes estudios y podría ser debido a que la penetración de las mezclas que contienen KCl es más rápida y por tanto dificultarían la salida de agua desde el interior de la carne (Aliño et al., 2010).

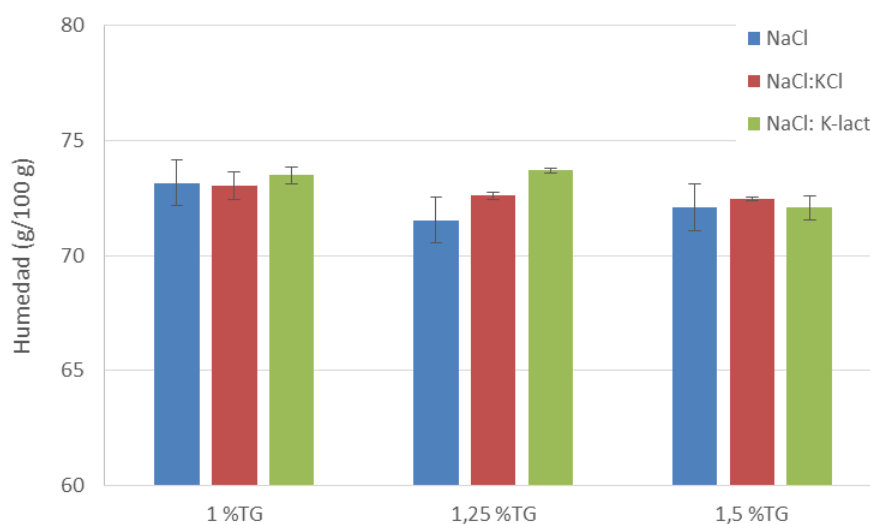


Figura 4.1. Valores de humedad en las piezas de lomo reesruturado empleando diferentes concentraciones de transglutaminasa (1, 1.25 y 1.5% (g enzima/100 g de carne fresca) y formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).

Respecto a los valores de pH, indicar que las diferencias más importantes fueron las encontradas en función de la concentración de enzima utilizada (F-ratio=32,29,  $p < 0,001$ ). Los valores de pH fueron más bajos cuanto mayor fue la cantidad de transglutaminasa empleada para ligar las porciones de carne. Estas diferencias podrían estar condicionadas por la reducción en los valores de humedad que provocaría un aumento en la concentración de iones  $\text{Cl}^-$  en el interior del producto y aumentando la carga iónica negativa de las proteínas. Se encontraron también ciertas diferencias respecto al tipo de sal empleada (F-ratio=32,29,  $p < 0,001$ ).



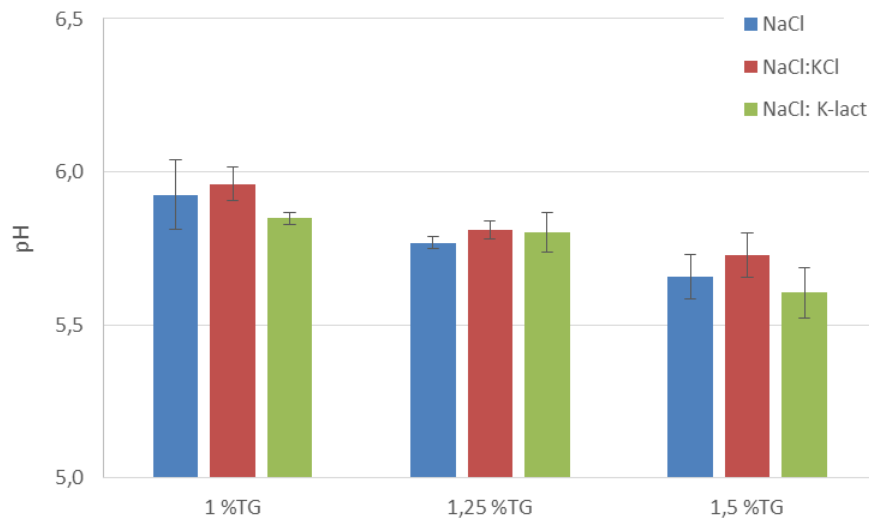


Figura 4.2. Valores de pH en las piezas de lomo reesruturado empleando diferentes concentraciones de transglutaminasa (1, 1.25 y 1.5% (g enzima/100 g de carne fresca) y formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).

Las diferencias en los valores de humedad así como la diferente capacidad de cada una de las sales para penetrar en el músculo serían las responsables de las diferencias observadas en los valores de  $a_w$  entre las muestras. En este sentido, se observaron diferencias significativas en función de la cantidad de enzima y del tipo de sal ( $P < 0,001$ ).

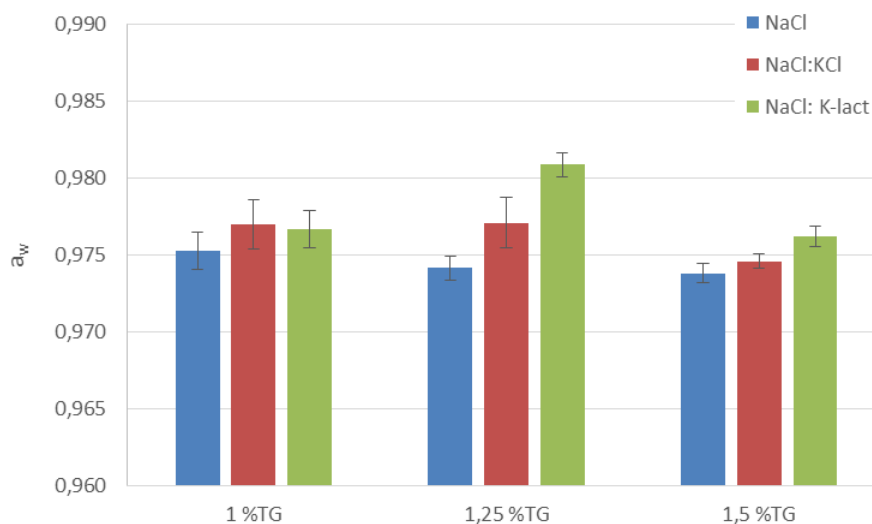


Figura 4.3. Valores de actividad del agua ( $a_w$ ) en las piezas de lomo reesruturado empleando diferentes concentraciones de transglutaminasa (1, 1.25 y 1.5% (g enzima/100 g de carne fresca) y formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).

Se encontraron también diferencias significativas entre las diferentes formulaciones, tanto la cantidad de enzima como el tipo de sal tuvieron efecto en la concentración de iones cloruro determinados en las muestras (. Estas diferencias coinciden con lo que cabría esperar debido a la diferente composición de las sales y su distinta capacidad para penetrar en el músculo.

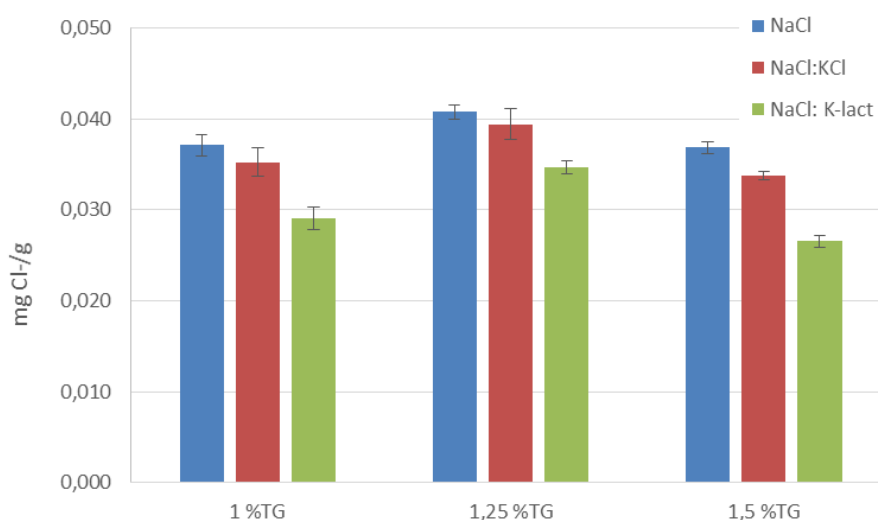


Figura 4.4. Valores de actividad del agua ( $a_w$ ) en las piezas de lomo reesruturado empleando diferentes concentraciones de transglutaminasa (1, 1.25 y 1.5% (g enzima/100 g de carne fresca) y formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).

Con el objeto de evaluar la unión de las porciones se carne tras el periodo de acción de la enzima se realizaron diferentes pruebas mecánicas, en este sentido se llevaron a cabo ensayos de corte, pruebas de tensión y análisis de doble compresión o TPA.

Se encontraron diferencias en función de la cantidad de enzima empleada para la unión de las piezas y del tipo de sal. Las muestras procesadas con la mayor cantidad de transglutaminasa dieron lugar a un valor de fuera de corte significativamente superior al resto, no encontrándose diferencias significativas entre las concentraciones de 1 y 1,25% de enzima.

Colmenero et al. (2003) emplearon el ensayo de corte para establecer si la incorporación la enzima transglutaminasa junto con fibra de nuez era capaz de mejorar la unión de porciones de carne de ternera para elaborar filetes. Estos autores encontraron dificultades en el manejo de la carne fresca durante la realización del ensayo, de forma que determinaron que este ensayo no fue adecuado para determinar pequeñas diferencias entre las muestras.

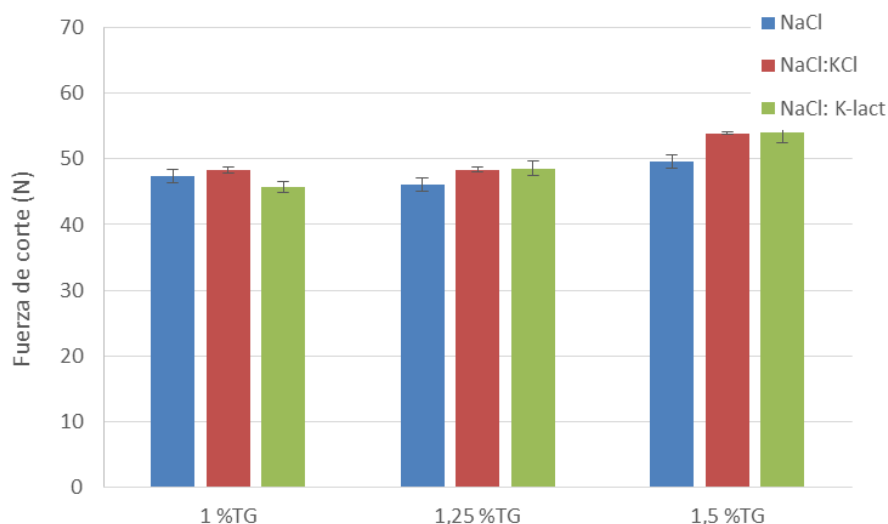


Figura 4.5. Valores de la fuerza máxima de corte (N) de las piezas de lomo reesruturado empleando diferentes concentraciones de transglutaminasa (1, 1.25 y 1.5% (g enzima/100 g de carne fresca) y formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).

En el ensayo de tensión realizado, no se encontraron diferencias respecto al tipo de sal utilizada; sin embargo, la concentración de enzima afectó significativamente a la fuerza de unión de la pieza de lomo ( $p < 0,001$ ). En este sentido, cuanto mayor fue la cantidad de enzima empleada en la preparación de la muestra, mayor fue la energía necesaria para separar las porciones de carne. El aumento de la cantidad de enzima empleada en el tratamiento de la muestra desde un 1% hasta el 1,5% consiguió triplicar el valor de fuerza requerido.

Los valores obtenidos en la formulación con el 1,5% de enzima son del orden de los observados por Romero de Ávila et al. (2010) en la preparación de un producto reestructurado de jamón de cerdo. Estos autores evaluaron el efecto de diferentes factores como el modo de aplicación de la enzima, el uso de diferentes sales, la temperatura de tratamiento o el sistema de envasado sobre la capacidad de la transglutaminasa microbiana para conseguir la unión de carne fresca de cerdo. En el este estudio, los autores establecieron que se conseguía una buena unión cuando se incorporaban distintas sales junto a la enzima; además, el uso de NaCl,  $KNO_3$  y  $NaNO_2$  consiguió mejorar el ligado de las piezas, en este sentido el uso del envasado a vacío también favoreció la unión de carne. Nuestros resultados junto con los obtenidos en estos estudios nos indicarían que la selección de las condiciones de procesado fueron las adecuadas. En el trabajo de Romero de Ávila et al. (2010) se encontró que el empleo de temperaturas próximas a 0 °C ralentizó la actividad enzimática, no encontrando diferencias en

la actividad a los 7 y 24 °C. Otros autores (Kuraishi et al., 1997) establecieron un tiempo 5 h para conseguir la máxima fuerza de unión en las piezas de carne a 5°C empleado transglutaminasa microbiana. En nuestro trabajo, las muestras se mantuvieron a 4 °C con el objetivo de garantizar la estabilidad microbiológica de las muestras, por ello se puede considerar que el tiempo de reacción de 48 h es el suficiente para conseguir la completa actuación de la enzima.

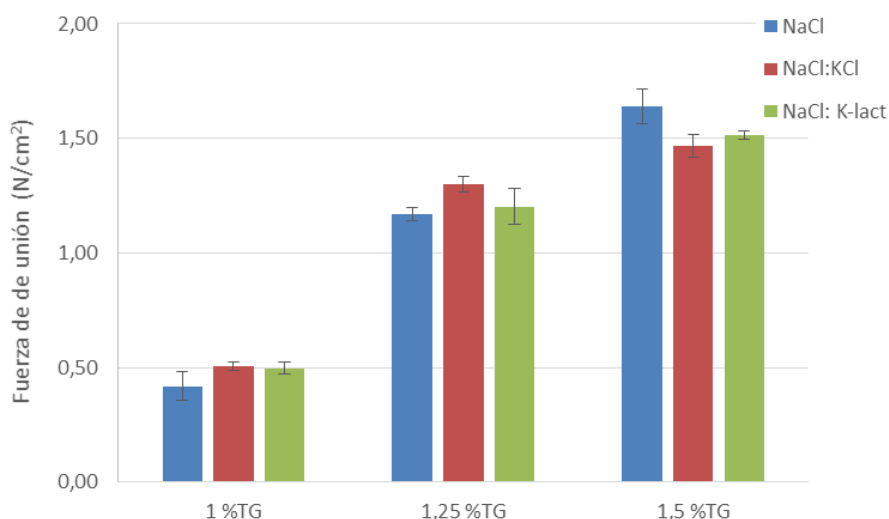


Figura 4.6. Valores de la fuerza de unión ( $N/cm^2$ ) de las piezas de lomo reesruturado empleando diferentes concentraciones de transglutaminasa (1, 1.25 y 1.5% (g enzima/100 g de carne fresca) y formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).

A partir de las curvas generadas en el ensayo de TPA o doble compresión se calcularon los parámetros de dureza, adhesividad, elasticidad, masticabilidad y cohesividad,. Las figuras 4.7-4.11 muestran los valores obtenidos para cada uno de estos parámetros en función de la concentración de enzima y tipo de sal. El tipo de sal empleada en el proceso de unión no influyó en ninguno de estos parámetros; sin embargo, la concentración de enzima tuvo un importante efecto sobre los valores de dureza, cohesividad y masticabilidad. En todos estos casos, cuanto mayor fue la concentración de enzima utilizada mayores fueron los valores de estos parámetros.

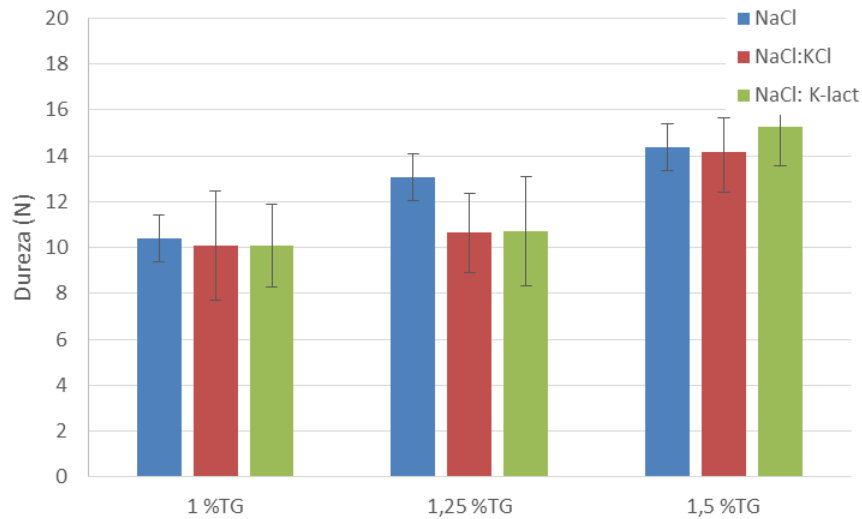


Figura 4.7. Valores de dureza (N) de las piezas de lomo reesruturado empleando diferentes concentraciones de transglutaminasa (1, 1.25 y 1.5% (g enzima/100 g de carne fresca) y formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).

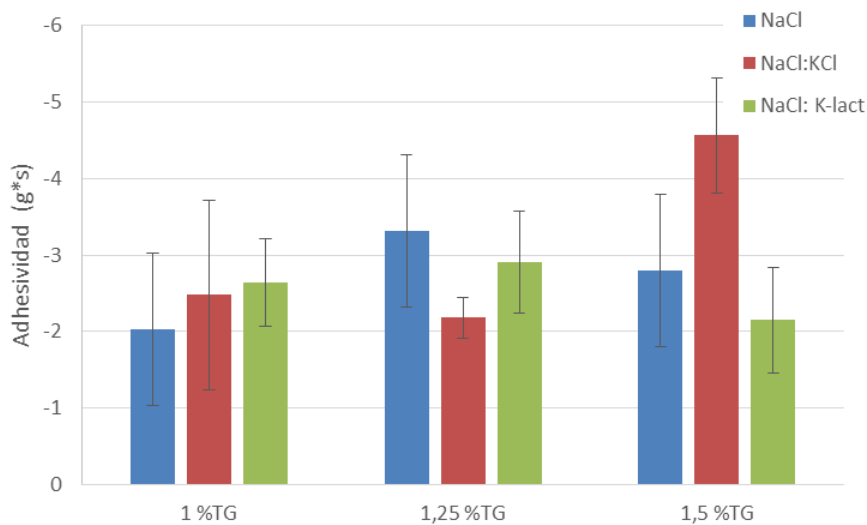


Figura 4.8. Valores de adhesividad (g\*s) de las piezas de lomo reesruturado empleando diferentes concentraciones de transglutaminasa (1, 1.25 y 1.5% (g enzima/100 g de carne fresca) y formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).

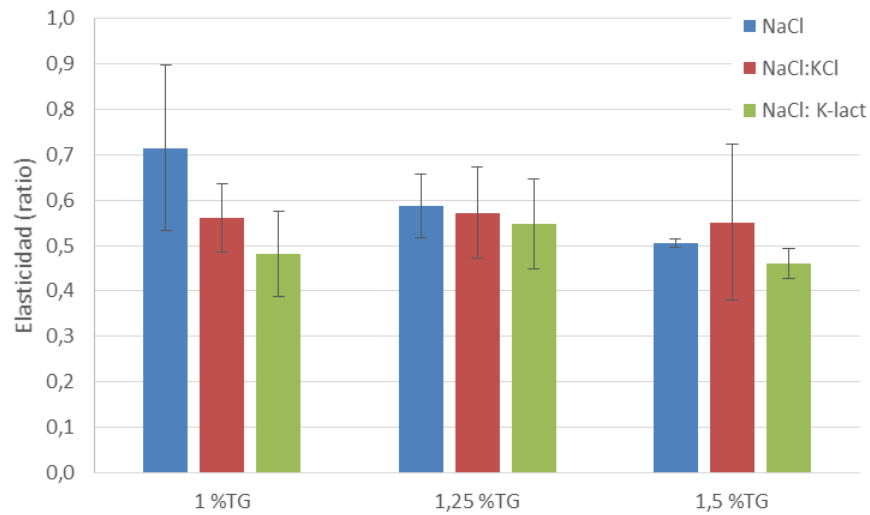


Figura 4.9. Valores de elasticidad de las piezas de lomo reesruturado empleando diferentes concentraciones de transglutaminasa (1, 1.25 y 1.5% (g enzima/100 g de carne fresca) y formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).

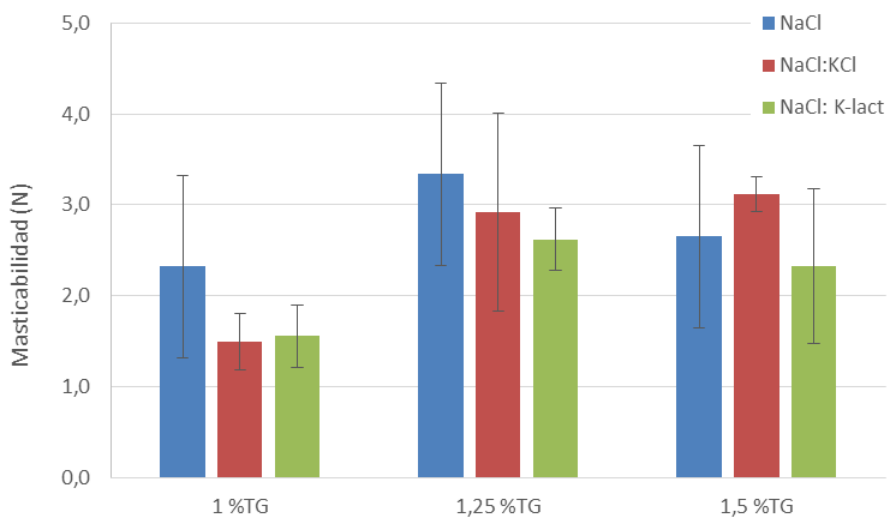


Figura 4.10. Valores de masticabilidad (N) de las piezas de lomo reesruturado empleando diferentes concentraciones de transglutaminasa (1, 1.25 y 1.5% (g enzima/100 g de carne fresca) y formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).

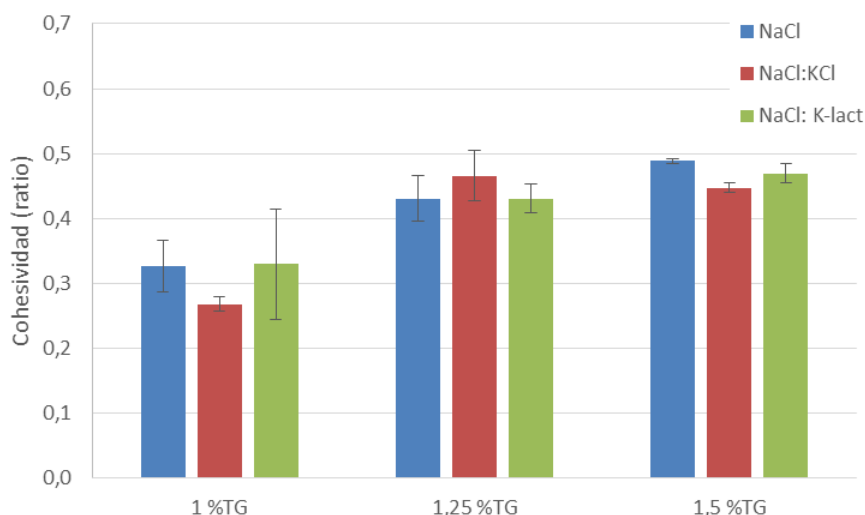


Figura 4.11. Valores de cohesividad de las piezas de lomo reesruturado empleando diferentes concentraciones de transglutaminasa (1, 1.25 y 1.5% (g enzima/100 g de carne fresca) y formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).

Los resultados obtenidos en esta fase del estudio han mostrado que la formulación con el 1,5% de enzima fue la que dio lugar a la mejor unión de las porciones de carne independientemente del tipo de sal utilizada. El tipo de sal empleada tuvo efecto sobre algunos de los parámetros analizados como la humedad, pH y  $a_w$ ; sin embargo, no afectó de manera importante a las propiedades mecánicas de las muestras. Estos resultados indicarían que el uso de una formulación del 1,5% de transglutaminasa independientemente del tipo de sal utilizadas puede ser adecuada para el acondicionamiento de las porciones de lomo que serán utilizadas como materia prima del proceso de curado.

### 4.3. FASE II: DESARROLLO DEL PRODUCTO CURADO

#### 4.3.1. Monitorización de la pérdida de peso durante el proceso de curado

Durante el proceso de curado de las porciones de lomo se pesaron las piezas de lomo periódicamente con el objetivo de determinar la pérdida de peso de las muestras y establecer el final del periodo de secado. Se consideró el final del proceso de secado cuando las porciones de lomo alcanzaron un valor de humedad inferior al 50%, humedad característica de los

lomos curados comerciales (Aliño et al., 2008, 2009). Este valor de humedad de referencia se alcanza cuando las piezas de registran una pérdida de peso del 47 % respecto al peso inicial.

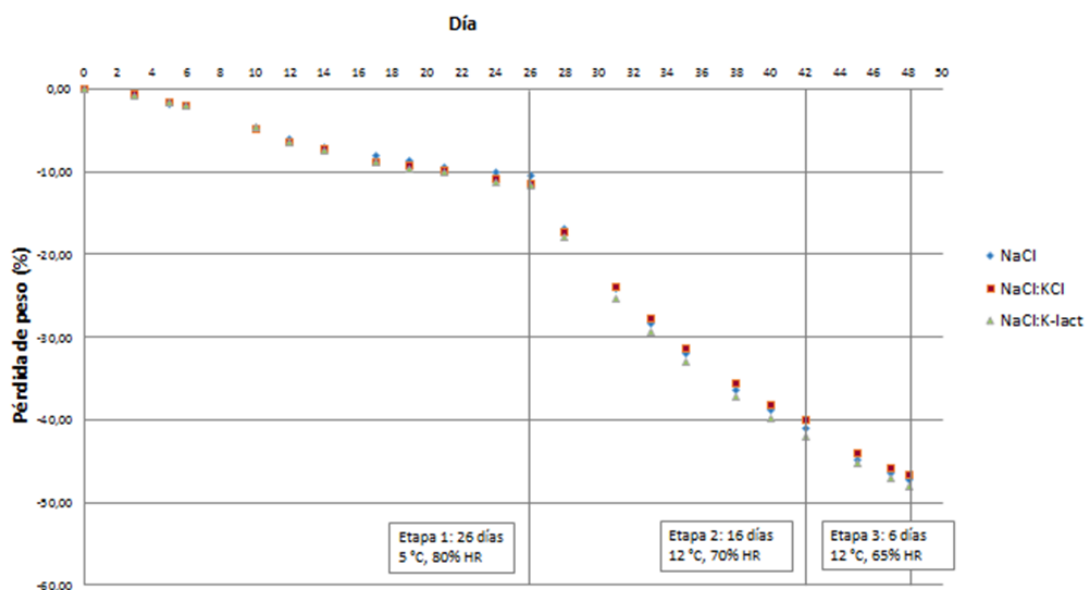


Figura 4.12. Variación de peso de los lomos de cerdo reestructurados durante el proceso de curado (valores promedio de 3 lomos).

#### 4.3.2. Características fisicoquímicas de los productos reestructurados curados

Una vez finalizado el proceso de curado las piezas se analizaron para caracterizar los valores de humedad, pH,  $a_w$  y contenido en cloruros. Los valores promedio de estos parámetros se muestran en la figura 4.13. Los resultados obtenidos en el análisis estadístico de estos resultados se muestran en el anexo III.

El análisis estadístico mostró que no hubieron diferencias significativas entre muestras respecto a los valores de humedad y  $a_w$ , presentando en todos los casos valores próximos a los valores característicos de este mismo tipo de producto procesado mediante los procesos convencionales. Aliño et al. (2009) analizaron diferentes marcas comerciales de lomo curado comerciales; todos los productos analizados presentaron un contenido en humedad situado dentro del rango entre el 45 y el 49%, por lo que el producto desarrollado en el presente estudio podría considerarse, en este sentido, como similar a los productos actualmente comercializados. Los bajos valores de humedad y la incorporación de sal en estos productos consiguieron reducir el valor de  $a_w$  respecto al valor característico de la carne fresca. En este sentido, los productos reestructurados obtenidos en el presente trabajo alcanzaron valores



entre 0,920 y 0,925, ligeramente inferiores a los comerciales, lo cuales presentan valores de  $a_w$  próximos al 0.932. Este es un aspecto especialmente importante si se considera la importante relación que existe entre este parámetro y el crecimiento microbiano.

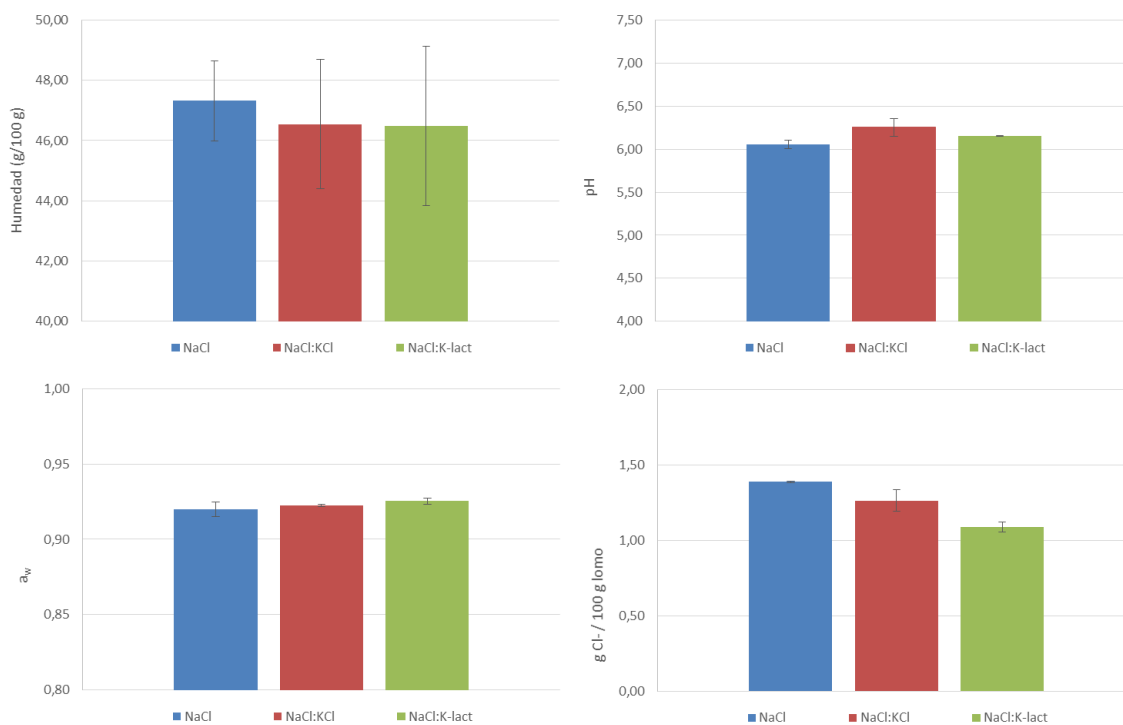


Figura 4.13. Valores de humedad, pH,  $a_w$  y contenido en cloruros en las piezas de lomo curado con diferentes formulaciones de sal (NaCl, NaCl:KCl, NaCl:K-lactato).

El proceso de curado provocó el aumento de los valores de pH desde los valores de la materia prima, próximos a 5,6, hasta alcanzar valores entre 6,0 y 6,2 en los productos curados. El aumento del pH en los productos curados está condicionado por la actividad enzimática que tiene lugar durante el proceso de elaboración de este tipo de productos. La liberación de compuestos alcalinos (moléculas nitrogenadas de bajo peso molecular) a partir de las reacciones proteolíticas que se producen durante todo el proceso de maduración y es la responsable del aumento del pH y de conferir a estos productos sus reconocidas características sensoriales.

Se observaron diferencias significativamente estadísticas respecto a los valores de pH de los lomos procesados empleando las diferentes mezclas de sales ( $p < 0,001$ ). Los lomos sin sustitución de sal fueron los que presentaron valores más bajos de pH. Resultados similares a

los obtenidos en este estudio han sido encontrados en otras investigaciones sobre la sustitución del sodio en diferentes alimentos. En estos estudios que la sustitución de NaCl por otras sales, como el KCl, da lugar a valores de pH más altos que las mismas muestras donde no se produce la sustitución (Fuentes et al., 2012; Gimeno et al., 1999, 2001). Resultados similares han sido observados cuando la reducción de sodio se realiza por sustitución con lactato de potasio (Fulladosa et al., 2009; 2012) Sin embargo, otros autores no han observado diferencias ocasionadas por la sustitución de sal en los productos cárnicos curados como lacón (Lorenzo et al., 2015b) y salami (Zanardi et al., 2010).

Respecto al contenido en cloruro hay que señalar que las diferencias entre muestras vienen marcadas por el uso de las diferentes formulaciones, necesarias para alcanzar la reducción en el contenido en sodio del producto.

Se analizaron también las propiedades mecánicas de las piezas de lomo curado empleando un ensayo de corte y un ensayo de tensión. Estas determinaciones permitirán evaluar la correcta unión de las piezas de carne una vez finalizado el proceso y el producto está listo para su comercialización. Los valores obtenidos en los parámetros dados en estos ensayos se muestran en la figura 4.14. Los resultados obtenidos en el análisis estadístico de estos resultados se muestran en el anexo III.

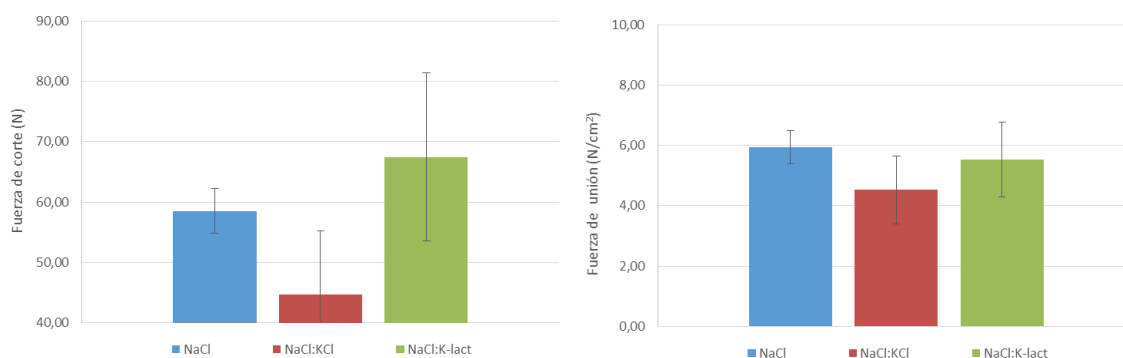


Figura 4.14. Valores de fuerza de corte (N) y fuerza de unión (N/cm<sup>2</sup>) en las piezas de lomo curado con diferentes formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).

El análisis estadístico de los resultados indicó no se encontraron diferencias significativas entre las diferentes muestras respecto la fuerza necesaria para separar las porciones de carne que formaban la pieza completa. Este hecho indicaría que el tipo de sal no influyó en la cohesión de las piezas de carne tras el periodo de curado. Sin embargo, se encontraron diferencias en

función de la fuerza de corte registradas ( $p < 0,5$ ). En este sentido, el producto de lomo procesado con la mezcla que contenía lactato de potasio fue el que requirió una mayor fuerza para realizar el corte, observándose los valores más bajos en el caso de la mezcla con KCl.

### 4.3.3. Calidad microbiológica de los productos reestructurados curados

Los valores de los recuentos de aerobios mesófilos, enterobacterias y bacterias acidolácticas obtenidos en las piezas de lomo una vez finalizado el proceso de curado se muestran en la tabla 4.2.

Tabla 4.2. Recuentos de aerobios mesófilos, bacterias acidolácticas y enterobacterias (log UFC/g) en las muestras de lomo curado con diferentes formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato).

	Aerobios mesófilos	Bacterias acidolácticas	Enterobacterias
NaCl	4,31 ± 0,35	3,56 ± 0,32	Nd
NaCl: KCl	4,72 ± 0,28	3,89 ± 0,63	Nd
NaCl:K-lactato	4,28 ± 0,30	3,39 ± 0,69	Nd
$\alpha$	NS	NS	NS

Los valores obtenidos en estas determinaciones son del orden de los dados por otros autores para lomo curado (Aliño et al., 2009, 2010) y para otros productos curados similares (Blesa et al., 2008; Huerta et al., 1988).

No se encontraron diferencias significativas entre las muestras procesadas empleando las diferentes formulaciones de sal ( $p > 0,05$ ). Aliño et al. (2010) obtuvieron resultados similares en el estudio del efecto de la sustitución de sal por mezclas de sales alternativas al NaCl, empleando KCl,  $MgCl_2$  y  $CaCl_2$  sobre la calidad fisicoquímica y microbiológica de lomo curado. Estos autores encontraron similares recuentos de aerobios mesófilos, bacterias halotolerantes y bacterias acidolácticas independientemente del tipo de sal utilizada durante el proceso. Estos resultados coinciden con los obtenidos por otros autores en otras matrices alimentarias como queso (Reddy & Marth, 1995a, 1995b), salchichas fermentadas (Gelabert et al., 2003) y pescado ahumado (Fuentes et al., 2011), donde la sustitución del NaCl como estrategia para reducir el sodio del producto final no tuvo efecto sobre la calidad microbiológica del alimento.

En ninguna de las muestras analizadas se encontraron recuentos de enterobacterias superiores al límite de detección (2 log UFC/g). Este hecho podría ser atribuido a que las mezclas de sales empleadas no afectan al desarrollo de bacterias halotolerantes y bacterias acidolácticas, cuyo desarrollo se considera necesario para controlar proliferación de ciertos microorganismos alterantes como son las bacterias coliformes (Yamanaka et al., 2005). En estos sentido, los resultados obtenidos en el presente estudio coinciden con los obtenidos en otros trabajos llevados a cabo en lomo y jamón curado (Aliño et al., 2009; Blesa et al., 2008).

Los resultados obtenidos en el presente estudio demuestran que el uso de transglutaminasa en la fase de preparación de la materia prima es adecuado para obtener un producto reestructurado de lomo curado con una calidad higiénica adecuada. Además, estos resultados señalan que la reducción del 40% del sodio del producto empleando KCl y del 30% en el caso de emplear K-lactato es posible sin afectar a la calidad microbiológica del producto.

#### **4.3.4. Evaluación sensorial de los productos reestructurados curados**

Los valores promedio de las puntuaciones que los catadores dieron a cada uno de los atributos sensoriales evaluados para las diferentes muestras de lomo, se han representado en el diagrama radial que se muestra en la figura 4.15. Con el objetivo de estudiar la existencia de diferencias entre los diferentes tipos de muestra, se realizaron diferentes ANOVAs simples para cada uno de los atributos sensoriales evaluados, considerando en cada caso como factores el tipo de muestra (Anexo IV).

No se observaron diferencias significativas en los atributos de intensidad de color (claro/oscura) e intensidad de rojo, cohesividad y pastosidad. Sin embargo, los catadores observaron diferencias entre muestras respecto al resto de atributos.

Respecto a los parámetros empleados en la evaluación del aspecto de las piezas, no se observaron diferencias en los atributos de intensidad de color claro/oscura e intensidad de rojo. Estos resultados coinciden con los dados por Costa-Corredor et al., (2009) en jamón curado, los cuales encontraron que la sustitución parcial del cloruro sódico por lactato de potasio no afectó a la intensidad de color de las muestras. Las muestras de lomo comerciales recibieron puntuaciones significativamente más altas en el parámetro de homogeneidad de color, mientras que las muestras de lomo saladas empleando la mezcla que contenía KCl fueron las que recibieron una puntuación promedio más baja. Los catadores no encontraron diferencias entre las muestras saladas con NaCl y las saladas con la mezcla NaCl:K-lactato,

respecto a su homogeneidad de color, que recibieron una puntuación intermedia entre las muestras anteriores.

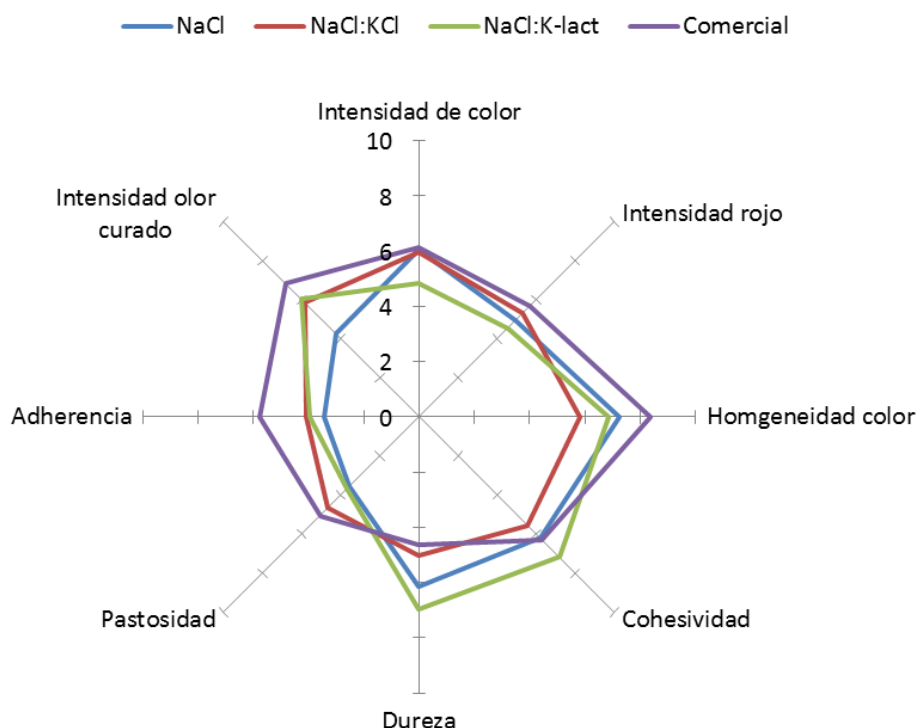


Figura 4.15. Puntuaciones dadas por los catadores para los atributos sensoriales evaluados en las muestras de lomo curado con diferentes formulaciones de sal (NaCl, NaCl:Cl, NaCl:K-lactato) y en las muestras comerciales.

En el caso de los atributos sensoriales que caracterizan la textura del lomo curado, los catadores no encontraron diferencias entre las muestras respecto a su cohesividad y pastosidad; sin embargo, si detectaron diferencias en la intensidad de los atributos de dureza y adherencia. La intensidad de la dureza de las muestras comerciales y las saladas con la mezcla con KCl fue evaluada por los catadores como similar. Estas muestras fueron percibidas como “menos duras” que las muestras procesadas con las otras sales ( $p < 0.001$ ). Respecto a su adhesividad, las muestras comerciales fueron significativamente más adherentes que el resto ( $p < 0.05$ ), mientras que las muestras sin reducción de sodio (NaCl) fueron las que recibieron las puntuaciones más bajas. Estos resultados son contrarios a los obtenidos por Costa-Corredor et al., (2009) en el estudio de jamón curado con bajo contenido en sodio, los cuales encontraron que la reducción de sal en jamón aumentó la percepción sensorial de la adhesividad. Algunos autores han correlacionado los valores de adhesividad de los productos curados con el pH de

la carne empleada como materia prima. En jamón curado, los valores altos de adhesividad se han asociado al uso de carnes con un valor de pH superior a 6.0 (Guerrero et al., 1999), lo que podría ser explicado por el hecho que un pH elevado produce una menor actividad proteolítica. En el presente trabajo la incorporación de la enzima durante el procesado debería haber favorecido la actividad proteolítica y aumentar la adhesividad de la muestra. En este sentido, la adhesividad de las muestras podría venir marcada por otros parámetros como la intensidad de curado, la humedad del producto u otras propiedades no determinadas en el presente trabajo.

En la intensidad de aroma a curado, hay que señalar que las muestras comerciales recibieron una puntuación mayor en este atributo, mientras que las muestras de lomo curado sin sustitución de sal fueron las que recibieron la puntuación más baja. En este caso, las diferencias observadas podrían estar condiciones de curado empleadas, más que por el uso de un tipo de sal u otra o por el empleo de piezas de carne reestructuradas.

A partir de los resultados obtenidos en estas valoraciones, podría considerarse que el uso de una materia prima reestructurada no afecta significativamente al color y algunos de los atributos de textura de las piezas. Únicamente la homogeneidad de color y la dureza podrían verse influenciadas por el uso de esta materia prima. Tal y como cabría esperar, la utilización de una pieza formada a partir de diferentes porciones provocaría que el aspecto del producto final no fuese tan homogéneo como en el caso de utilizar un único músculo como es el lomo entero. Este efecto podría verse incrementado en el caso de utilizar recortes procedentes de diferentes partes del animal, por lo que en estos casos debería ser necesario el picado fino de la materia prima o una selección previa de las porciones utilizadas. El tipo de sal utilizada en cada caso parece afectar a la dureza de las piezas, de forma que las muestras saladas con la mezcla de KCl fueron las consideradas como menos duras mientras que la intensidad de este atributo fue máxima en el caso de las muestras saladas con lactato de potasio. La intensidad del aroma fue máxima en las muestras comerciales lo que indica la necesidad de optimizar la etapa de curado para potenciar el aroma del producto, lo que permitiría corregir estas diferencias.

## 5. CONCLUSIONES

- La cantidad de enzima empleada en el tratamiento de la afecta a los valores de humedad, pH y actividad de agua de la carne reestructurada, así como a los parámetros de textura.
- La utilización de la formulación con un 1,5% de transglutaminasa permite conseguir la correcta unión de las porciones de lomo que garanticen la preparación de la materia prima para el posterior proceso de curado.
- El tipo de sal utilizada en la formulación no afecta a la actividad de la enzima, por lo que la sustitución parcial del sodio en el producto sería posible sin afectar a la cohesión de las piezas de carne.
- El proceso de curado de las piezas empleando como materia prima el producto reestructurado y utilizando diferentes sales permite obtener un producto con similares propiedades fisicoquímicas que los productos comerciales y con recuentos microbiológicos aceptables.
- La sustitución parcial de sodio en el producto curado no modifica la cohesión de las piezas de carne.
- Algunos de los atributos sensoriales evaluados en los productos reestructurados son similares a los de un producto comercial; sin embargo, la optimización de la etapa de curado podría mejorar los atributos de homogeneidad de color e intensidad de aroma a curado.
- El uso de lomo reestructurado empleando transglutaminasa y diferentes sales es adecuado para obtener un producto curado con características similares a los productos tradicionales y con una buena calidad higiénica. Este tipo de producto permite a los productores reducir pérdidas, al aprovechar recortes con bajo valor comercial, y además permite mejorar el perfil nutricional, respecto a los productos convencionales, ya que consigue reducir la cantidad de sodio en el mismo sin afectar a su calidad.
- La obtención de un producto reestructurado curado bajo en sodio es posible siguiendo el procedimiento desarrollado

## 6. ANEXOS

**Anexo I:** Cuestionario para el análisis sensorial con panel entrenado de las muestras de lomo curado.

<b>Muestra:</b> _____
<b>APARIENCIA</b>
<b>Intensidad de color claro/oscura</b>
_____
Nada intenso <span style="float: right;">Muy intenso</span>
<b>Intensidad de color rojo/granate</b>
_____
Nada intenso <span style="float: right;">Muy intenso</span>
<b>Homogeneidad del color: uniformidad del color dentro la loncha.</b>
_____
Muy heterogéneo <span style="float: right;">Muy homogéneo</span>
<b>TEXTURA AL TACTO</b>
<b>Cohesividad</b>
_____
Nada cohesionado <span style="float: right;">Muy cohesionado</span>
<b>Dureza</b>
_____
Excesivamente blando <span style="float: right;">Excesivamente duro</span>
<b>Pastosidad</b>
_____
Poco pastoso <span style="float: right;">Muy pastoso</span>
<b>Adherencia</b>
_____
Nada adherente <span style="float: right;">Muy adherente</span>
<b>ATRIBUTOS DE OLOR</b>
<b>Intensidad de olor a curado</b>
_____
Nada intenso <span style="float: right;">Muy intenso</span>



**Anexo II:** Resultados obtenidos en el análisis estadístico realizado a partir de los resultados obtenidos en la fase I del estudio

### ANOVA Multifactorial - Humedad

Variable dependiente: Humedad

Factores:

% TG

% sal

Número de casos completos: 27

#### Análisis de Varianza para Humedad - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:% TG	4,76373	2	2,38187	21,99	0,0000
B:% sal	3,05629	2	1,52814	14,11	0,0002
INTERACCIONES					
AB	4,56281	4	1,1407	10,53	0,0001
RESIDUOS	1,94954	18	0,108308		
TOTAL (CORREGIDO)	14,3324	26			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

#### Pruebas de Múltiple Rangos para Humedad por % TG

Método: 95,0 porcentaje LSD

% TG	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1,5	9	72,2092	0,1097	X
1,25	9	72,6167	0,1097	X
1	9	73,2311	0,1097	X

#### Pruebas de Múltiple Rangos para Humedad por % sal

Método: 95,0 porcentaje LSD

% sal	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	9	72,2668	0,1097	X
2	9	72,6997	0,1097	X
3	9	73,0905	0,1097	X

### ANOVA Multifactorial - pH

Variable dependiente: pH

Factores:

% TG

% sal

Número de casos completos: 27

#### Análisis de Varianza para pH - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:% TG	0,276496	2	0,138248	32,29	0,0000
B:% sal	0,031563	2	0,0157815	3,69	0,0455

INTERACCIONES					
AB	0,0156593	4	0,00391481	0,91	0,4768
RESIDUOS	0,0770667	18	0,00428148		
TOTAL (CORREGIDO)	0,400785	26			

#### Pruebas de Múltiple Rangos para pH por % sal

Método: 95,0 porcentaje LSD

% sal	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
3	9	5,75	0,021811	X
1	9	5,78444	0,021811	XX
2	9	5,83333	0,021811	X

#### Pruebas de Múltiple Rangos para pH por % TG

Método: 95,0 porcentaje LSD

% TG	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1,5	9	5,66333	0,021811	X
1,25	9	5,79333	0,021811	X
1	9	5,91111	0,021811	X

### ANOVA Multifactorial - aw

Variable dependiente: aw

Factores:

% TG

% sal

Número de casos completos: 27

#### Análisis de Varianza para aw - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:% TG	0,0000280741	2	0,000014037	9,02	0,0019
B:% sal	0,0000538519	2	0,0000269259	17,31	0,0001
INTERACCIONES					
AB	0,0000274815	4	0,00000687037	4,42	0,0116
RESIDUOS	0,000028	18	0,00000155556		
TOTAL (CORREGIDO)	0,000137407	26			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

#### Pruebas de Múltiple Rangos para aw por % TG

Método: 95,0 porcentaje LSD

% TG	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1,5	9	0,974778	0,00041574	X
1	9	0,976444	0,00041574	X
1,25	9	0,977222	0,00041574	X

#### Pruebas de Múltiple Rangos para aw por % sal

Método: 95,0 porcentaje LSD

% sal	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	9	0,974333	0,00041574	X
2	9	0,976333	0,00041574	X
3	9	0,977778	0,00041574	X

## Multifactor ANOVA - CI-

Dependent variable: CI-

Factors:

% TG

% sal

Number of complete cases: 27

### Analysis of Variance for CI- - Type III Sums of Squares

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
MAIN EFFECTS					
A:% TG	0,000170679	2	0,0000853397	39,47	0,0000
B:% sal	0,000322309	2	0,000161155	74,54	0,0000
INTERACTIONS					
AB	0,0000132285	4	0,00000330713	1,53	0,2358
RESIDUAL	0,0000389179	18	0,00000216211		
TOTAL (CORRECTED)	0,000545135	26			

All F-ratios are based on the residual mean square error.

### Multiple Range Tests for CI- by % TG

Method: 95,0 percent LSD

% TG	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
1,5	9	0,0323908	0,000490137	X
1	9	0,0337805	0,000490137	X
1,25	9	0,0382816	0,000490137	X

### Multiple Range Tests for CI- by % sal

Method: 95,0 percent LSD

% sal	Count	LS Mean	LS Sigma	Homogeneous Groups
3	9	0,0300807	0,000490137	X
2	9	0,0361481	0,000490137	X
1	9	0,038224	0,000490137	X

## ANOVA Multifactorial - Fuerza SF

Variable dependiente: Fuerza SF

Factores:

% TG

% sal

Número de casos completos: 27

### Análisis de Varianza para Fuerza SF - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:% TG	157,026	2	78,5132	38,59	0,0000
B:% sal	29,5267	2	14,7634	7,26	0,0049
INTERACCIONES					
AB	31,2811	4	7,82028	3,84	0,0199
RESIDUOS	36,6263	18	2,03479		
TOTAL (CORREGIDO)	254,461	26			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

**Pruebas de Múltiple Rangos para Fuerza SF por % sal**

Método: 95,0 porcentaje LSD

% sal	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	9	47,71	0,475487	X
3	9	49,4319	0,475487	X
2	9	50,2133	0,475487	X

**Pruebas de Múltiple Rangos para Fuerza SF por % TG**

Método: 95,0 porcentaje LSD

% TG	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	9	47,1556	0,475487	X
1,25	9	47,6844	0,475487	X
1,5	9	52,5152	0,475487	X

**ANOVA Multifactorial - Fuerza Fractura**

Variable dependiente: Fuerza Fractura

Factores:

% TG

% sal

Número de casos completos: 27

**Análisis de Varianza para Fuerza Fractura - Suma de Cuadrados Tipo III**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:% TG	0,511637	2	0,255819	48,65	0,0000
B:% sal	0,0488372	2	0,0244186	4,64	0,0246
INTERACCIONES					
AB	0,029348	4	0,00733699	1,40	0,2776
RESIDUOS	0,0893833	17	0,00525784		
TOTAL (CORREGIDO)	0,678862	25			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

**Pruebas de Múltiple Rangos para Fuerza Fractura por % TG**

Método: 95,0 porcentaje LSD

% TG	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	8	0,313889	0,0261069	X
1,25	9	0,44	0,0241703	X
1,5	9	0,657778	0,0241703	X

**Pruebas de Múltiple Rangos para Fuerza Fractura por % sal**

Método: 95,0 porcentaje LSD

% sal	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
3	9	0,413333	0,0241703	X
2	8	0,482778	0,0261069	XX
1	9	0,515556	0,0241703	X

## ANOVA Multifactorial - Breaking Strenght(N/cm2)

Variable dependiente: Breaking Strenght(N/cm2)

Factores:

% TG

% sal

Número de casos completos: 27

### Análisis de Varianza para Breaking Strenght(N/cm2) - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:% TG	4,91208	2	2,45604	188,54	0,0000
B:% sal	0,00206389	2	0,00103194	0,08	0,9242
INTERACCIONES					
AB	0,0848596	4	0,0212149	1,63	0,2129
RESIDUOS	0,22145	17	0,0130265		
TOTAL (CORREGIDO)	5,37498	25			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

### Pruebas de Múltiple Rangos para Breaking Strenght(N/cm2) por % sal

Método: 95,0 porcentaje LSD

% sal	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
3	9	1,07111	0,0380445	X
1	9	1,07333	0,0380445	X
2	8	1,09167	0,0410928	X

### Pruebas de Múltiple Rangos para Breaking Strenght(N/cm2) por % TG

Método: 95,0 porcentaje LSD

% TG	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	8	0,472778	0,0410928	X
1,25	9	1,22333	0,0380445	X
1,5	9	1,54	0,0380445	X

## ANOVA Multifactorial - Dureza (N)

Variable dependiente: Dureza (N)

Factores:

% TG

% sal

Número de casos completos: 27

### Análisis de Varianza para Dureza (N) - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:% TG	92,3745	2	46,1872	11,41	0,0006
B:% sal	4,42136	2	2,21068	0,55	0,5886
INTERACCIONES					
AB	9,20849	4	2,30212	0,57	0,6888
RESIDUOS	72,8917	18	4,04954		
TOTAL (CORREGIDO)	178,896	26			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

**Pruebas de Múltiple Rangos para Dureza (N) por % TG**

Método: 95,0 porcentaje LSD

% TG	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	9	10,1844	0,670782	X
1,25	9	11,4667	0,670782	X
1,5	9	14,5889	0,670782	X

**Pruebas de Múltiple Rangos para Dureza (N) por % sal**

Método: 95,0 porcentaje LSD

% sal	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	9	11,6178	0,670782	X
3	9	12,0189	0,670782	X
1	9	12,6033	0,670782	X

**ANOVA Multifactorial - Adhesividad (g\*sec)**

Variable dependiente: Adhesividad (g\*sec)

Factores:

% TG

% sal

Número de casos completos: 27

**Análisis de Varianza para Adhesividad (g\*sec) - Suma de Cuadrados Tipo III**

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:% TG	2,8122	2	1,4061	1,18	0,3290
B:% sal	1,24682	2	0,623411	0,52	0,6005
INTERACCIONES					
AB	10,6885	4	2,67213	2,25	0,1042
RESIDUOS	21,3877	18	1,1882		
TOTAL (CORREGIDO)	36,1352	26			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

**Pruebas de Múltiple Rangos para Adhesividad (g\*sec) por % sal**

Método: 95,0 porcentaje LSD

% sal	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
2	9	-3,07444	0,363349	X
1	9	-2,71333	0,363349	X
3	9	-2,56222	0,363349	X

**Pruebas de Múltiple Rangos para Adhesividad (g\*sec) por % TG**

Método: 95,0 porcentaje LSD

% TG	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1,5	9	-3,17	0,363349	X
1,25	9	-2,8	0,363349	X
1	9	-2,38	0,363349	X

## ANOVA Multifactorial - Elasticidad (ratio)

Variable dependiente: Elasticidad (ratio)

Factores:

% TG

% sal

Número de casos completos: 27

### Análisis de Varianza para Elasticidad (ratio) - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:% TG	0,0311185	2	0,0155593	1,36	0,2823
B:% sal	0,0524519	2	0,0262259	2,29	0,1301
INTERACCIONES					
AB	0,0469926	4	0,0117481	1,03	0,4210
RESIDUOS	0,206267	18	0,0114593		
TOTAL (CORREGIDO)	0,33683	26			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

### Pruebas de Múltiple Rangos para Elasticidad (ratio) por % TG

Método: 95,0 porcentaje LSD

% TG	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1,5	9	0,506667	0,0356826	X
1,25	9	0,568889	0,0356826	X
1	9	0,585556	0,0356826	X

### Pruebas de Múltiple Rangos para Elasticidad (ratio) por % sal

Método: 95,0 porcentaje LSD

% sal	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
3	9	0,495556	0,0356826	X
2	9	0,563333	0,0356826	XX
1	9	0,602222	0,0356826	X

## ANOVA Multifactorial - Cohesividad (ratio)

Variable dependiente: Cohesividad (ratio)

Factores:

% TG

% sal

Número de casos completos: 27

### Análisis de Varianza para Cohesividad (ratio) - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:% TG	0,0951407	2	0,0475704	21,96	0,0000
B:% sal	0,000496296	2	0,000248148	0,11	0,8924
INTERACCIONES					
AB	0,017837	4	0,00445926	2,06	0,1290
RESIDUOS	0,039	18	0,00216667		
TOTAL (CORREGIDO)	0,152474	26			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

### Pruebas de Múltiple Rangos para Cohesividad (ratio) por % sal

Método: 95,0 porcentaje LSD

% sal	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
3	9	0,371111	0,0155158	X
1	9	0,373333	0,0155158	X
2	9	0,381111	0,0155158	X

### Pruebas de Múltiple Rangos para Cohesividad (ratio) por % TG

Método: 95,0 porcentaje LSD

% TG	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	9	0,307778	0,0155158	X
1,5	9	0,365556	0,0155158	X
1,25	9	0,452222	0,0155158	X

## ANOVA Multifactorial - Masticabilidad

Variable dependiente: Masticabilidad

Factores:

% TG

% sal

Número de casos completos: 27

### Análisis de Varianza para Masticabilidad - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:% TG	6,76179	2	3,38089	9,24	0,0017
B:% sal	1,65081	2	0,825404	2,26	0,1336
INTERACCIONES					
AB	1,35893	4	0,339731	0,93	0,4693
RESIDUOS	6,5854	18	0,365856		
TOTAL (CORREGIDO)	16,3569	26			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

### Pruebas de Múltiple Rangos para Masticabilidad por % TG

Método: 95,0 porcentaje LSD

% TG	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	9	1,79111	0,20162	X
1,5	9	2,69778	0,20162	X
1,25	9	2,95889	0,20162	X

### Pruebas de Múltiple Rangos para Masticabilidad por % sal

Método: 95,0 porcentaje LSD

% sal	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
3	9	2,16556	0,20162	X
2	9	2,51333	0,20162	XX
1	9	2,76889	0,20162	X



## ANOVA Multifactorial - Resiliencia

Variable dependiente: Resiliencia

Factores:

% TG

% sal

Número de casos completos: 27

### Análisis de Varianza para Resiliencia - Suma de Cuadrados Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:% TG	0,00405185	2	0,00202593	2,36	0,1232
B:% sal	0,00934074	2	0,00467037	5,44	0,0142
INTERACCIONES					
AB	0,0121259	4	0,00303148	3,53	0,0271
RESIDUOS	0,0154667	18	0,000859259		
TOTAL (CORREGIDO)	0,0409852	26			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

### Pruebas de Múltiple Rangos para Resiliencia por % sal

Método: 95,0 porcentaje LSD

% sal	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
3	9	0,0955556	0,00977104	X
2	9	0,0966667	0,00977104	X
1	9	0,135556	0,00977104	X

### Pruebas de Múltiple Rangos para Resiliencia por % TG

Método: 95,0 porcentaje LSD

% TG	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1,5	9	0,0944444	0,00977104	X
1	9	0,108889	0,00977104	XX
1,25	9	0,124444	0,00977104	X

**Anexo III:** Resultados obtenidos en el análisis estadísticos realizado a partir de los resultados obtenidos en la fase II del estudio

**One-Way ANOVA - Humedad by Sal**

Dependent variable: Humedad  
Factor: Sal

Number of observations: 9  
Number of levels: 3

**ANOVA Table for Humedad by Sal**

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	1,28958	2	0,644788	<b>0,12</b>	<b>0,8911</b>
Within groups	32,9163	6	5,48605		
Total (Corr.)	34,2059	8			

**Multiple Range Tests for Humedad by Sal**

Method: 95,0 percent LSD

Sal	Count	Mean	Homogeneous Groups
3	3	46,487	X
2	3	46,5428	X
1	3	47,3164	X

**One-Way ANOVA - pH by Sal**

Dependent variable: pH  
Factor: Sal

Number of observations: 9  
Number of levels: 3

**ANOVA Table for pH by Sal**

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	0,058808	2	0,029404	<b>16,41</b>	<b>0,0037</b>
Within groups	0,010752	6	0,001792		
Total (Corr.)	0,06956	8			

**Multiple Range Tests for pH by Sal**

Method: 95,0 percent LSD

Sal	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	3	6,05533	X
3	3	6,15333	X
2	3	6,25333	X

**One-Way ANOVA - aw by Sal**

Dependent variable: aw  
Factor: Sal

Number of observations: 9  
Number of levels: 3

**ANOVA Table for aw by Sal**

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	0,0000418143	2	0,0000209072	2,14	0,1985
Within groups	0,0000585296	6	0,00000975494		
Total (Corr.)	0,000100344	8			

**Multiple Range Tests for aw by Sal**

Method: 95,0 percent LSD

Sal	Count	Mean	Homogeneous Groups
1	3	0,9201	X
2	3	0,922411	X
3	3	0,925367	X

**One-Way ANOVA - CI by Sal**

Dependent variable: CI-

Factor: Sal

Number of observations: 9

Number of levels: 3

**ANOVA Table for CI by Sal**

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	0,136025	2	0,0680123	78,05	0,0001
Within groups	0,0052286	6	0,000871434		
Total (Corr.)	0,141253	8			

**Multiple Range Tests for CI by Sal**

Method: 95,0 percent LSD

Sal	Count	Mean	Homogeneous Groups
3	3	1,08918	X
2	3	1,26481	X
1	3	1,38883	X

**One-Way ANOVA - SF by Sal**

Dependent variable: SF

Factor: Sal

Number of observations: 9

Number of levels: 3

**ANOVA Table for SF by Sal**

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	788,91	2	394,455	3,42	0,1020
Within groups	691,947	6	115,324		
Total (Corr.)	1480,86	8			

**Multiple Range Tests for SF by Sal**

Method: 95,0 percent LSD

Sal	Count	Mean	Homogeneous Groups
2	3	44,7132	X
1	3	58,548	XX
3	3	67,4706	X

**One-Way ANOVA - TT by Sal**

Dependent variable: TT

Factor: Sal

Number of observations: 9

Number of levels: 3

**ANOVA Table for TT by Sal**

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	3,14471	2	1,57236	1,82	0,2406
Within groups	5,1742	6	0,862367		
Total (Corr.)	8,31891	8			

**Multiple Range Tests for TT by Sal**

Method: 95,0 percent LSD

Sal	Count	Mean	Homogeneous Groups
2	3	4,53233	X
3	3	5,52667	X
1	3	5,941	X

**Anexo IV** Resultados obtenidos en el análisis estadístico realizado a partir de los resultados obtenidos en el análisis sensorial.

**One-Way ANOVA - Adherencia by Muestra**

Dependent variable: Adherencia  
Factor: Muestra

Number of observations: 36  
Number of levels: 4

**ANOVA Table for Adherencia by Muestra**

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	13,3933	3	4,46444	2,19	0,1085
Within groups	65,2422	32	2,03882		
Total (Corr.)	78,6356	35			

**Multiple Range Tests for Adherencia by Muestra**

Method: 95,0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
81	9	2,38889	X
83	9	2,77778	XX
82	9	2,85556	XX
Comercial	9	4,02222	X

**One-Way ANOVA - Cohesividad by Muestra**

Dependent variable: Cohesividad  
Factor: Muestra

Number of observations: 36  
Number of levels: 4

**ANOVA Table for Cohesividad by Muestra**

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	5,87111	3	1,95704	0,88	0,4642
Within groups	71,5644	32	2,23639		
Total (Corr.)	77,4356	35			

**Multiple Range Tests for Cohesividad by Muestra**

Method: 95,0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
82	9	3,88889	X
81	9	4,33333	X
Comercial	9	4,4	X
83	9	5,02222	X

## One-Way ANOVA – Dureza by Muestra

Dependent variable: Dureza

Factor: Muestra

Number of observations: 36

Number of levels: 4

### ANOVA Table for Dureza by Muestra

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	14,91	3	4,97	8,34	0,0003
Within groups	19,06	32	0,595625		
Total (Corr.)	33,97	35			

### Multiple Range Tests for Dureza by Muestra

Method: 95,0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
Comercial	9	3,24444	X
82	9	3,51111	X
81	9	4,31111	X
83	9	4,86667	X

## One-Way ANOVA - Homgeneidad color by Muestra

Dependent variable: Homgeneidad color

Factor: Muestra

Number of observations: 36

Number of levels: 4

### ANOVA Table for Homgeneidad color by Muestra

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	14,1967	3	4,73223	3,41	0,0300
Within groups	41,6189	30	1,3873		
Total (Corr.)	55,8156	33			

### Multiple Range Tests for Homgeneidad color by Muestra

Method: 95,0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
82	9	4,06667	X
83	9	4,78889	XX
81	8	5,075	XX
Comercial	8	5,875	X

## One-Way ANOVA - Intensidad color by Muestra

Dependent variable: Intensidad color

Factor: Muestra

Number of observations: 36

Number of levels: 4

**ANOVA Table for Intensidad de color by Muestra**

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	4,67194	3	1,55731	1,48	0,2385
Within groups	33,6644	32	1,05201		
Total (Corr.)	38,3364	35			

**Multiple Range Tests for Intensidad de color by Muestra**

Method: 95,0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
83	9	3,4	X
82	9	4,16667	X
81	9	4,22222	X
Comercial	9	4,28889	X

**One-Way ANOVA – Intensidad olor curado by Muestra**

Dependent variable: Intensidad olor curado

Factor: Muestra

Number of observations: 36

Number of levels: 4

**ANOVA Table for Intensidad olor curado by Muestra**

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	15,2189	3	5,07296	5,90	0,0025
Within groups	27,5111	32	0,859722		
Total (Corr.)	42,73	35			

**Multiple Range Tests for Intensidad olor curado by Muestra**

Method: 95,0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
81	9	2,97778	X
82	9	4,1	X
83	9	4,22222	X
Comercial	9	4,76667	X

**One-Way ANOVA – Intensidad rojo by Muestra**

Dependent variable: Intensidad rojo

Factor: Muestra

Number of observations: 36

Number of levels: 4

**ANOVA Table for Intensidad rojo by Muestra**

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	3,15	3	1,05	0,94	0,4318
Within groups	35,66	32	1,11438		
Total (Corr.)	38,81	35			

**Multiple Range Tests for Intensidad rojo by Muestra**

Method: 95,0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
83	9	3,17778	X
81	9	3,46667	X
82	9	3,71111	X
Comercial	9	3,97778	X

**One-Way ANOVA – Pastosidad by Muestra**

Dependent variable: Pastosidad

Factor: Muestra

Number of observations: 36

Number of levels: 4

**ANOVA Table for Pastosidad by Muestra**

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	7,09417	3	2,36472	1,61	0,2061
Within groups	46,9622	32	1,46757		
Total (Corr.)	54,0564	35			

**Multiple Range Tests for Pastosidad by Muestra**

Method: 95,0 percent LSD

Muestra	Count	Mean	Homogeneous Groups
81	9	2,48889	X
83	9	2,58889	X
82	9	3,25556	X
Comercial	9	3,54444	X



## REFERENCIAS

- AENOR (2003). Norma UNE EN-ISO 4833. Microbiología de alimentos para consumo humano y animal. Método horizontal para el recuento de microorganismos. Técnica de recuento de colonias a 30°C (ISO 4833:2003). Ed. AENOR, Madrid, España.
- AENOR (2004). Norma UNE EN-ISO 6887-3. Microbiología de alimentos para consumo humano y animal. Preparación de las muestras de ensayo, suspensión inicial y diluciones decimales para el examen microbiológico. Parte 3: Reglas específicas para la preparación de pescados y productos de la pesca. Ed. AENOR, Madrid, España.
- AENOR (2014). Norma UNE-EN ISO 8586:2014. Análisis sensorial. Guía para la selección, entrenamiento y control de catadores y catadores expertos.
- AESAN, Agencia Española de Seguridad Alimentaria y Nutrición (2011). "Informe del Comité Científico sobre criterios para incentivar la disminución del contenido de determinados nutrientes en los alimentos transformados, cuya reducción es de interés para la salud pública". [http://aesan.mssi.gob.es/AESAN/docs/docs/evaluacion\\_riesgos/comite\\_cientifico/CRITERIOS\\_NUTRIENTES.pdf](http://aesan.mssi.gob.es/AESAN/docs/docs/evaluacion_riesgos/comite_cientifico/CRITERIOS_NUTRIENTES.pdf) (fecha de acceso: 23/06/2015).
- Aliño, M. (2009). "Influence of sodium replacement on the salting kinetics of pork loin". *Journal of Food Engineering*, 95: 551-557.
- Aliño, M. (2009b). "Influence of sodium replacement on physicochemical properties of dry-cured loin". *Meat Science*, 83: 423-430.
- Aliño, M. (2009c). "Influence of low-sodium mixtures of salts on the post-salting stage of dry-cured ham process". *Journal of Food Engineering*, 99: 198-205.
- Aliño, M.; Grau, R.; Toldrá, F.; Blesa, E.; Pagán, M.J.; Barat, J.M. (2010). "Physicochemical properties and microbiology of dry-cured loins obtained by partial sodium replacement with potassium, calcium and magnesium". *Meat Science*, 85: 580-588.

- Bee, G.; Anderson, A.L.; Lonergan, S.M.; Huff-Lonergan, E. (2007). "Rate and extent of pH decline affect proteolysis of cytoskeletal proteins and water-holding capacity in pork". *Meat Science*, 79: 359-365.
- Blesa, E.; Aliño, M.; Barat, J.M.; Grau, R.; Toldrá, F.; Pagán, M.J. (2008) "Microbiology and physico-chemical changes of dry-cured ham during the post-salting stage as affected by partial replacement of NaCl by other salts". *Meat Science*, 78: 135-142.
- Campus, M.; Flores, M.; Martínez, A.; Toldr, F. (2008). "Effect of high pressure treatment on color microbial and chemical characteristics of dry cured loin". *Meat Science*, 80: 1174-1181.
- Cannata, S; Engle, T.E.; Moeller, S.J.; Zerby, H.N.; Radunz, A.E.; Green, M.D.; Bass, P.D.; Belk, K.E. (2010). "Effect of visual marbling on sensory properties and quality traits of pork loins". *Meat Science*, 85: 428-434.
- Castro-Briones, M.; Calderón, G.N.; Velázquez, G.; Rubio, M.S.; Vázquez, M.; Ramírez, J.A. (2009). "MEchanical and functional properties of beef products obtained using microbial transglutaminase with treatments of pre-heating followed by cold binding". *Meat Science*, 83: 229-238.
- CODEX ALIMENTARIUS (2005). Código de prácticas de higiene para la carne. Norma CAC/RCP 58/2005.
- Costa-Corredor, A.; Serra, X.; Arnau, J.; Gou, P. (2009). "Reduction of NaCl content in restructured dry-cured hams: Post-resting temperature and drying level effects on physicochemical and sensory parameters". *Meat Science*, 83: 390-397.
- Desmond, E. (2006). "Reducing salt: A challenge for the meat industry". *Meat Science*, 74: 188-196.
- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (2015). "Industrias Agroalimentarias: Grupo de productos cárnicos". <http://www.fao.org/ag/ags/industrias-agroalimentarias/carne-y-leche/grupos-de-productos-carnicos/es/> (fecha de acceso: 01/07/2015).

- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (2014). "Perspectivas alimentarias-Análisis del mercado mundial (2014)". <http://www.fao.org/GIEWS/spanish/fo/index.htm#top> (Fecha de acceso: 17/06/2015).
- Fuentes, A.; Fernández-Segovia, I.; Serra, J.A.; Barat, J.M. (2012). "Effect of partial sodium replacement on physicochemical parameters of smoked sea bass during storage". *Food Science and Technology International*, 18: 207-2017.
- Fulladosa, E.; Serra, X.; Gou, P.; Arnau, J. (2009). "Effects of potassium lactate and high pressure on transglutaminase restructured dry-cured hams with reduced salt content" *Meat Science*, 82: 213-218.
- Fulladosa, E.; Sala, X.; Gou, P.; Garriga, M.; Arnau, J. (2012). "K-lactate and high pressure on the safety and quality of restructured hams". *Meat Science*, 91: 56-61.
- Hayes, J.E.; Desmond, E.M.; Troy, D.J.; Buckley, D.J.; Mehra, R. (2006). "The effect of enhancement with salt, phosphate and milk proteins on the physical and sensory properties of pork loin". *Meat Science*, 72: 380-386.
- Hernández, P.; Navarro, J.L.; Toldrá, F. (1999). "Lipolytic and oxidative changes in two Spanish pork loin products: dry-cured loin and pickled-cured loin". *Meat Science*, 51: 123-128.
- IRTA (2006). "Desarrollo de una metodología estándar para la evaluación sensorial de jamón curado español de cerdo blanco: propuesta de guía metodológica para la evaluación sensorial de jamón curado de cerdo blanco".
- ISO (1998). ISO 15214/1998. Microbiology of food and animal feeding stuffs- Horizontal method for the enumeration of mesophilic lactic acid bacteria. Colony-count technique at 30 °C.
- Jiménez Colmenero, F.; Serrano, A.; Ayo, J.; Solas, M.T.; Cofrades, S.; Carballo, J. "Physicochemical and sensory characteristics of restructured beef steak with added walnuts". *Meat Science*, 65: 1391-1397.

- Lesiów, T.; Xiong, Y.L. (2013). "A simple, reliable and reproductive method to obtain experimental pale, soft and exudative (PSE) pork" *Meat Science*, 93: 489-494.
- Lorenzo, J.M.; Cittadini, A.; Bermúdez, R.; Munekata, P.E.; Domínguez, R. (2015). "Influence os partial replacement of NaCl with KCl, CaCl<sub>2</sub> and MgCl<sub>2</sub> on proteolysis, lipolysis and sensory properties during the manufacture of dry-cured lacón". *Food Control*, 55: 90-96.
- Lorenzo, J.M.; Bermúdez, R.; Domínguez, R.; Guiotto, A.; Franco, D.; Purriños, L. (2015). "Physicochemical and microbial changes during the manufacturing process of dry-cured lacón salted with potassium, calcium and magnesium chloride as a partial replacement for sodium chloride". *Food Control*, 50: 763-769.
- MAGRAMA, Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente (2014). "Datos de consumo alimentario en España (2013)". [http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/PRESENTACION\\_DATOS\\_CONSUMO\\_2013\\_tcm7-321988.pdf](http://www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/consumo-y-comercializacion-y-distribucion-alimentaria/PRESENTACION_DATOS_CONSUMO_2013_tcm7-321988.pdf) (Fecha de acceso: 17/06/2015).
- Omana, D.A.; Goddard, E.; Plastow, G.S.; Janz, J.; Ma, L.; Anders, S.; Moore, S.S.; Bruce, H.L. (2014). "Influence of on-farm production practies on sensory and technological quality characteristics of pork loin". *Meat Science*, 95: 315-320.
- OMS, Organización Mundial de la Salud (2014). "Las 10 causas principales de defunción en el mundo (2010-2012)". Nota descriptiva nº 310, Mayo de 2014. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/es/> (Fecha de acceso: 19/06/2015).
- Pascual, M.R.; Calderón V. (2000). *Microbiología alimentaria: metodología analítica para alimentos y bebidas*. Díaz de Santos, Madrid, España.
- Payne, T.C. (2009). "Enzymes" En: *Ingredients in meat products: properties, functionality and applications*. Rodrigo Tarté (Ed). Springer: Madison, Wisconsin, USA.

- Romero de Ávila, M.D.; Ordóñez, J.A.; de la Hoz, L.; Herrero, A.M.; Cambero, M.I. (2010). "Microbial transglutaminase for cold-set binding of unsalted/salted pork models and restructured dry ham". *Meat Science*, 84: 747-754.
- Romero de Ávila, M.D.; Hoz, L.; Ordóñez, J.A.; Cambero, M.I. (2014). "Dry cured restructured with fibrin". *Food Chemistry*, 159: 519-528.
- Ruusune, M. ; Puolanne, E. (2004). "Reducing sodium intake from meat products". *Meat Science*, 70: 531-541.
- Sánchez Molinero, F. (2005). Modificaciones tecnológicas para mejorar la seguridad y la calidad del jamón curado. Tesis doctoral, Universitat de Girona.
- Serrano, A.; Cofrades, S.; Jiménez Colmenero, F. (2004). "Transglutaminase as binding agent in fresh restructured beef steak with added walnuts". *Food Chemistry*, 85: 423-429.
- Stadnik, J.; Dolatowski, Z.J. (2013). "Changes in selected parameters related to proteolysis during ageing of dry-cured pork loins inoculated with probiotics". *Food Chemistry*, 139: 67-71.
- Zanardi, E.; Ghidini, S.; Conter, M.; Ianieri, A. (2010). "Mineral composition os Italian salami and effect of NaCl partial replacement on compositional, physico-chemical and sensory parameters". *Meat Science*, 86: 742-747.