

**EFFECTIVIDAD DE LA SUSTITUCIÓN PARCIAL Y TOTAL DE NITRITOS POR APIO EN
POLVO (*Arracacia xanthorrhiza* Bancroft) EN LA CALIDAD FISICOQUIMICA,
MICROBIOLÓGICA Y SENSORIAL DE LA SALCHICHA TIPO FRANKFURT**

Investigador Principal

KEVIN DAVID ALEMAN AGUIRRE

Estudiante de Ingeniería de Alimentos



**INGENIERIA DE ALIMENTOS
FACULTAD DE INGENIERIAS Y ARQUITECTURA
UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
PAMPLONA, Julio de 2019**

**EFFECTIVIDAD DE LA SUSTITUCIÓN PARCIAL Y TOTAL DE NITRITOS POR APIO EN
POLVO (*Arracacia xanthorrhiza Bancroft*) EN LA CALIDAD FISICOQUIMICA,
MICROBIOLÓGICA Y SENSORIAL DE LA SALCHICHA TIPO FRANKFURT**

**Investigador Principal
KEVIN DAVID ALEMAN AGUIRRE
Estudiante de Ingeniería de Alimentos**

**Director
YANINE Y. TRUJILLO NAVARRO
PhD. Tecnología, Calidad y Marketing en Industrias Agroalimentarias**

**Codirector
DANIEL SALVADOR DURAN OSORIO
PhD. Tecnología, Calidad y Marketing en Industrias Agroalimentarias**

**Línea de investigación
Optimización de procesos y vida útil de los productos agroalimentarios**

**Grupo de Investigación en Ingeniería y Tecnología de Alimentos
“GINTAL”**



**INGENIERIA DE ALIMENTOS
FACULTAD DE INGENIERIAS Y ARQUITECTURA
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIONES
UNIVERSIDAD DE PAMPLONA
PAMPLONA, Julio de 201**

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	3
1. ESTADO DEL ARTE.....	10
1.1 NITRITOS	10
1.1.1 Funciones de nitritos	10
1.1.2 Incidencia de nitritos sobre la salud.....	12
1.1.3 Uso de nitritos en la industria cárnica	15
1.1.4 Fuente de nitritos	15
1.1.4 Estudios de usos de nitritos y sustitución con fuentes naturales.....	17
2.1 EMBUTIDOS	18
2.1.1 Tipos de embutidos	18
2.1.2 Salchicha	19
2. OBJETIVOS	23
2.1 OBJETIVO GENERAL	23
2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS	23
3. METODOLOGIA	25
3.1 EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA SUSTITUCIÓN DEL NITRITO DE SODIO POR APIO EN POLVO EN LA CALIDAD FISICOQUÍMICA Y SENSORIAL DE LA SALCHICHA TIPO FRANKFURT	25
3.1.1 Localización.....	25
3.1.2 Material vegetal.....	25
3.1.3 Materia cárnica.....	25
3.1.4 Elaboración de la salchicha tipo Frankfurt.....	25
3.1.5 Determinación de la calidad fisicoquímica de la salchicha tipo Frankfurt	27
3.1.6 Evaluación sensorial de la salchicha tipo Frankfurt	30
3.2 DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE LA SUSTITUCIÓN DEL NITRITO DE SODIO EN LA CARGA MICROBIOLÓGICA DE LA SALCHICHA FRANKFURT	31
3.3 DETERMINACIÓN DE LA RELACIÓN ÓPTIMA DEL APIO EN POLVO PARA LA ELABORACIÓN DE SALCHICHA TIPO FRANKFURT	32
4. RESULTADOS Y DISCUSION.....	34
5. CONCLUSIONES.....	47
6. RECOMENDACIONES.....	50
7. BIBLIOGRAFIA	52

8. ANEXOS	61
Anexo 1. Proceso de elaboración de la salchicha tipo Frankfurt.....	61
Anexo 2. Determinación de las pruebas microbiológicas	62
Anexo 3. Determinación de pruebas fisicoquímicas (humedad y color).....	62
Anexo 4. Ficha de cata sensorial	63
Anexo 5. Prueba sensorial	64
Anexo 6. Determinación de nitritos.....	64

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de los vegetales de acuerdo al contenido de nitrato (mg/kg de masa fresca).	16
Tabla 2. Formulación para la elaboración de salchicha Frankfurt.....	27
Tabla3. Sustitución de nitritos por apio en polvo.....	27
Tabla 4. Codificación de muestras	30
Tabla 5. Requisitos microbiológicos para productos cárnicos procesados cocidos.....	32
Tabla 6. Resultados de L* (Luminosidad) de las salchichas tipo Frankfurt durante el almacenamiento	36
<i>Tabla 7.</i> Resultados del tono del color a* (+rojo/-verde) de las salchichas tipo Frankfurt con respecto al almacenamiento	36
<i>Tabla 8.</i> Resultados del tono del color b* (+amarillo/-azul) de las salchichas tipo Frankfurt con respecto al almacenamiento	38
<i>Tabla 9.</i> Efecto de la sustitución de nitritos por apio en polvo en el color, L* (Luminosidad), espacios cromaticiales a* y b*, de las salchichas tipo Frankfurt.....	39
<i>Tabla 10.</i> Grado de satisfacción de las salchichas tipo Frankfurt almacenadas bajo refrigeración por 30 días	41
Tabla 11. Contenido de Nitritos de la sal Nitral y del apio empleados para la elaboración de las salchichas tipo Frankfurt.....	42
<i>Tabla 12.</i> Resultados de Nitritos residuales de las salchichas tipo Frankfurt con respecto a los tratamientos con medición de 538 nm.....	43
<i>Tabla 13.</i> Recuentos microbiológicos de las salchichas tipo Frankfurt durante el almacenamiento en refrigeración.....	44

LISTA DE FIGURAS

<i>Figura 1.</i> Reacciones del ácido nitroso para formar el catión nitrosoamonio y la sucesiva N-nitrosamina	14
<i>Figura 2.</i> Diagrama de flujo para la elaboración de salchicha tipo Frankfurt.....	26
<i>Figura 3</i> Porcentaje de humedad de las muestras de salchichas tipo Frankfurt.....	34
<i>Figura 4.</i> Variabilidad del porcentaje de humedad de las salchichas tipo Frankfurt durante el período de almacenamiento en refrigeración	35
<i>Figura5 .</i> Resultados de la prueba sensorial de las muestras de salchichas tipo Frankfurt	40
<i>Figura 6.</i> Curvas de calibración para la determinación de Nitritos residuales en las salchichas tipo Frankfurt por medio de absorbancia a 538 nm.....	42

DEDICATORIA

Dedico esta tesis al esfuerzo de mis padres Nubia Aguirre Galviz, Yinny Alemán Sehuanez por brindarme la oportunidad de estudiar, a mis hermanos Jorge, Juan y Albeiro que estuvieron apoyándome constantemente y por su apoyo incondicional. Y sobre todo a Dios por ser mi guía todo momento en cada paso que doy.

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis ha sido posible gracias a la colaboración de un numeroso grupo de personas, y por ello me gustaría agradecerse a todos aquellos que han contribuido de alguna u otra forma:

En primer lugar, a Dios por haberme dado la fuerza y la sabiduría en todo momento durante mi carrera, a mi familia. A mis padres Nubia Aguirre Galviz y Yinny Alemán Sehuanez, por haber sido tan buenos conmigo y haberme apoyado en todo momento, a mi directora de proyecto de grado, PhD. Yanine Trujillo Navarro por haberme dado la oportunidad de realizar esta tesis, por haber confiado en mí, por instruirme de grandes conocimientos, pero sobre todo por la dedicación y paciencia durante el desarrollo de este proyecto.

A todos los profesores que de una u otra forma aportaron ese granito de arena al desarrollo de mi carrera, por todo el conocimiento impartido el cual me ayudo a formarme como persona y como profesional. Gracias a todo el equipo de profesores que conforman el núcleo de la ingeniería de alimentos.

A esas personas que he conocido durante el transcurso de la carrera, de las cuales aprendí muchas cosas bonitas, y de las que me llevare gratos recuerdos. Esos compañeros de laboratorios y prácticas, gracias por las buenas conversaciones y sobre todo por hacer de las clases momentos alegres que aunque estuvieron poco tiempo, su simpatía y energía las hace inolvidables.

A la familia Aconcha Rangel, por ser de gran apoyo durante estos últimos años de educación superior, donde me han acogido como de su familia, gracias por siempre brindarme una mano amiga y estar en esos momentos de dificultad conmigo.

A mis amigos y compañeros de viaje: Deimer Cuello, Aura Aconcha, Estefanía Ortiz, Katherine García, María Solano, Mayerli Jaimes, Martin Cáceres por haber sido tan buenos conmigo y haberme apoyado en todo momento, y a la auxiliar y jefa más cariñosa del CETA (Centro Educativo y Tecnológico de Alimentos) Fabiola Ramón por ser una gran persona, por siempre estar dispuesta a dar lo mejor de sí, brindando el mejor de los servicios en los laboratorios de alimentos para el desarrollo de las prácticas y las tecnologías, gracias por tenerme toda esa paciencia y ser una gran amiga.

A todos infinitas gracias.

RESUMEN

RESUMEN

Los nitritos son compuestos que ejercen un papel importante en la industria alimentaria siendo de gran uso en la elaboración de productos cárnicos por su efectividad antimicrobiana, antioxidante en la formación del color rosa rojo brillante y en el desarrollo de aromas característicos. A pesar de todos estos efectos beneficiosos, las sales nitrificantes pueden ser precursoras de la formación de nitrosaminas, compuestos con actividad carcinogénica, teratogénica y mutagénica demostrada. En la actualidad los consumidores tienen mayor interés en comprar alimentos más saludables, con ingredientes orgánicos o naturales, es por ello que surge la necesidad de investigar fuentes naturales de nitritos y nitratos, donde se han realizado estudios que comprueban que los vegetales como el apio son fuente de estos compuestos, por lo que tienen potencial uso como alternativa a los nitritos. Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo fue evaluar la efectividad de la sustitución parcial y total de nitritos por apio en polvo en la calidad microbiológica, sensorial y en el color de la salchicha tipo Frankfurt. Para ello, inicialmente se hizo necesario determinar la cantidad de apio en polvo óptimo en la elaboración de salchicha tipo Frankfurt, en donde se estudiaron cuatro sustituciones (apio en polvo/Nitral): D1(0/100), D2(50/50), D3(75/25) y D4(100/0). Para establecer la cantidad óptima de apio en polvo a emplear en una formulación para la elaboración de la salchicha Frankfurt, se evaluó el efecto del uso del apio en polvo en las características de color, porcentaje de humedad y grado de satisfacción sensorial. Asimismo se evaluó la incidencia de la sustitución de apio en polvo en la capacidad inhibitoria de microorganismos aerobios *Mesofilos*, *Coliformes*, *Salmonella*, *Clostridium* y *Staphylococcus aureus*, durante 5 semanas de almacenamiento refrigerado en condiciones de empaquetado al vacío. Como resultados se obtuvo que al emplear apio en polvo se reduce el tono rojo en el color de las salchichas elaboradas pero esta fuente natural de nitritos demostró ser efectiva en una mayor conservación del color y del porcentaje de humedad durante 35 días de almacenamiento parámetros importantes para obtener productos más jugosos y estables en el tiempo. En términos microbiológicos el apio en polvo adicionado en la elaboración de la salchicha tipo Frankfurt, demostró la misma capacidad de inhibición de los microorganismos requeridos por la normativa NTC 1325 para productos cárnicos procesados cocidos. Sensorialmente el uso de apio en polvo desarrolla sabores que potencializan los característicos de la salchicha Frankfurt sin embargo el color no fue agradable por lo que se recomienda adición exógena de colorante natural al sustituir la sal de nitro por apio en polvo, siendo la muestra de salchicha con la sustitución D2(50/50) y D3 (75/25) las que presentaron aceptación significativa. Se concluye que al sustituir parcialmente el nitrito por apio en polvo en una relación 75/25 (apio/nitrito) y 50/50 (apio/nitrito) en el proceso de elaboración de salchicha tipo Frankfurt, es efectivo durante 35 días de almacenamiento en refrigeración empaquetada al vacío, tanto desde el punto de vista fisicoquímico, microbiológico como sensorial, en cuyos casos no presenta residualidad de nitritos al día 35 de almacenamiento.

ESTADO DEL ARTE

1. ESTADO DEL ARTE

1.1 NITRITOS

El nitrito de sodio o potasio, al igual que los correspondientes nitratos, se utiliza de forma extensiva en el proceso de curado y en la formulación de productos cárnicos, ya que el ion nitrito inhibe el desarrollo anaeróbico de ciertos microorganismos, especialmente del *Clostridium botulinum*, que ayuda a fijar el color en las carnes rojas y contribuye al desarrollo de las características organolépticas del producto (Gallignani *et al.*, 2008). Los nitratos presentes en los productos cárnicos se reducen a la forma de nitritos, por acción de bacterias que se desarrollan en ese medio, mientras los nitritos son parcialmente reducidos a la forma de Óxido nitroso (NO), compuesto que reacciona con la mioglobina y, por esta vía, es el responsable de la coloración típica de las carnes curadas (Gallignani *et al.*, 2008). Sin embargo, en la actualidad, está bien documentado el efecto perjudicial y tóxico que ejercen los nitritos sobre la salud (Gallignani *et al.*, 2008), ya que su consumo se asocia a enfermedades, como el cáncer, la diabetes, Parkinson y el Alzheimer (O'Flynn *et al.*, 2014a; 2014b).

La adición de nitritos y nitratos, sales y otros ingredientes incluyendo la sacarosa y especies a las carnes, se le denomina con el término de curado. Entre las funciones que desempeñan los nitritos en el curado de la carne son: desarrollo de un característico color rosa estable, un sabor típico, una textura única que le hace diferente al de la carne fresca, previene y protege contra el desarrollo de algunas bacterias aeróbicas y acción antioxidante (Rosero Balarezo, 2015).

1.1.1 Funciones de nitritos

Los nitritos juegan un papel muy importante en la formación del color, sabor y aroma típicos de los productos cárnicos, además de presentar actividad antioxidante y antimicrobiana frente a distintos microorganismos (Fernández *et al.*, 2016).

1.1.1.1 Efecto en el color, sabor y aroma.

Uno de los efectos más importantes que tiene el nitrito en los productos cárnicos es la formación del color típico. Este proceso tiene lugar a través de una secuencia compleja de reacciones que conducen a la formación de nitrosomioglobina, que imparte el característico color rojo violáceo a estos productos. Cuando se elaboran embutidos, la oximioglobina es el pigmento dominante en la carne recién picada, dado que las operaciones de corte aumentan la superficie de la carne expuesta al oxígeno. Al añadir nitrito a la carne picada, ésta se vuelve parda en pocos minutos por la formación de metamioglobina. Esto se debe a que el NO, bien formado en la secuencia de reacciones del nitrito en las condiciones de acidez generadas por el crecimiento de las BAL, o bien en la oxidación de la mioglobina por el nitrito, es un potente agente oxidante del pigmento oximioglobina (Hammes, 2012). Esta reacción, que ocurre de forma espontánea a temperatura ambiente, se acelera en presencia de otros agentes oxidantes como la sal.

La metamioglobina, así formada, sufre en pocas horas una reducción (de ión férrico a ferroso) por parte de agentes reductores endógenos (como la metamioglobina reductasa y los grupos reductores de algunos aminoácidos) o añadidos en la fórmula como el ascorbato (Skibsted, 2011).

El desarrollo del sabor y aroma de las carnes curadas es muy complejo, pues es el resultado de la actividad microbiana, de las enzimas propias de la carne, de los ingredientes utilizados y de fenómenos puramente químicos como la oxidación lipídica y las reacciones del nitrito (joseet *al.*, 2014).

Entre los aditivos utilizados en la elaboración de salchichas se encuentran los nitritos, tanto el nitrito de sodio (E250) como el nitrito de potasio (E249), los cuales inhiben el crecimiento de *Clostridium botulinum*, además de actuar como fijadores del de color, proporcionando la coloración rojiza característica de este tipo de productos. El uso en exceso puede presentar ciertos efectos tóxicos como son la producción de metahemoglobina y la producción de compuestos N-nitroso los cuales son potentes carcinógenos. (Cameán *et al.*, 2012)

Los nitratos y nitritos se añaden tradicionalmente a productos cárnicos con varias finalidades entre las que destacan la inhibición de microorganismos potencialmente patógenos, la estabilización del color rojizo-rosáceo característico del curado, sus características antioxidante y el desarrollo del aroma y el sabor típicos (Carballo *et al.*, 2013). Sin embargo sus niveles de utilización se están cuestionando al dar lugar a la formación de nitrosaminas, sustancias carcinogénicas.

1.1.1.1.1 Estabilidad de la coloración.

La adición de sal en la elaboración de productos cárnicos se la realiza desde la antigüedad, generalmente la sal marina era utilizada con el fin de prolongar la conservación de los productos cárnicos, esta sal presentaba ciertos niveles de nitratos, por lo que su coloración se asoció a su presencia, no obstante se observó que los nitratos eran reducidos a nitritos por bacterias reductoras y eran estos nitritos los responsables de la generación del color característico de los productos cárnicos curados (Bazan, 2008)

Al reaccionar los nitritos con la hemoglobina del músculo, se encargan de proporcionar una coloración rojiza en los productos cárnicos curados en crudo (formación de nitroso mioglobina), y de los productos cárnicos curados tratados por calor (formación de nitrosilhemocromo o nitrosoferrohemocromo). (Patiño *et al.*, 2013)

1.1.1.2 Actividad antioxidante

El nitrito (sobre todo en forma de NO) puede actuar como un compuesto altamente oxidante y reductor a la vez. Por un lado, el NO puede oxidar metaloproteínas o promover la oxidación de proteínas y lípidos mediante la generación de peroxinitrito (ONOO-) (Carlsen *et al.*, 2005).



Por otra parte, el nitrito también puede actuar como agente reductor, lo que le confiere capacidad antioxidante que, al proteger a los lípidos del enranciamiento modula la generación del sabor y aroma en los productos curados. Se han propuesto diversos mecanismos que tratan de explicar la actividad antioxidante del nitrito y sus derivados.

Honikel (2008) la atribuye a la oxidación del NO a N₂O₃, secuestrando así el oxígeno presente en la matriz cárnica. Otros autores la atribuyen a la acción del NO que, al ser un compuesto lipofílico, se combinaría fácilmente con los radicales libres formados en la oxidación lipídica (Carlsen *et al.*, 2005).



Finalmente, la propia nitrosomioglobina podría considerarse como un agente antioxidante, tanto por actuar como reservorio de NO, como por su capacidad para desactivar radicales libres (Carlsen *et al.*, 2005).

1.1.1.3 Actividad antimicrobiana

Una de las principales razones por las que se emplean los nitratos y nitritos en los productos cárnicos es su actividad antibacteriana. Sin embargo, pese a que los inicios de su empleo se pierden en la historia, no fue hasta el siglo XX que se tuvo constancia científica de esta actividad (Honikel, 2008). Inicialmente, la adición intencionada de sales nitrificantes a los productos cárnicos se basó en la formación del color. Posteriormente se descubrió que, mientras que el nitrato no presentaba actividad antimicrobiana alguna, el nitrito controlaba la proliferación de *C. botulinum* y la producción de su toxina, así como el crecimiento de bacterias putrefactivas causantes del deterioro de la carne (Benjamin *et al.*, 2012).

La acción antimicrobiana de los nitritos es selectiva, sobre todo para patógenos formadores de toxina botulínica. Los nitratos y nitritos se emplean como aditivos para prolongar el tiempo de conservación de los alimentos y no tanto por su capacidad para inducir cambios en la coloración o en los aromas del producto. Pero aunque su acción en contra de los microorganismos resulta evidente, no es ni mucho menos absoluta. En un producto curado como un chorizo o un salchichón al que se haya añadido nitratos y nitritos, el nivel de microorganismos puede alcanzar con facilidad los 10 millones de bacterias por gramo, una cantidad sólo equiparable al de la microbiota láctica, el mismo grupo al que pertenecen los fermentadores que podemos encontrar en el yogur o en el queso (Benjamin *et al.*, 2012).

Se ha señalado que los nitritos también contribuyen a controlar otros microorganismos patógenos, como *L. monocytogenes* (Cammack *et al.*, 1999) y *E. coli* O157:H7 (Morita *et al.*, 2004). Por otra parte, también se ha descrito un efecto inhibitorio sobre *S. aureus* y *Salmonella spp.*, aunque existe cierta controversia al respecto (Leistner, 1995; Lücke, 1998; Yarbrough *et al.*, 1980). Aunque los mecanismos moleculares de la inhibición microbiana aún no se conocen con exactitud, parece claro que el nitrito debe transformarse primero en HNO₂, reacción que tiene lugar en medio ácido (Honikel, 2008). El HNO₂ es muy inestable y se disocia rápidamente dando lugar a varias especies reactivas, como el NO, NO₂, N₂O₃, N₂O₄ o NO₂⁻ (Lundberg *et al.*, 2004), y que son las verdaderas responsables de la actividad antimicrobiana del nitrito.

1.1.2 Incidencia de nitritos sobre la salud

Según lo mencionado por Moreno *et al.*, (2015), no se ha podido demostrar una directa participación de los nitratos y nitritos (contenidos en vegetales) en la incidencia del cáncer. Aún más, estos iones han mostrado un papel gastroprotector. En un modelo de

gastritis, el nitrato redujo el daño ulcerativo. Además, el nitrito aumentó el flujo sanguíneo hacia la mucosa gástrica y el grosor del mucus secretado. En otras palabras, los nitratos contenidos en vegetales o administrados directamente favorecen el flujo sanguíneo hacia el estómago, protegiéndolo de sustancias irritantes. Dados estos antecedentes, es probable que los nitratos contenidos en vegetales ricos en moléculas antioxidantes como el ácido ascórbico, no produzcan aductos cancerígenos, a diferencia de los contenidos en las carnes rojas (Moreno *et al.*, 2015). Cali Chasi 2015, menciona que los nitritos son precursores de las posiblemente carcinogénicas nitrosaminas, las cuales se forman en el estómago a partir de nitritos y las proteínas. A altas concentraciones pueden reaccionar con la hemoglobina. Su uso no está permitido en productos dirigidos a niños menores de seis meses. La toxicidad del nitrato en humanos se debe principalmente a que una vez reabsorbido ejerce en el organismo la misma acción que sobre la carne conservada, es decir, transforma la hemoglobina en metahemoglobina, pudiendo producir cianosis. Se han generado repetidamente intoxicaciones debido a una cantidad excesiva de nitrito sódico en las carnes en conserva, principalmente debido a una mala homogeneización entre ingredientes y aditivos. Cantidades de 0.5 -1 g de nitrito producen en el hombre intoxicaciones ligeras, de 1-2 g intoxicación grave y 4 g intoxicación mortal (Ariza Hurtado, 2011).

Del total de nitrito que se agrega a los productos cárnicos, aproximadamente del 1-10% es oxidado a nitratos, del 5-10% reaccionan con la mioglobina, otro 5-15% con grupos sulfhidrilo, 1-5% con grasas. 20-30% con las proteínas, y de 1-5% es transformado a gas, quedando intacto como nitrito residual del 10-30%; este nitrito residual puede intervenir en otras reacciones no deseadas las cuales generan como resultado las nitrosaminas con efectos tóxicos y cancerígenos. (Bazan, 2008)

Entre algunos de los riesgos por el consumo de nitritos y nitratos están:

La producción de metahemoglobinemia, donde los más perjudicados son los niños además de otros grupos de la población de riesgo (embarazadas, personas con acidez gástrica disminuida, déficit de glucosa-6-deshidrogenasa, etc.). Aquí la hemoglobina transformada a la forma más oxidada metahemoglobina, se vuelve incapaz de transportar el oxígeno sanguíneo con normalidad.

Formación de compuestos N-nitroso en adultos, agentes teratógenos, mutágenos y probables carcinógenos, altamente peligrosos para la salud.

El carácter cancerígeno de las nitrosaminas se debe a que cuando se metabolizan se forman cationes nitrogenados que interaccionan con el ADN de nuestras células y lo mutan, provocando el daño celular (Cameán *et al.*, 2012).

Las nitrosaminas a las que puede estar expuesto el ser humano derivan de dos orígenes uno endógeno y otro exógeno.

- *Origen endógeno:* la formación de nitrosaminas puede darse in vivo en el interior del microorganismo de forma localizada en el estómago, órganos con inflamaciones de tipo crónico y otras localizaciones gastrointestinales, la formación de nitrosaminas en estos lugares se da debido a las condiciones óptimas de pH para el desarrollo de las reacciones de nitrosación, los nitritos proceden de la ingesta de nitritos en la alimentación.

1.1.3 Uso de nitritos en la industria cárnica

El uso de especias vegetales como aditivos en productos cárnicos ha sido objeto de amplia investigación, en un estudio de espinacas escaldadas y carne de res picada, con clavo y especias de té, se comprobó que se redujo entre tres y cuatro veces la cantidad de microorganismos en estudios in vitro, utilizando *E. coli* O157: H7 (Restrepo *et al.*, 2011).

Otros estudios también demuestran que los extractos de plantas son útiles para la reducción de patógenos asociados con los productos cárnicos, se han documentado los efectos antimicrobianos frente a patógenos en muestras contaminadas de productos cárnicos. Combinación de 1 % de orégano en caldo de cultivo mostraron un efecto inhibitorio frente a *Listeria monocytogenes*; sin embargo, la misma concentración no es efectiva en un embutido de carne (Suárez *et al.*, 2011).

Por otro lado, estudios recientes en relación con determinados aceites y especias como eugenol, cilantro, clavo, orégano y tomillo, evidenciaron un efecto antagónico contra *L. monocytogenes*, *Aeromonas hydrophila* y flora autóctona de deterioración en productos cárnicos. De acuerdo a más estudios, los resultados obtenidos en el trabajo realizado por Suárez Mahecha *et al.*, 2011, muestran que la utilización de especias como apio, orégano, cilantro y perejil puede contribuir a la reducción de nitratos y nitritos en una formulación de salchicha Bratwurst (Suárez *et al.*, 2011).

1.1.4 Fuente de nitritos

1.1.4.1 Nitritos sintéticos

Según la OMS una persona consume normalmente entre 50 - 150 mg al día de nitrato, por ello es importante conocer la composición de los alimentos y la frecuencia con que deben consumirse. Según un estudio publicado por expertos de la *European Food Safety Authority* (EFSA), se debe consumir aproximadamente 400 gramos diarios de una mezcla de frutas y verduras (Moreno *et al.*, 2015). Esta cantidad no sobrepasaría el umbral límite de consumo de nitratos que se denomina Ingesta Diaria Admisible (IDA) recomendada por la FAO y la OMS. Lo recomendable sería la ingesta de al menos 1 mmol de nitrato al día para obtener efectos benéficos sobre la salud cardiovascular y evitar posibles efectos adversos (Moreno *et al.*, 2015). Los vegetales se pueden clasificar de acuerdo a su contenido de nitrato. Dentro de los que presentan un mayor contenido de este compuesto destacamos algunos de interés nutricional.

A pesar de que la mayor parte de los conservadores usados en alimentos son de origen químico, existen diversos productos de origen natural provenientes de plantas que pueden ser usados como conservadores de alimentos. Se estima que del 1 % al 10 % de la cerca de 500 000 especies de plantas que existen en el mundo tienen uso como alimento (Rodríguez, 2011).

Además Totosaus (2011), menciona que los productos cárnicos pueden enriquecerse incluyendo ingredientes funcionales o nutraceuticos como grasas y aceites vegetales. El reemplazo o incorporación de aceites o grasas vegetales puede mejorar su perfil nutricional al ofrecer productos cárnicos funcionales.

Tabla 1. Clasificación de los vegetales de acuerdo al contenido de nitrato (mg/kg de masa fresca).

Muy bajo < 200	Bajo 200 – 500	Medio 500 – 1000	Alto 1000 – 2500	Muy alto > 2500
Ajo	Achicoria	Nabo	Apio nabo	Acelga
Alcachofa	Brócoli	Repollo	Escarola	Apio
Cebolla	Coliflor	-	Perejil	Betarraga
Esparrago	Pepino	-	Puerro	Espinaca
Melón	Zanahoria	-	-	Lechuga
Papa	Zapallo	-	-	Rábano
pera	-	-	-	-
Sandía	-	-	-	-
Tomate	-	-	-	-

Fuente (Moreno C. *et al.*, 2015).

Como se puede observar en el Tabla 3, el apio se encuentra dentro de la clasificación de Muy Alto (>2 500 mg/Kg) de acuerdo al contenido de nitrato.

1.1.4.2 Apio

El apio, arracacha o zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza Bancroft*) es un cultivo sembrado tradicionalmente por pequeños productores en los países andinos de Sur América (Jaimez *et al.*, 2010), se consume especialmente por los pobladores de las zonas altas de Bolivia, Perú y Colombia. El apio es un vegetal hipocalórico (20 kcal/100 gr) que se adapta fácilmente al procesamiento mínimo, y por lo tanto, hace parte de una serie de vegetales listos para consumir, disponibles en los supermercados, gracias a los avances tecnológicos en cuanto a técnicas de empaque que permite mantenerlo con optima frescura y calidad durante su almacenamiento (Martelo *et al.*, 2010).

1.1.4.2.1 El apio y la salud

El apio es apreciado por su aporte nutricional a la dieta. La "madurez comercial" es definida por el tamaño de la planta, sin embargo, el contenido en antioxidantes tiene efecto sobre la calidad nutricional y debería considerarse al definir el momento de cosecha (Goñi *et al.*, 2012).

Desde un criterio nutricional, las plantas de apio deberían ser cosechadas antes de la semana 3 (94 DPT), donde el 75 % del máximo AA (ácido ascórbico) aún se conserva. Estos estadios de desarrollo son también los que presentaron mayor contenido en polifenoles pero teniendo en cuenta la presencia de mayor contenido de quinonas, lo que podría significar un mayor deterioro postcosecha debido al incremento del pardeamiento (Goñi *et al.*, 2012).

El apio contiene flavonoides, compuestos con actividad antioxidante y funciones biológicas diversas (vasodilatadores, anti carcinogénicos, antiinflamatorios, antibacterianos, inmuno-estimulantes, antivirales, etc.), entre los que cabe citar la miricetina, quercetina y kaempferol (flavonoles), y la luteolina y apigenina (flavonas). Asimismo, contiene pequeñas cantidades de furanocumarinas biológicamente activas,

fundamentalmente la xantotoxina y el bergapteno, que pueden actuar, en la prevención del cáncer, y que también se han utilizado en el tratamiento de algunas enfermedades de la piel como el vitíligo y la psoriasis (Magrama, 2014).

Según un artículo de Comercio, (2011), el apio es un diurético natural, regulador del intestino y rico en vitaminas. En cuanto a la parte nutricional, María Victoria Gortaire, explica que el apio contiene vitaminas del grupo B, A, C y E, además de varios minerales importantes como el fósforo, el hierro, el azufre, el potasio, el cobre, el manganeso, el zinc y el aluminio. Además ayuda a la circulación, es antiinflamatorio, regula el intestino y el colesterol, entre otros, señala Vicente Aguilera.

1.1.4.3 Nitritos Naturales

Durante muchos años, los polvos de vegetales han sido utilizados en la carne como agentes saborizantes, mientras que los cultivos iniciadores que reducen nitratos han sido utilizados desde la década de 1950. Sin embargo, la idea de combinar estos dos ingredientes para crear un proceso natural de curado surgió hasta la década de 1990 (Sebranek *et al.*, 2012).

Los vegetales, como ya se mencionó, son una buena fuente de nitrato; algunos como apio, lechuga y betabel tienen concentraciones de entre 1500 y 2800 ppm de nitrato. Los jugos y polvos de vegetales están disponibles en el mercado y pueden ser usados como ingredientes en productos naturales u orgánicos, ya que ofrecen gran potencial para introducir de manera simple nitratos en las carnes procesadas y tienen la ventaja de suministrar dichos compuestos en forma concentrada (Sebranek *et al.*, 2012).

La adición de un concentrado natural de polvo de apio (que contiene 3% de nitrato, lo cual significará 30,000 ppm) a la carne a una concentración típica de 0.3%, resulta en 90 ppm de nitrito en la mayoría de los productos cárnicos curados. Cuando se agrega un vegetal en polvo al 0.2%, significa que hay en el producto 69 ppm de nitrato, mientras que en una concentración de 0.4% habrá 138 ppm. Como ya se mencionó, el nivel máximo permitido es de 156 ppm de nitrito, sin embargo, aun cuando haya el 100% de conversión, es difícil determinar la cantidad de nitrato que se convierte a nitrito, ya que la reacción es muy rápida (Sebranek *et al.*, 2012).

1.1.4 Estudios de usos de nitritos y sustitución con fuentes naturales

Existe gran interés entre los consumidores por lo natural, orgánico y saludable en los alimentos, impulsando la demanda de los productos no adicionados con nitritos sintéticos (Sindelar *et al.*, 2007a). Así mismo, la ley de producción de alimentos orgánicos en Estados Unidos establece una lista de sustancias permitidas y prohibidas que pueden ser usadas como ingredientes en los alimentos etiquetados como orgánicos; en esta lista se prohíbe específicamente la adición de nitritos o nitratos (Sebranek *et al.*, 2012). El problema es que el nitrito adicionado directamente o en forma indirecta derivado de nitrato, es una sustancia única, distintiva de los productos cárnicos curados, para la cual no hay un reemplazo. Por lo tanto, se necesitan cambios significativos en la formulación y proceso de los productos cárnicos curados, para elaborar productos naturales u orgánicos y así ofrecer a los consumidores productos con las mismas características que los convencionales (Sebranek *et al.*, 2007b). Una alternativa es

usar vegetales como fuentes de nitritos debido a que hay vegetales con un contenido significativo de nitrato, que cuando son adicionados en un nivel suficiente junto con un reductor de nitrato o un cultivo iniciador que reduzca el NO₃⁻ a NO₂⁻, pueden proveer una cantidad adecuada de nitritos para completar las reacciones del proceso de curado natural (Sindelar *et al.*, 2007a). De todos ellos, el apio en polvo, con un contenido de unos 27.500 mg/kg, suele ser el más utilizado por su menor influencia en el color y sabor del producto final (Sebranek *et al.*, 2007).

Aunque diversos autores han demostrado la aplicabilidad de los VHV en embutidos fermentados (Magrinyà *et al.*, 2009; Tsoukalas *et al.*, 2011) y en salchichas cocidas (Magrinyà *et al.*, 2012; Terns *et al.*, 2011), el uso de estos sustitutos de las sales nitrificantes presenta principalmente tres inconvenientes: 1) el nitrato debe reducirse a nitrito para ejercer su actividad y lograr un curado óptimo (Ternset *et al.*, 2011); 2) es difícil cuantificar el nitrito formado debido a su rápida reacción con otras moléculas de la matriz cárnica (Krause *et al.*, 2011); y los antecedentes bibliográficos los niveles de VHV requeridos para la obtención de productos con características sensoriales agradables son menores que los necesarios para el control de los microorganismos, lo que puede comprometer la seguridad de estos productos si no se alcanzan unos de nitrito suficientes (Krause *et al.*, 2011; Sindelar *et al.*, 2007; Jackson *et al.*, 2011; Schrader *et al.*, 2009).

De acuerdo a más estudios, los resultados obtenidos en el trabajo realizado por Suárez *et al.*, (2011), muestran que la utilización de especias como apio, orégano, cilantro y perejil puede contribuir a la reducción de nitratos y nitritos en una formulación de salchicha Bratwurst. Mientras que los tratamientos que coinciden con la mezcla de especias y están elaborados a base de carne de bovino y con una mezcla de bovino y cerdo respectivamente, fueron los de mayor preferencia, esto indica que el apio y orégano en salchicha Bratwurst presenta mejor aceptación, frente al cilantro y perejil.

Un aspecto fundamental para considerar a los vegetales como una alternativa al curado convencional, es la adición de cultivos iniciadores, ya que éstos propiamente son los responsables de reducir el nitrato proveniente de los vegetales a nitrito. Los cultivos iniciadores han sido empleados para garantizar la seguridad, contribuir al color y sabor y extender la vida útil del producto. Estos cultivos generalmente son bacterias ácido lácticas como *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus sakei*, *Staphylococcus carnosus* y/o *Staphylococcus xylosum*. (Morot-Bizot *et al.*, 2006).

2.1 EMBUTIDOS

Productos cárnicos curados Los productos cárnicos son ampliamente consumidos en el mundo. Existe una gran variedad de productos cárnicos, los cuales pueden ser crudos o cocidos y éstos a su vez pueden ser curados o no. El término curado, que es ampliamente usado, está relacionado con la adición de sales de nitrito o nitrato, cloruro de sodio y otros ingredientes a la carne procesada que se utilizan para transformar químicamente las propiedades físicas, químicas y a veces microbiológicas de la carne (Sebranek *et al.*, 2007a). Sin embargo, es la adición de nitrito la que da lugar a las características distintivas de la carne curada como color, sabor y olor (Sebranek *et al.*, 2007b).

2.1.1 Tipos de embutidos

Los embutidos (también conocidos como salchichas o henchidos) están crudos o listos para comer. Pueden estar hechos de carne roja (por ejemplo, carne de res, cerdo, cordero

o ternera), aves (como pavo o pollo) o combinados. Los embutidos sin cocinar incluyen aquellos frescos (en grandes tamaños, en croquetas o enlaces) y los embutidos ahumados. Para prevenir enfermedades transmitidas por los alimentos, los embutidos sin cocinar que contienen carne molida de res, de cordero, de cerdo, o de ternero deben cocinarse a 160°F (71.1 °C). Los embutidos sin cocinar que contengan carne molida de pavo y de pollo deben ser cocinados a 165°F (73.9 °C). Los embutidos listos para comer se encuentran como secos, semi – secos y/o cocidos. Los embutidos secos pueden estar ahumados, sin ahumar o cocidos. Los embutidos semi – secos son usualmente calentados en ahumadores hasta cocinarlos completamente y secarlos parcialmente. Los embutidos cocidos (por ejemplo, bolonia y embutidos “frankfurters”) son cocidos y pueden también ahumarse (USDA 2011).

Los embutidos cárnicos se elaboran a partir de matrices proteicas coloidales complejas, en las cuales, la procedencia y las propiedades de las proteínas utilizadas definen las características funcionales de los productos finales. Con el objeto de reducir los costos de producción, en la formulación de algunos productos cárnicos, además de las proteínas de la carne, una variedad de ingredientes no cárnicos se ha utilizado como material de relleno, aglutinante, diluyente y extensor, para mejorar las características físicas, la nutrición y el sabor, para así complementar un aporte proteico y funciona (Tahmasebi, 2016).

Embutidos escaldados: son aquellos que se elaboran a partir de la mezcla de carne fresca y especias, posteriormente se someten a un tratamiento térmico que se realiza con agua caliente a una temperatura de 75 °C, durante un intervalo de tiempo que se encuentra en un rango de 15 a 30 minutos, con el fin de reducir la carga microbiana, ayudar a la conservación y coagular las proteínas. Algunos ejemplos de estos embutidos son: mortadela, salchicha tipo Frankfurt, jamón cocido (Herrera 2014).

2.1.2 Salchicha

La salchicha es un embutido fresco de pasta fina, la materia prima utilizada para su elaboración es carne de cerdo, carne de res, grasa de cerdo, especias y otros condimentos; la pasta de salchicha se embute en tripa artificial, es cocida y en algunos casos ahumada. El producto final es de color rosado y es atado en porciones de 12 cm de largo (Barco 2008).

Existen en el mercado algunas variedades de salchicha, como son: salchicha tipo viena, salchicha tipo Frankfurt, salchicha tipo hot dog y salchicha de pollo los procesos de elaboración son similares, lo que varía es el tipo de materia prima utilizada, calibre de tripa y tiempos de cocción (Barco 2008).

Embutidos como las salchichas son populares entre la mayor parte de la población y son consumidos en grandes cantidades en muchos países. Desde el punto de vista de elaboración y calidad, debe elegirse la óptima combinación de materias primas considerando la calidad del producto, la seguridad y la vida útil. La calidad de la carne, especie de animal y fuentes de grasa muestran una gran variabilidad, tanto en aspectos de bioquímica como en propiedades funcionales (Dingstad *et al.*, 2005).

Atributos sensoriales, como color, sabor y firmeza son importantes para la aceptación de los consumidores (Sivertsen *et al.*, 2002). El color de la salchicha es tradicionalmente

limitado por la relación entre la carne de res y la de cerdo, donde la carne de vacuno en general, contiene más cantidad del pigmento mioglobina. La firmeza es tradicionalmente limitada por la composición bioquímica (contenido de proteínas, contenido de materias grasas, etc.) que influye en la percepción sensorial de salchichas, de todas formas la posibilidad de variación de la composición está limitada por restricciones legales (Dingstad *et al.*, 2005).

2.1.2.1 Concepto

Es el producto procesado, cocido, embutido, elaborado con ingredientes y aditivos de uso permitido, introducido en tripas autorizadas, de diámetro máximo de 45 mm y sometido a tratamiento térmico ahumado o no ahumado (Ministerio de salud República de Colombia, 1983).

Las salchichas se clasifican como embutidos escaldados y en su elaboración se pueden usar carnes de diverso origen, lo que determina su calidad y precio. Se prefiere carne recién sacrificada de novillos, terneras y cerdos jóvenes y magros, en vista que este tipo de carne posee fibra tierna y se aglutina y amarra fácilmente. Estos productos son de consistencia suave, elevada humedad y duración media (Llamas, 2007). Los avances en la elaboración de salchicha, constituyen ahora uno de los rubros más dinámicos en la industria cárnica y es de complejidad si se tiene en cuenta que en la actualidad se elaboran más de 1500 tipos de salchichas para el mercado mundial (Llamas, 2007).

Según Fretes (2010), se establece algunos de los ingredientes más comunes utilizados en la elaboración de embutidos y salchichas:

a. *Carne*. Es el ingrediente principal en la elaboración de embutidos se utiliza generalmente de res, cerdo o pollo, aunque se puede utilizar también de otros animales como ovinos o pavo.

b. *Grasa*. Esta viene incorporada ya en la carne o también se la puede adicionar en forma de tocino, corresponde a uno de los ingredientes más importantes al aportar características que favorecen su calidad sensorial.

c. *Sal*. Se utiliza en concentraciones del 1 al 5%, en los embutidos madurados la concentración de sal es mayor que en los frescos. Se la adiciona como resaltador del sabor, conservante, solubilizador de proteínas y para aumentar la capacidad de retención de agua de las proteínas.

d. *Azúcares*. Entre los más utilizados están la sacarosa, lactosa, dextrosa y glucosa, son usados para dar sabor y opacar el sabor a sal, además en embutidos fermentados proporciona energía a las bacterias ácido lácticas para la generación de ácido láctico.

e. *Nitratos y nitritos*. Proporcionan características organolépticas al embutido como la presencia de una coloración rosa característica, además de evitar el desarrollo de *Clostridium botulinum*.

f. *Condimentos y especias*. El término condimento se aplica a todo ingrediente que aisladamente o en combinación confiera sabor a los productos alimenticios, para sazonar los embutidos se usan mezclas de diferentes especias. Estas especias generalmente no superan el 1%.

2.1.2.2 Salchicha Frankfurt

Es el producto que a través de escaldar, freír, hornear u otras formas de tratamiento con calor, hecho con materia cruda triturada carne de cerdo, vacuno o sus mezclas y grasa de cerdo, a la que se añade sal, condimentos, aditivos y agua potable (o hielo) y las proteínas a través del tratamiento con calor, son más o menos coaguladas, para que el producto eventualmente otra vez calentando se mantenga consistente al ser cortado, finísimamente picadas e introducidas en tripa natural o artificial de 18-28 milímetros de diámetro como máximo, sufriendo el proceso de ahumado y después el de escaldado (Freire 2011).

OBJETIVOS

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la efectividad de la sustitución parcial y total de nitritos por apio en polvo en la calidad fisicoquímica, microbiológica y sensorial de la salchicha tipo Frankfurt.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Evaluar el efecto de la sustitución del nitrito de sodio por apio en polvo en la calidad fisicoquímica y sensorial de la salchicha tipo Frankfurt.
- Determinar el efecto de la sustitución del nitrito de sodio en la carga microbiológica de la salchicha Frankfurt.
- Determinar la relación óptima de apio en polvo en la elaboración de salchicha tipo Frankfurt.

METODOLOGIA

3. METODOLOGIA

3.1 EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA SUSTITUCIÓN DEL NITRITO DE SODIO POR APIO EN POLVO EN LA CALIDAD FISICOQUÍMICA Y SENSORIAL DE LA SALCHICHA TIPO FRANKFURT

3.1.1 Localización

La investigación se llevó a cabo en la Universidad de Pamplona/Colombia, sede Pamplona, ubicada en el bloque AJ o edificio Antonio José Betancourt Walker, contándose con una temperatura ambiente promedio de 17-20°C y humedad relativa de 70 -60%.

3.1.2 Material vegetal

Se adquirieron 2 kg de apio en polvo de grado alimentario a través de la empresa de TECNAS S.A, sede Medellín, la cual se especializa en el diseño, desarrollo, fabricación, maquila y venta de productos, ingredientes y aditivos para la industria alimentaria en general.

3.1.3 Materia cárnica

11,5 kg de carne de cerdo, 3 kg de carne de pollo y 4 kg de grasa fueron adquiridos en la charcutería Almeida y en la plaza de mercado central, en la ciudad de Pamplona, Norte de Santander, para producir 24 kg de producto terminado.

3.1.4 Elaboración de la salchicha tipo Frankfurt

El proceso de elaboración de la salchicha se llevó a cabo en cuatro baches de 6Kg cada uno, conforme el diagrama de flujo que se presenta en la figura 2.

Molido: las carnes de cerdo y pollo fueron molidas en un molino tipo industrial en un disco de 8 mm de diámetro, al igual que la grasa.

Cuteado: se dispuso la carne de cerdo y pollo molida en la tolva del cutter marca (CM 14), con capacidad para 13 Kilogramos, adicionando en primer lugar los fosfatos, la sal y la sal nital, o en su defecto apio en polvo, con la primera parte del hielo de la formulación, para facilitar la solubilidad de las proteínas miofibrilares. Seguidamente se incluyó el almidón de papa, los condimentos y la pimienta junto con la segunda parte de hielo, controlando la temperatura de la emulsión. Finalmente, se incluyó la grasa y la carragenina junto con la última parte del hielo. Todas las materias primas requeridas para cada una de las formulaciones se presentan en la tabla 2 y 3.

Embutido: la pasta obtenida se dispuso en la embutidora maraca (Ramon) con capacidad de 20 litros realizando una purga para expulsar el aire contenido dentro de la pasta.

Efectividad de la sustitución parcial y total de nitritos por apio en polvo (*arracacia xanthorrhiza bancroft*) en la calidad fisicoquímica, microbiológica y sensorial de la salchicha tipo Frankfurt

Finalmente, se embutió usando tripa corea a base de colágeno de 30 mm de diámetro, evitando en todo momento las formaciones de espacios de aire en el producto.

Atado: una vez embutida la pasta en la funda, se procedió a atar con una longitud de 12 cm aproximadamente.

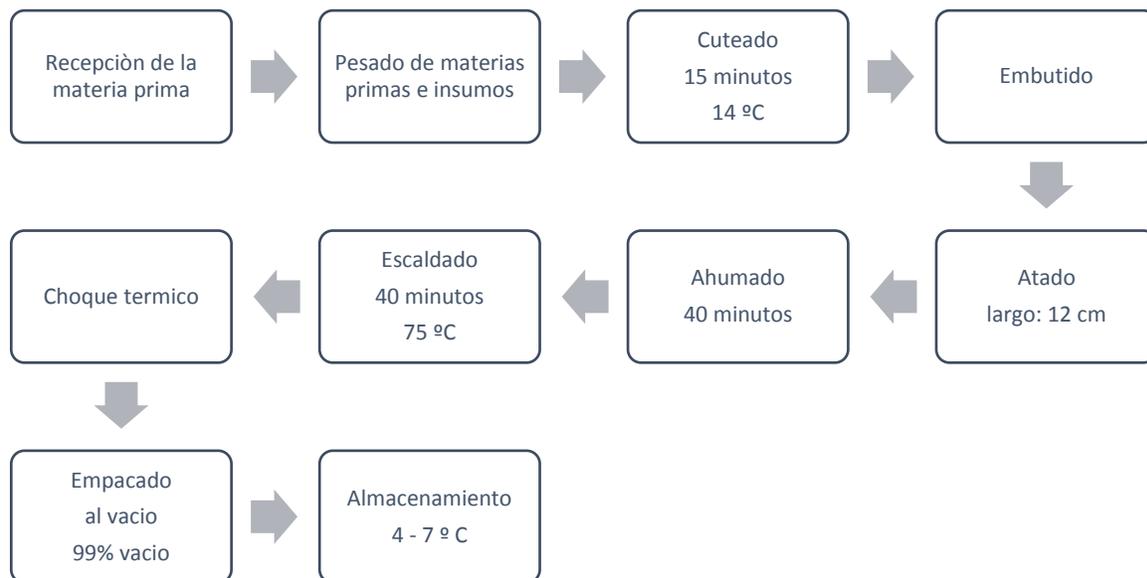
Ahumado: se dispuso las salchichas sobre los escabiladeros y fue llevada al ahumador artesanal dejándose por un tiempo de 45 minutos.

Escaldado: finalizado el tiempo de ahumado, la salchicha se llevó a escaldado en una marmita marca (MADIPSA) con capacidad de 100 litros tipo industrial, por un tiempo de 40 minutos, con el fin de evitar el deterioro de la misma.

Enfriamiento: las salchichas escaldadas fueron sometidas a un proceso de choque térmico empleando agua.

Empacado: se adecuaron las salchichas separándolas entre sí y empacando en una empacadora marca (CiTalsa) al vacío en bolsas de polietileno de alta densidad, para posteriormente llevarlas a almacenamiento de refrigeración, con el fin de realizar el seguimiento durante las 5 semanas.

Figura 2. Diagrama de flujo para la elaboración de salchicha tipo Frankfurt



3.1.4.1 Formulaciones de la salchicha Frankfurt y sustitución de nitritos por apio en polvo

En la tabla 2 se muestra la formulación base (patrón) que se empleó para la elaboración de la salchicha tipo Frankfurt. Partiendo de esta, se elaboraron 4 baches de 6 kg cada uno, con dosificaciones de apio en polvo (tabla 3) en reemplazo de la sal de nitrito,

considerándose 0/100 (D1), 50/50 (D2), 75/25 (D3) y 100/0 (D4). La investigación generó un experimento factorial de 1x4.

Tabla 2. Formulación para la elaboración de salchicha Frankfurt

Materia prima	Dosificación (%)
Nitral	0,27
Sal	0,60
Carne de pollo	11,98
Carne de cerdo	47,92
Grasa de cerdo	16,17
Hielo	16,77
Almidón de papa	1,80
Carragenina	2,10
Condimento	1,20
Pimienta	0,18

Fuente: el autor

Las formulaiciones de las salchichas se establecieron manteniendo la relación grasa/proteína (G/P) dentro del rango de 4.1, la relación de humedad/proteína (H/P) en 1,8 con el fin de asegurar la estabilidad de la emulsión, así como el control de la temperatura en los procesos de molido, cutedado y escaldado.

Tabla3. Sustitución de nitritos por apio en polvo

Sustitución	Porcentaje de utilización del apio vs nitrito (%)
D1	0/100
D2	50/50
D3	75/25
D4	100/0

Fuente: el autor

3.1.5 Determinación de la calidad fisicoquímica de la salchicha tipo Frankfurt

Las cuatro salchichas obtenidas de las formulaiciones consideradas en este estudio fueron analizadas por triplicado, en lo referente a humedad, nitrito residual y color, durante las semanas 1, 2, 3 y 4 de almacenamiento empacada al vacío bajo refrigeración (4°C).

3.1.5.1 Determinación de humedad de la salchicha tipo Frankfurt

Se empleó una balanza de humedad LEXUS. Para esta determinación se requirió de la puesta a punto de la técnica empleando 3 gramos de muestra, con el fin de establecer el tiempo de exposición requerido a la temperatura de 110°C. Se tomaron datos de peso y humedad, por un tiempo total de 90 minutos en un intervalo de 2 minutos. Una vez

obtenido el tiempo necesario para la determinación de la humedad de la salchicha Frankfurt, se determinó el contenido de humedad (NTC 1663, 2009) de las salchichas, empujándose 3 gramos de cada una de las salchichas, a una temperatura de 110 °C.

3.1.5.2 Determinación del nitrito residual de la salchicha tipo Frankfurt

La cuantificación de nitritos, de las muestras de salchichas, se realizó de acuerdo a la norma NTC 4565, la cual especifica el método de referencia para la determinación espectrofotométrica de nitrito residual en carne y productos cárnicos, cuyo principio se basa en la extracción de una porción de muestra con agua caliente, precipitación de las proteínas y filtración. En la presencia de nitrito, el producto filtrado obtenido desarrolla un color rojo por la adición de diclorhidrato de N-2naftiletildiamina, el cual fue evaluado a una longitud de onda de 538 nm.

3.1.5.2.1 Soluciones para la precipitación de proteínas

Para la precipitación de las proteínas de las muestras de salchichas tipo Frankfurt se prepararon 2 reactivos y una solución de Borax saturada. La elaboración del reactivo I se llevó a cabo disolviendo 106 g de ferrocianuro potásico trihidratado [$K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$] en agua destilada donde se diluyó en un balón aforado de 1000 ml, hasta completar volumen. Para la preparación del reactivo II se disolvieron 22 g de acetato de cinc dehidratado [$Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$] y 3 ml de ácido acético glacial en agua destilada en un balón aforado de 100 ml hasta completar volumen. Finalmente se preparó la solución de bórax saturada disolviendo 5 g de tetraborato sódico decahidratado ($Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$) en 100 ml de agua destilada tibia hasta completar volumen dejando reposar a temperatura ambiente.

3.1.5.2.2 Nitrito de sodio (soluciones normalizadas)

Para la realización de las soluciones normalizadas de nitrito de sodio, las cuales fueron empleadas para la realización de la curva de calibración, se disolvió 1 g de nitrito de sodio ($NaNO_2$) en agua, diluyéndolo en un balón aforado de 100 ml. De la cual se tomó alícuota de 5 ml de la solución la cual fue transferida a un balón aforado de 1000 ml completando volumen con agua destilada.

Posteriormente se preparó una serie de soluciones estándar, donde se tomó con una pipeta 5 ml, 10 ml y 20 ml de esta solución, los cuales fueron vertidos en balones aforados de 100 ml, completando volumen con agua destilada. Estas soluciones normalizadas contenían respectivamente 2,5 µg, 5,0 µg y 10,0 µg de nitrito de sodio por mililitro.

3.1.5.2.3 Soluciones para el desarrollo del color

Para la determinación del color (absorbancias) de las salchichas tipo Frankfurt, se prepararon 3 soluciones con el fin de poder hacer la correspondiente lectura en el espectrofotómetro. Donde la solución I se preparó mediante calentamiento en un baño de maría, disponiendo agua se disuelven 0,2 g de sulfanilamida ($NH_2C_6H_4SO_2NH_2$) en 50 ml de agua, dejándose enfriar y posteriormente adicionándose 10 ml de solución de ácido clorhídrico concentrado en un balón aforado de 100 ml hasta completar volumen. La solución II se elaboró adicionando 0,25 g de dihidrocloruro de 1 N naftiletildiamina ($C_{10}H_7NHCH_2CH_2NH_2 \cdot 2HCl$) en agua destilada, donde se diluyó en un balón aforado de 250 ml hasta completar volumen. Finalmente se preparó la solución III adicionando 44,5

ml de ácido clorhídrico concentrado en un balón aforado de 100 ml hasta completar volumen con agua destilada.

3.1.5.2.4 Preparación del ensayo

Se realizó la preparación del ensayo moliendo 10 gramos con aproximación a 0,001 g de la muestra de las salchichas tipo Frankfurt, posteriormente se transfirió a un Erlenmeyer de 250 ml. Para la realización de la desproteínización se agregó 5 ml de la solución saturada de bórax y 100 ml de agua destilada a 70 °C, en un balón aforado de 250 ml, llevando a baño de maría por 15 min a ebullición con agitación constante dejando enfriar a temperatura ambiente. Después de enfriar el ensayo se agregaron 2 ml de reactivo I y 2 ml de reactivo II, mezclando muy bien después de cada adición completando el volumen con agua destilada, dejando reposar durante 30 min a temperatura ambiente. Por último se decantó cuidadosamente el líquido sobrenadante, filtrando a través de papel de filtro acanalado para obtener una solución clara. Repitiendo este procedimiento para cada una de las salchichas tipo Frankfurt.

Para la medición del color se transfirió una porción de la alícuota del filtrado de 10 ml, a un balón aforado de 100 ml, agregando agua destilada hasta obtener un volumen aproximado de 60 ml. Posteriormente se agregaron 10 ml de solución I, seguidos por 6 ml de solución III, mezclando seguidamente después de la adición de cada reactivo dejándose reposar durante 5 min a temperatura ambiente, en la oscuridad. Pasado este tiempo se agregaron 2 ml de la solución II, se dejó reposar la solución por un tiempo de 8 min a temperatura ambiente en la oscuridad, completando volumen con agua destilada respectivamente. Finalmente se midió la absorbancia de la solución de cada una de las salchichas tipo Frankfurt en una celda de 10 cm, donde se extrajo una alícuota de 3 ml de cada una de las soluciones. Empleando un espectrofotocolorímetro, a una longitud de onda de aproximadamente 538 nm, para la lectura de la absorbancia empleando una determinación de la muestra en blanco. Determinando así el contenido de nitrito residual empleando la ecuación indicada en la norma NTC 4565 (ecuación 1).

La curva de calibración se realizó tomando empleando concentraciones diferentes de nitrito de sodio de 2,5 ppm, 5,0 ppm, 10 ppm, valoradas por espectrofotometría a una longitud de onda de 538 nm empleándose como blanco agua y los reactivos empleados. A partir de los resultados obtenidos se generó la curva de calibración y la ecuación de la recta para determinar las concentraciones de nitrito residual en las salchichas. La ecuación empleada para la determinación del nitrito residual se detalla a continuación, siguiendo lo indicado en la norma NTC 4565.

$$\text{Ecuación 1. } NaNO_2 = \frac{C*2000}{m*v}$$

donde:

m = es la masa, en g, de la porción de ensayo.

V = es el volumen, en ml, de la alícuota del filtrado tomado para la determinación fotométrica.

c = es la concentración de nitrito de sodio, en µg/ml, leídos de la curva de calibración, que corresponde a la absorbancia de la solución preparada a partir de la muestra para ensayo.

3.1.5.3 Determinación de color en escala CIEL*a*b* de la salchicha tipo Frankfurt

Para la determinación del color se empleó el método aplicado por Hleap (2015), para las salchichas tipo Frankfurt, para lo cual se utilizó un espectrofotocolorímetro marca X-Rite, Modelo: SP-62, empleando el iluminante D65 y el observador de 2° (equipo calibrado con una placa con valores de referencia $Y = 89,5$; $x = 0,3176$ y $y = 0,334$). Las mediciones de color se expresaron en términos de luminosidad L^* ($L^* = 0$ para el negro y $L^* = 100$ para el blanco), y los parámetros de cromaticidad a^* (verde [-] y rojo [+]) y b^* (azul [-] y amarillo [+]).

Los resultados obtenidos para coordenadas de color CIEL*a*b* se expresaron como la media aritmética de las 3 repeticiones llevadas a cabo para cada una de las muestras.

3.1.6 Evaluación sensorial de la salchicha tipo Frankfurt

Área física y horario

La evaluación sensorial se realizó en el laboratorio de análisis sensorial de la Universidad de Pamplona, ubicado en edificio Rocherau, en el área de cata para consumidores, en el horario de 9 a 11 am.

Preparación y presentación de las muestras

Las muestras de salchichas tipo Frankfurt fueron peladas, cortadas en trozos de 1,5 cm y presentadas en platos de porcelana blanca, cada una codificada con números aleatorios de tres cifras, tal y como se describe en la tabla 4.

Tabla 4. Codificación de muestras

Muestra	Código
Salchicha 100% nitrito (D1)	464
Salchicha 75/25 apio/nitrito en polvo (D2)	374
Salchicha 50/50 apio/nitrito en polvo (D3)	586
Salchicha 100 apio en polvo (D4)	201

Sustancia de arrastre y utensilios

Se empleó agua destilada y manzana verde dispuesta ésta última en tajos sobre platos de porcelana blanca, con el fin de retirar las sensaciones residuales de sabor entre muestras.

Tipo de juez, método y ficha de cata

Un panel de 30 jueces consumidores de edades entre 19 – 27 años evaluaron a partir del método hedónico de medición del grado de satisfacción, los atributos de color, sabor y propiedades de textura, utilizando una escala hedónica verbal de 5 puntos (anexo 4), en donde:

- Me desagrada mucho = 1
- Me desagrada un poco = 2
- Ni me gusta, Ni me disgusta = 3
- Me gusta mucho = 4
- Me gusta muchísimo = 5

3.2 DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE LA SUSTITUCIÓN DEL NITRITO DE SODIO EN LA CARGA MICROBIOLÓGICA DE LA SALCHICHA FRANKFURT

El efecto de la sustitución del nitrito de sodio por apio en polvo fue evaluada considerando la carga microbiana, de acuerdo a lo indicado en la Norma Técnica Colombiana, en donde se especifica necesario para la salchicha el recuento total aerobios (NTC 4519, 2009), coliformes totales y fecales, utilizado medio VRBL+MUG (NTC 4458, 2007), *Staphylococcus aureus* (NTC 4779, 2007), esporas del *Clostridium* spp. (NTC 4834, 2000) y *Salmonella* spp. (NTC 4574, 2007).

Para la detección de *Salmonella* spp, se usó agua peptonada, como medio de pre-enriquecimiento no selectivo; Rappaport, como primer medio de enriquecimiento selectivo y, Agar XLD, como medio sólido selectivo en placa, para aislamiento.

Se utilizó el método de recuento en placa por dilución en superficie, empleando el medio de cultivo correspondiente para cada caso.

El análisis de bacterias se determinaron tomando 10 g de salchicha los cuales fueron mezclados en 90 ml de agua de peptona tamponada y homogeneizados por un tiempo de 60 segundos en un Stomacher 400, obteniéndose la dilución madre a partir de la cual, se realizaron las diluciones requeridas.

La inoculación se realizó tomando 1 ml de la dilución por duplicado en 15 – 20 ml de agar según la flora a evaluar e incubando a la temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 1$, por un periodo de 6 días, para aerobios mesófilos totales, coliformes totales y fecales, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium* spp. y *Salmonella* spp a una temperatura de $37^{\circ}\text{C} \pm 1$, por un periodo de 48 horas. Respectivamente. El resultado se expresó como Log 10 UFC/g.

Los resultados de los análisis microbiológicos se analizaron según los requisitos microbiológicos para productos cárnicos procesados cocidos de la normativa NTC1325, para establecer si las salchichas Frankfurt elaboradas bajo las cuatro formulaciones cumplían o no con los límites establecidos por dicha norma (tabla 5).

Tabla 5. Requisitos microbiológicos para productos cárnicos procesados cocidos

Requisito	n	m	M	c
Recuento de aerobios mesófilos, UFC/g	3	-	100000	1
Recuento de coliformes, UFC/g	3	100	500	1
Recuento de <i>Staphylococcus aureus</i> coagulasa p., UFC/g	3	<100	-	-
Recuento de esporas <i>Clostridium</i> sulfito reductor, UFC/g	3	<10	100	1
Detección de <i>Salmonella</i> , /25 g	3	Ausencia	-	-
Detección de <i>Listeria Moocytogenes</i> , /25 g	3	Ausencia	-	-
Recuento de <i>Escherichia Coli/g</i>	3	<10	-	-
en donde n = número de muestras que se van a examinar m= índice máximo permisible para identificar nivel de buena calidad M= índice máximo permisible para identificar novel aceptable de calidad c= número de muestras permitidas con resultados entre m y M				

3.3 DETERMINACIÓN DE LA RELACIÓN OPTIMA DEL APIO EN POLVO PARA LA ELABORACIÓN DE SALCHICHA TIPO FRANKFURT

Después de la determinación de los parámetros fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales de la salchicha tipo Frankfurt y al realizar los respectivos análisis y comparaciones de los mismos, se determinó cual o cuales de las concentraciones de apio en polvo empleadas, en la elaboración de la salchicha, muestra los parámetros de calidad similares a los obtenidos con el uso de la sal de nitrito, ya que se busca la elaboración de una salchicha tipo Frankfurt, en donde se emplee una fuente natural de nitrito que pueda ser eficiente en relación a la sal sintética. Para ello todos los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente empleando el programa SPSS versión 24, a partir de análisis descriptivos, análisis de la varianza (ANOVA) y análisis de fisher (DMS) a un nivel de significancia del 0,05, con el fin de determinar el efecto de la sustitución del nitrito por apio en polvo, así como determinar la cantidad óptima del uso de apio en polvo para la elaboración de salchicha tipo Frankfurt que reemplace significativamente la eficiencia de la sal nitro.

Por otra parte, y considerando como variable de respuesta las semanas de análisis se llevó a cabo análisis ANOVA y DMS con el fin de establecer en que semana se presenta una variación significativa en las características fisicoquímicas de la salchihca frankfurt durante el almacenamiento.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4. RESULTADOS Y DISCUSION

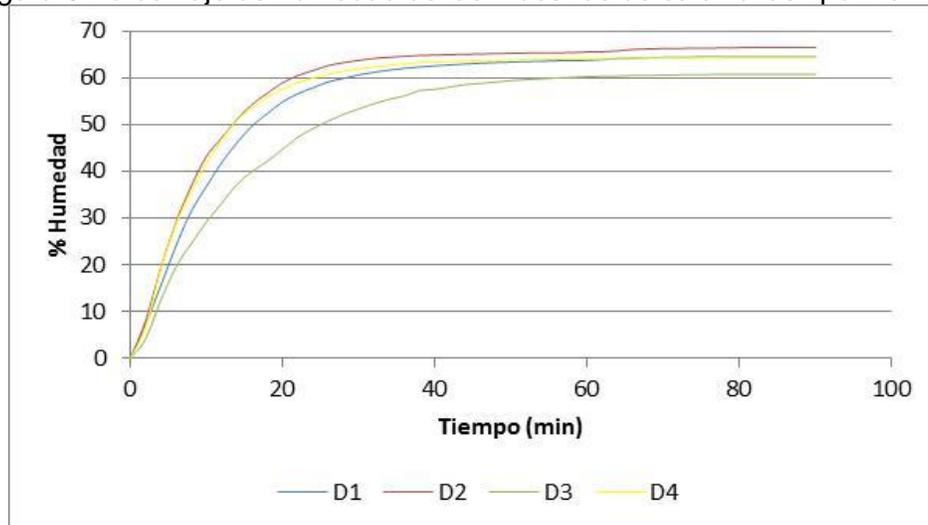
A continuación se muestran los resultados fisicoquímicos y sensoriales obtenidos de las salchichas tipo Frankfurt elaboradas con la adición de apio en polvo en diferentes concentraciones y evaluadas durante cinco (5) semanas.

4.1 EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA SUSTITUCIÓN DEL NITRITO DE SODIO POR APIO EN POLVO EN LA CALIDAD FISICOQUÍMICA Y SENSORIAL DE LA SALCHICHA TIPO FRANKFURT

En la figura 3 se presenta los resultados obtenidos en la determinación de humedad para el día 1 en las salchichas tipo Frankfurt, elaboradas con las cuatro sustituciones de nitrito por apio en polvo.

Los valores de humedad obtenidos en las salchichas se encuentran dentro de lo establecido por la norma NTC 1325, la cual contempla un máximo de humedad del 67%. Considerando reportes como los realizados por Montañez y Pérez (2007), quienes elaboraron salchichas Frankfurt con sustitución de harina de trigo por harina de quinua, se evidencia en las salchichas elaboradas en este estudio presentan un mayor porcentaje en humedad, lo cual se debe a que en las formulaciones se empleó harina de papa y no harina de trigo, siendo ésta última la que de acuerdo a estos autores, incide en una mayor retención de humedad por el componente gluten presente en la harina de trigo y por ende, genera una menor presencia de agua libre. Estos resultados demuestran la importancia del uso de harinas diferentes a la de trigo, ya que la humedad influye directamente en la textura periférica y en la jugosidad de la salchicha ocasionando una disminución de ésta última.

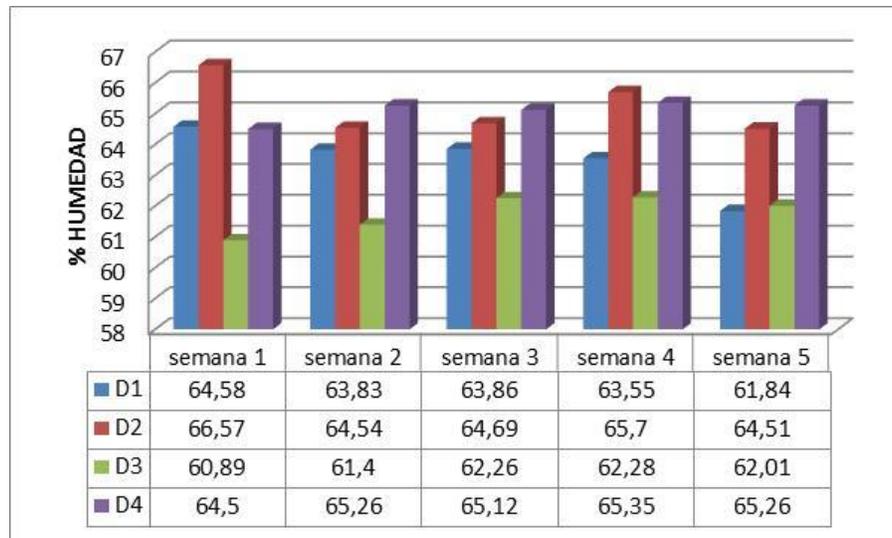
Figura 3 Porcentaje de humedad de las muestras de salchichas tipo Frankfurt



D1(100% nitral), D2(50:50 apio/nitral), D3(75:25 apio/nitral), D4(100% apio)

La figura 4 muestra la variabilidad del porcentaje de humedad de las muestras de salchicha tipo Frankfurt durante las cinco (5) semanas de almacenamiento a temperatura de refrigeración (4 – 7 °C), donde se puede observar que la salchicha elaborada con 100% de nitrito perdió humedad durante el almacenamiento, caso contrario de las muestras D3 y D4.

Figura 4. Variabilidad del porcentaje de humedad de las salchichas tipo Frankfurt durante el período de almacenamiento en refrigeración



D1(100% nitral), D2(50:50 apio/nitral), D3(75:25 apio/nitral), D4(100% apio)

Al no emplear harina de apio en la elaboración de la salchicha Frankfurt (D1), se obtiene una mayor disminución de la humedad en el producto almacenado durante las 5 semanas. Los resultados demuestran que la sustitución de la sal nitral por apio en polvo permite mantener estable el componente de humedad en las salchichas Frankfurt durante las 5 semanas de almacenamiento. Estos resultados concuerdan con autores como Mielnik *et al.*, (2002).

La tabla 6 muestra los resultados obtenidos del color con respecto al parámetro de luminosidad (L*) de las salchichas tipo Frankfurt, durante las cinco (5) semanas de almacenamiento, donde se puede observar que todas las formulaciones empleadas para la elaboración de las salchichas presentan variación significativa con respecto al tiempo de almacenamiento, identificándose que la luminosidad se incrementa durante la refrigeración.

Tabla 6. Resultados de L* (Luminosidad) de las salchichas tipo Frankfurt durante el almacenamiento

Semanas	L*			
	D1	D2	D3	D4
1	75,42 ± 0,577 ^a	74,98 ± 0,939 ^{ac}	77,45 ± 0,185 ^{ac}	75,95 ± 0,075 ^a
2	75,89 ± 0,495 ^a	74,02 ± 0,349 ^b	75,44 ± 0,415 ^b	75,56 ± 1,260 ^{ac}
3	76,87 ± 0,215 ^b	73,87 ± 0,125 ^b	75,69 ± 0,120 ^b	75,96 ± 0,085 ^a
4	77,13 ± 0,124 ^b	75,32 ± 0,095 ^a	77,19 ± 0,012 ^a	77,10 ± 0,277 ^{bd}
5	76,99 ± 0,793 ^b	74,17 ± 0,080 ^{bc}	77,71 ± 0,090 ^c	77,00 ± 0,204 ^{acd}
ρ – Valor	0,003	0,011	0,000	0,031

D1(100% nitral), D2(50:50 apio/nitral), D3(75:25 apio/nitral), D4(100% apio)

n= 3; ρ – Valor ≤ que 0,05 existen diferencias significativas. a, b, c letras diferentes entre filas existen diferencias significativas.

Los resultados obtenidos en las salchichas tipo Frankfurt indican que la luminosidad del color se vió afectada por el tiempo de almacenamiento mostrándose en el aumento de los valores de luminosidad (L*), salvo en el caso de la salchicha en cuya formulación se sustituyó el 50% de nitrito por apio en polvo (D2), la cual presenta pérdida de la luminosidad significativa desde la segunda semana de almacenamiento en refrigeración.

La tabla 7 muestra los resultados obtenidos con respecto al parámetro del tono (a*) de las salchichas tipo Frankfurt y la influencia del tiempo de almacenamiento.

Tabla 7. Resultados del tono del color a* (+rojo/-verde) de las salchichas tipo Frankfurt con respecto al almacenamiento

Semanas	a*			
	D1	D2	D3	D4
1	10,27 ± 0,087 ^a	10,19 ± 0,543 ^a	9,73 ± 0,085 ^a	6,29 ± 0,100 ^{ac}
2	11,31 ± 0,080 ^b	10,41 ± 0,249 ^a	9,71 ± 0,140 ^a	5,92 ± 0,112 ^b
3	10,38 ± 0,052 ^{ac}	10,39 ± 0,086 ^a	9,72 ± 0,064 ^a	6,38 ± 0,028 ^{ac}
4	10,39 ± 0,060 ^{bc}	9,50 ± 0,124 ^b	9,25 ± 0,050 ^c	6,07 ± 0,049 ^b
5	10,51 ± 0,025 ^{bd}	9,45 ± 0,353 ^b	8,66 ± 0,035 ^b	6,12 ± 0,192 ^{ab}
ρ – Valor	0,000	0,007	0,000	0,004

D1(100% nitral), D2(50:50 apio/nitral), D3(75:25 apio/nitral), D4(100% apio)

n= 3; ρ – Valor ≤ que 0,05 existen diferencias significativas. a, b, c, letras diferentes entre filas existen diferencias significativas.

Al emplear como sustituto natural de la sal nital por apio en polvo se observó, solo hasta después de la cuarta semana de almacenamiento en refrigeración, una disminución significativa de los tonos rojos en la salchicha elaborada permitiendo obtener una mayor estabilidad del color rojo en comparación con la salchicha elaborada al 100% de sal nital.

Sin embargo, al emplear 100% sal nital en la elaboración de salchicha se logra al finalizar el almacenamiento tonalidades rojas más intensas que incluso las reportadas para las salchichas con sustitución de este aditivo, lo cual puede explicarse por la reducción del nitrito a óxido nítrico (NO) y su consecuente reacción con la mioglobina para formar nitrosomioglobina que se estabiliza por tratamiento térmico y durante el almacenamiento. A menor cantidad de nitritos, menor cantidad de reacciones formadoras de nitrosomioglobina. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Deda *et al.*, (2007), quienes trabajaron con salchichas de carne y cerdo adicionadas con nitrito de sodio y pasta de tomate. Sin embargo hay que considerar otros resultados como los reportados por Amensour *et al.*, (2010), quienes explican que en los productos cárnicos la coordenada a^* está influenciada por diversos factores tanto tecnológicos (emulsión en frío o caliente, tipo de picado, etc.) como de composición (relación fracción magra / fracción grasa, entre otros).

La reducción en la cantidad de nitritos adicionados a cada tratamiento en la elaboración de las salchichas causó un decrecimiento en el valor de la coordenada a^* , mientras que el valor de luminosidad (L^*) se incrementó, estos resultados coinciden con lo encontrado por Isaza *et al.*, (2012).

Los resultados obtenidos con respecto al parámetro de tono amarillo(+)/azul(-) (b^*) de las salchichas tipo Frankfurt, durante las cinco (5) semanas de almacenamiento, se muestran en la tabla 8.

Al igual que los resultados expuestos anteriormente en los tonos rojos, el uso de apio en polvo permite estabilizar el color amarillo inicial que presenta las salchichas, aunque se puede observar que la adición de este componente natural eleva desde el inicio la intensidad de los tonos amarillos ($b^*= 13,65$) que caracteriza la salchicha Frankfurt elaborada. El comportamiento ascendente de la coordenada b^* presentado en el estudio de Amensour *et al.*, (2010) coincide con la adición de extracto de apio en polvo y puede atribuirse a los carotenoides que actúan incrementando el componente amarillo del color. Así mismo, el procesamiento térmico podría convertirse en uno de los principales factores que afectan el aumento de la amarillez, situación que de igual forma puede explicar el aumento del valor de la coordenada b^* en las salchichas.

Tabla 8. Resultados del tono del color b^* (+amarillo/-azul) de las salchichas tipo Frankfurt con respecto al almacenamiento

Semanas	b^*			
	D1	D2	D3	D4
1	13,65 ± 0,075 ^a	14,96 ± 0,487 ^a	14,75 ± 0,037 ^{ab}	16,20 ± 0,080 ^a
2	14,06 ± 0,088 ^b	14,36 ± 0,043 ^{bc}	14,92 ± 0,160 ^{abc}	16,86 ± 0,083 ^b
3	13,51 ± 0,280 ^a	14,54 ± 0,045 ^{bc}	14,99 ± 0,026 ^b	16,55 ± 0,081 ^c
4	13,42 ± 0,145 ^a	14,25 ± 0,051 ^c	15,28 ± 0,025 ^c	16,77 ± 0,065 ^{bd}
5	14,27 ± 0,130 ^b	14,70 ± 0,126 ^{ab}	15,70 ± 0,130 ^d	16,69 ± 0,030 ^d
p – Valor	0,000	0,023	0,000	0,000

D1(100% nitral), D2(50:50 apio/nitral), D3(75:25 apio/nitral), D4(100% apio)

$n= 3$; p – Valor \leq que 0,05 existen diferencias significativas. a, b, c, letras diferentes entre filas existen diferencias significativas.

Estadísticamente, se presenta que el almacenamiento genera en la salchicha Frankfurt una modificación en el tono amarillo que es significativamente mayor a partir de la segunda semana, para todos los casos.

Se puede decir que las coordenadas CIEL*a*b* presentaron diferencias significativas durante el almacenamiento de las cinco semanas en refrigeración, donde las diferencias en el color entre las salchichas Frankfurt de diversos estudios están relacionadas con las características de color de los principales ingredientes utilizados en la elaboración de las mismas, según lo explican Isaza *et al.*, (2012).

La tabla 9 presenta los resultados promedios obtenidos durante los 35 días de almacenamiento con respecto a los parámetros de color representados en escala CIEL*a*b* luminosidad (L^*), tonos (a^*) y (b^*), de las salchichas tipo Frankfurt, en donde se analiza la influencia de la sustitución de nitritos por apio en polvo. La salchicha tipo Frankfurt elaborada con la formulación patrón (100% nitritos), presenta una color que se caracteriza por una alta luminosidad ($L^*=76,46$), mayor tonalidad roja y menor tonalidad amarilla en comparación con las salchichas con sustitución de este aditivo. De acuerdo con Sammel y Claus (2003), los valores de L^* incrementan significativamente con el aumento de la temperatura final, en productos cárnicos en los que se emplea nitritos, durante el tratamiento térmico o escaldado, y con largos períodos de almacenamiento el color también se hace más claro debido a que las proteínas desnaturalizadas del músculo, dispersan más la luz.

Al emplear el apio en polvo se obtiene salchichas con menor intensidad en los tonos rojos y mayor en tonos amarillos, relacionada directamente con la concentración de este sustituto del nitrito, en donde a mayor concentración menor tonos rojos y mayor tonos amarillos.

Tabla 9. Efecto de la sustitución de nitritos por apio en polvo en el color, L* (Luminosidad), espacios cromaticiales a* y b*, de las salchichas tipo Frankfurt

Formulación	L*	a*	b*
D1	76,46 ± 0,793 ^a	10,57 ± 0,395 ^a	13,78 ± 0,365 ^a
D2	74,47 ± 0,704 ^b	9,99 ± 0,516 ^b	14,56 ± 0,324 ^b
D3	76,70 ± 0,992 ^a	9,41 ± 0,438 ^c	15,13 ± 0,353 ^c
D4	76,31 ± 0,809 ^a	6,16 ± 0,193 ^d	16,61 ± 0,247 ^d
ρ – Valor	0,000	0,000	0,000

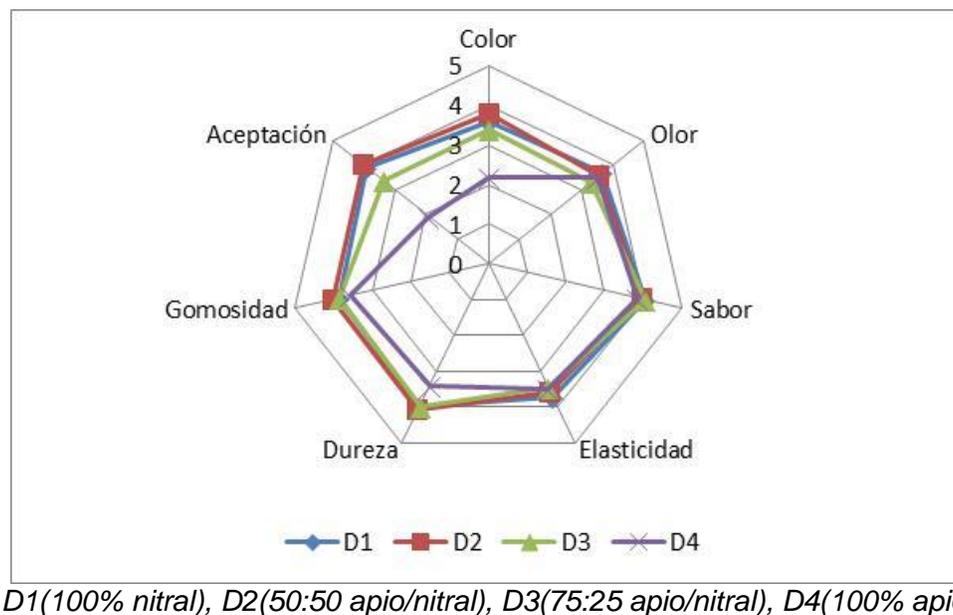
D1(100% nitral), D2(50:50 apio/nitral), D3(75:25 apio/nitral), D4(100% apio)

$n= 15$; ρ – Valor \leq que 0,05 existen diferencias significativas.. a, b, c, letras diferentes entre filas existen diferencias significativas.

Respecto a los resultados estadísticos para el color, se especifica una variación significativa en los espacios cromáticos a* y b* entre la formulación 100% sal nitral y en las formulaciones de sustitución por apio en polvo. Lo anterior, puede ser ocasionado por la composición del apio en polvo en lo que se refiere a pigmentos naturales como los carotenos, los cuales se asocian a un tono amarillo verdoso al ser valorados por colorimetría. A nivel de laboratorio, en el presente estudio, se efectuó la evaluación instrumental del color del apio en polvo, con el fin de verificar la pigmentación que se asocia a los carotenos, en donde se identificó que este se caracteriza por presentar un color cuya luminosidad es de L*=-56,95, un tono verde de a*=-0,82 y amarillo de b*=-23,84, lo que potencializó la tonalidad amarilla y pérdida en los tonos rojos en las salchichas elaboradas, en cuya formulación, se empleaba como sustituto de los nitritos, el apio en polvo.

Los resultados sensoriales muestran que los atributos de olor, sabor, elasticidad, dureza y gomosidad fueron calificados con valores entre 3,5 y 4,1 en una escala de 5 puntos. Para el caso del color, la muestra D4 (100% apio) fue la menos aceptada, debido a que presento un color más amarillo que las otras muestras, debido a los pigmentos aportados por el apio en polvo, así como la ausencia de colorantes en las formulaciones estudiadas. Como lo menciona Sivertsen *et al.*, (2002) los atributos sensoriales, como color, sabor y firmeza son importantes para la aceptación de los consumidores, ya que el color de la salchicha es tradicionalmente limitado por la relación entre la carne de res y la de cerdo, donde la carne de vacuno en general, contiene más cantidad del pigmento mioglobina el cual influye en la percepción sensorial de salchichas, de todas formas la posibilidad de variación de la composición está limitada por restricciones legales (Dingstad *et al.*, 2005).

Figura5 . Resultados de la prueba sensorial de las muestras de salchichas tipo Frankfurt



Como se puede observar en la figura 5 los resultados obtenidos mediante la prueba sensorial aplicada a las salchichas, el parámetro que presentó menor calificación en cuanto al agrado fue el color, donde se vio influenciada la aceptación para la muestra D4(100% apio) debido a su coloración pálida. Las muestras que presentaron una mayor aceptación en cuanto a los parámetros de color, olor, sabor, elasticidad dureza y gomosidad fueron D2(50:50 apio/nitral) y D3 (75:25 apio/nitral), donde los evaluadores mencionaron que las características organolépticas de esta eran las más apetecidas en comparación a las otras muestras.

Con respecto a la estadística, la tabla 10 expone los resultados de la valoración de las salchichas tipo Frankfurt, en donde se observa que para los consumidores, de los seis atributos contemplados en el análisis, el color fue el que menor grado de satisfacción evocó en los jueces, siendo la salchicha elaborada con la sustitución del nitrito al 100% calificada como me desagrada un poco (2/5), la cual presenta variación mínima significativa con respecto a las demás.

El atributo mejor evaluado por el panel fue el sabor, en donde el uso de apio en polvo produce un sabor más agradable en la salchicha, de acuerdo a los comentarios dados por los jueces, atributo que no presenta variación significativa con respecto a la salchicha formulada con 100% nitrito.

El análisis ANOVA refleja que al emplear apio en polvo como sustituto de los nitritos en la elaboración de salchicha Frankfurt, afecta sensorialmente el color y la aceptación del producto, siendo significativa al emplear 100% apio en polvo. Estos resultados confirman que este sustituto genera una pérdida visual del color rosado pálido característico de la salchicha Frankfurt, lo cual podría mejorar con la adición de colorantes naturales y poder lograr una aceptación del 100%.

Tabla 10. Grado de satisfacción de las salchichas tipo Frankfurt almacenadas bajo refrigeración por 35 días

Formulación	Calificación del parámetro sensorial						
	Color	Olor	Sabor	Elasticidad	Dureza	Gomosidad	Aceptación
D1	3,60 ± 1,037 ^a	3,63 ± 1,098 ^a	4,03 ± 0,850 ^a	3,76 ± 0,817 ^a	3,96 ± 0,850 ^{ab}	3,86 ± 0,628 ^{ab}	3,90 ± 0,661 ^a
D2	3,60 ± 0,723 ^a	3,53 ± 0,860 ^a	3,93 ± 0,907 ^a	3,83 ± 0,874 ^a	4,06 ± 0,907 ^a	4,03 ± 0,668 ^a	4,06 ± 0,583 ^a
D3	3,30 ± 1,055 ^a	3,53 ± 1,074 ^a	4,10 ± 0,884 ^a	3,76 ± 1,072 ^a	3,93 ± 1,014 ^{ab}	3,76 ± 0,727 ^{ab}	4,00 ± 0,830 ^a
D4	2,03 ± 1,129 ^b	3,53 ± 1,041 ^a	3,80 ± 1,156 ^a	3,56 ± 1,006 ^a	3,53 ± 1,074 ^b	3,60 ± 0,674 ^b	2,13 ± 1,008 ^b
<i>p</i> – Valor	0,000	0,975	0,644	0,721	0,156	0,096	0,000

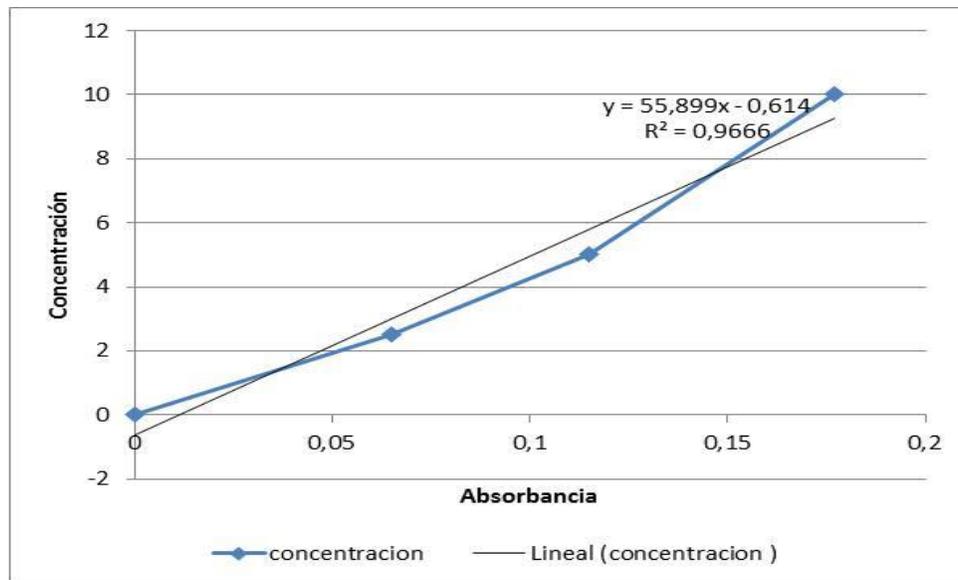
D1(100% nitral), D2(50:50 apio/nitral), D3(75:25 apio/nitral), D4(100% apio)

n= 30; *p* – Valor ≤ que 0,05 existen diferencias significativas. a, b, c, letras diferentes entre filas existen diferencias significativas

Efectividad de la sustitución parcial y total de nitritos por apio en polvo (*arracacia xanthorrhiza bancroft*) en la calidad fisicoquímica, microbiológica y sensorial de la salchicha tipo Frankfurt

La curva de calibración obtenida para la determinación de la concentración de nitrito residual se observa en la figura 5, la cual identifica una ecuación de la recta de $Y=55,899x-0,614$ y en la que los datos están bien representados de acuerdo al coeficiente de correlación obtenido.

Figura 6. Curvas de calibración para la determinación de Nitritos residuales en las salchichas tipo Frankfurt por medio de absorbancia a 538 nm



La tabla 11 muestra los resultados obtenidos en la determinación de la cantidad de nitritos contenidos en las fuentes de nitritos (apio, nital) empleadas en las formulaciones para la elaboración de las salchichas tipo Frankfurt, donde se puede observar que el nital tiene un mayor aporte de nitritos en cuanto al apio en polvo.

Tabla 11. Contenido de Nitritos de la sal Nital y del apio empleados para la elaboración de las salchichas tipo Frankfurt

Fuente nitrito	Nitrito (mg/Kg)
Nital	45,70
Apio	0,14

n=3

Con referencia a los contenidos residuales de nitrito en la salchicha Frankfurt, para el día 0, se muestra que la sal nital presenta mayor residualidad en este compuesto, el cual después de 35 días de almacenamiento en refrigeración, se reduce en un 91,80%,

cumpliéndose con los requisitos para el uso de nitritos, la cual establece un máximo de 200 ppm en producto procesado (tabla 12).

Tabla 12. Resultados de Nitritos residuales de las salchichas tipo Frankfurt con respecto a los tratamientos con medición de 538 nm

TRATAMIENTO	Nitrito residual (mg/kg)	
	Salchichas día 0	Salchichas día 35
D1	129,7	10,64
D2	13,98	0
D3	41,38	0
D4	69,32	7,284

D1(100% nitral), D2(50:50 apio/nitral), D3(75:25 apio/nitral), D4(100% apio).

En todas las formulaciones estudiadas se presentó reducción del nitrito residual (ppm) en función del tiempo (semanas), obteniéndose concentraciones aproximadas del 2 ppm en comparación entre los tratamientos. Estos valores se encuentran dentro de los límites permisibles según la norma INEN 1336:2010, (EFSA, 2000), que especifica la cantidad requerida de nitritos para inhibir el crecimiento de *Clostridium Botulinum*. La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria indica que la concentración de nitritos a la que atribuye una buena actividad conservante es de 200 mg/kg (ppm), siendo de este modo productos tolerables para el consumo por las concentraciones finales residuales y que también permiten su conservación de acuerdo a la norma 1336:2010.

4.2 DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE LA SUSTITUCIÓN DEL NITRITO DE SODIO EN LA CARGA MICROBIOLÓGICA DE LA SALCHICHA FRANKFURT

Los microorganismos analizados (bacterias Aerobias Mesófilas, E Coli, *Staphilococcus Aureus*, *Salmonella* y *Clostridium* spp) son indicadores de calidad sanitaria que muestran el grado de calidad del producto. Los valores de crecimiento microbiano en la presentación al vacío son <10 y <100 y estos valores se encuentran dentro de la norma NTC 1325 Carne y productos Cárnicos.

Con respecto a los resultados obtenidos se puede observar que no existió un crecimiento representativo de microorganismos durante las cinco semanas de almacenamiento, presentando valores en base logarítmica menores a 1,48 y para algunos casos ausencia en su totalidad. Esto se debe a que al someter las salchichas a un proceso de escaldado a una temperatura de 75 °C se pueden inhibir parcialmente el crecimiento de los mismos. También como se sustituyó gradualmente la sal nitral por apio en polvo en la formulación,

este también tiene poder antimicrobianas sobre el crecimiento de microorganismos, al igual las sales nitrificantes.

Tabla 13. Recuentos microbiológicos de las salchichas tipo Frankfurt durante el almacenamiento en refrigeración

Semana	Microorganismos	Log (UFC/ml)			
		D1	D2	D3	D4
1	<i>AerobiosMesofilos</i>	< 1,48	< 1,48	< 1,48	< 1,48
	<i>E. Coli</i>	Ausencia/10g	Ausencia/10g	Ausencia/10g	Ausencia/10g
	<i>Staphylococcus aureus</i>	Ausencia/10g	Ausencia/10g	Ausencia/10g	Ausencia/10g
	<i>Clostridium spp.</i>	Ausencia/10g	Ausencia/10g	Ausencia/10g	Ausencia/10g
	<i>Salmonella spp</i>	Ausencia/10g	Ausencia/10g	Ausencia/10g	Ausencia/10g
3	<i>AerobiosMesofilos</i>	< 1,48	< 1,48	< 1,48	< 1,48
5	<i>AerobiosMesofilos</i>	< 1,48	< 1,48	194,45	< 1,48

D1(100% nitral), D2(50:50 apio/nitral), D3(75:25 apio/nitral), D4(100% apio), n=3

Los resultados obtenidos en el presente trabajo coinciden con informes realizados sobre el uso de especias en productos cárnicos, es así como Moreira *et al.*, (2007), en un estudio de espinacas escaldadas y carne de res picada, con clavo y especias de té, redujo entre tres y cuatro veces la cantidad de microorganismos en estudios.

4.3 DETERMINACIÓN DE LA RELACIÓN ÓPTIMA DE APIO EN POLVO EN LA ELABORACIÓN DE SALCHICHA TIPO FRANKFURT

Con respecto a los análisis estadísticos de las pruebas realizadas tanto fisicoquímicas, sensoriales, como microbiológicas a las salchichas tipo Frankfurt, con las sustituciones de nitrito aplicadas *D1(100% nitral), D2(50:50 apio/nitral), D3(75:25 apio/nitral), D4(100% apio)*, se pudo determinar que todas las salchichas mantuvieron las características organolépticas durante las cinco semanas de almacenamiento a condiciones de refrigeración, siendo las más aceptada por los evaluadores la muestra D2 (*50:50 apio/nitral*) y D3 (*75/25 apio/nitral*) las cuales contenía la sustitución parcial de apio en polvo. También se observó que las salchichas elaboradas con sustitución del nitrito por apio en polvo en las tres relaciones empleadas, mantienen los parámetros de color

Efectividad de la sustitución parcial y total de nitritos por apio en polvo (arracacia xanthorrhiza bancroft) en la calidad fisicoquímica, microbiológica y sensorial de la salchicha tipo Frankfurt

durante el almacenamiento, es decir no presento varianza durante las cinco semanas de almacenamiento, lo que muestra que el apio en polvo tiene la capacidad de mantener el color en las salchichas, ser sensorialmente aceptada salvo en el atributo de color.

El uso de nitrito y la sustitución del mismo por apio en polvo inhibe el crecimiento microbiano cumpliendo con el índice máximo permisible para identificar que las salchichas elaboradas son de buena calidad microbiológica.

CONCLUSIONES

5. CONCLUSIONES

La salchicha tipo Frankfurt elaboradas con 100% de nitrito, se caracteriza por presentar una humedad del 64,58%, la cual conforme avanza el tiempo de almacenamiento disminuye, obteniéndose, a la quinta semana de almacenamiento 61% de humedad. Al emplear apio en polvo como sustituto natural de la sal nitral, la humedad se mantiene estable durante las 5 semanas, registrándose valores de humedad entre el 61 y 67%, cumpliéndose por lo establecido por la norma NTC 1325, la cual contempla un máximo de humedad del 67%.

La luminosidad (L^*) de las salchichas tipo Frankfurt aumenta con el tiempo de almacenamiento, la cual al ser sustituido el nitrito por el 50% de apio en polvo (D2), presenta pérdida significativa de la luminosidad a partir de la segunda semana de almacenamiento en refrigeración.

Al emplear el apio en polvo como sustituto natural del nitrito se presenta una disminución significativa de los tonos rojos y aumento en los tonos amarillos en la salchicha elaborada solo hasta después de la cuarta semana de almacenamiento en refrigeración, permitiendo obtener una mayor estabilidad del color rojo en comparación con la salchicha elaborada al 100% de sal nitral. El apio en polvo promueve una menor intensidad en los tonos rojos y mayor en tonos amarillos al ser empleado en la elaboración de salchichas tipo Frankfurt, lo que se relaciona directamente con la concentración de este sustituto del nitrito, en donde a mayor concentración menor tonos rojos y mayor tonos amarillos, debido a su contenido en carotenos.

Sensorialmente el olor, sabor, elasticidad, dureza y gomosidad no presentan diferencias significativas en el grado de aceptación de las salchichas tipo Frankfurt elaboradas.

Las salchichas tipo Frankfurt que presentaron una mayor aceptación en cuanto a los parámetros de color, olor, sabor, elasticidad, dureza y gomosidad fueron en las que para el proceso de elaboración se sustituyó el (50:50 apio/nitral) y (75:25 apio/nitral).

La adición de apio en polvo contribuye a la reducción de nitrito residual presente en las salchichas tipo Frankfurt obteniéndose bajos niveles del contenido residual de Nitritos alrededor de 2 ppm, lo cual permite obtener productos con una mayor seguridad de ingesta en este compuesto.

El apio en polvo como sustituto de los nitritos en la elaboración de salchicha Frankfurt, afecta sensorialmente el color y la aceptación del producto, siendo significativa al emplear 100% apio en polvo, ya que reduce el color rosado pálido característico de este producto, lo cual podría mejorar con la adición de colorantes naturales y poder lograr una aceptación del 100%.

La adición de apio en polvo en la elaboración de las salchichas tipo Frankfurt, genera una inhibición en la flora microbiana durante las cinco semanas de almacenamiento, cuyos

Efectividad de la sustitución parcial y total de nitritos por apio en polvo (arracacia xanthorrhiza bancroft) en la calidad fisicoquímica, microbiológica y sensorial de la salchicha tipo Frankfurt

resultados de acuerdo a la normativa NTC 1325 definen que el producto es apto para el consumo y es de buena calidad.

Sustituir parcialmente el nitrito por apio en polvo en una relación 75/25 (apio/nitrito) y 50/50 (apio/nitrito) en el proceso de elaboración de salchicha tipo Frankfurt, es efectivo durante 35 días de almacenamiento en refrigeración empacada al vacío, tanto desde el punto de vista fisicoquímico, microbiológico como sensorial.

RECOMENDACIONES

6. RECOMENDACIONES

Continuar investigando sobre las alternativas del uso de vegetales como fuentes naturales de nitritos, en la elaboración de productos cárnicos distintos a los estudiados hasta el momento, con el fin de generar productos libres de aditivos sintéticos, que sean mejor aceptados por los consumidores.

En la sustitución parcial del nitrito por apio en polvo se recomienda la adición de colorante con el fin de obtener una mayor aceptación de la salchicha tipo Frankfurt del consumidor, ya que las muestras presentaron una tonalidad amilla que en su defecto se observó muy pálida.

BIBLIOGRAFIA

7. BIBLIOGRAFIA

Amensour, M. y otros siete autores, Estabilidad del color en salchichas de pollo tipo Frankfurt adicionadas con extracto acuoso de hoja de *Myrtus communis*. *Óptica pura y aplicada*, 43 (4), 251-257 (2010)

Ariza Hurtado, J. (2011). Informe final de nitritos. Obtenido 24/04/2019 de <http://hdl.handle.net/123456789/479>.

Bazan, E. (2008). Nitritos y Nitratos: su uso control y alternativas en embutidos cárnicos. *Nacameh*, 2(2), 160-187.

Benjamin, N., y Collins, J. (2012). Nitrite. En N. J. Russell y G. W. Gould (Eds.), *Food preservatives* (pp. 102– 118). Nueva York: Kluwer Academic/Plenum Publishers.

Cali Chasi Gabriela C. 2015. Tesis de grado. “Determinación de la concentración de nitrito de sodio residual durante las etapas de elaboración y almacenamiento de cinco productos cárnicos (Salchicha de Pollo, Mortadela especial, Salchicha Paisa, Longaniza, Chorizo Salchipincho) de la planta de alimentos piggis embutidos pigem cía. Ltda. y su incidencia sobre el tiempo de vida útil”, Ambato - Ecuador 2015.

Cameán, A., & Repeto, J. (2012). *Toxicología Alimentaria*. Madrid: Diaz de Santos S.A.

Cameán, A., Jos, Á., Moreno, I., Pichardo, S., & Repeto, M. (2012). *Tóxicos formados durante el procesado, preparación y almacenamiento de los alimentos*. Madrid: Díaz de Santos.

Cammack, R., Joannou, C. L., Cui, X. Y., Torres Martinez, C., Maraj, S. R., y Hughes, M. N. (1999). Nitrite and nitrosyl compounds in food preservation. *Biochimica et Biophysica Acta-Bioenergetics*, 1411, 475–488.

Carballo, J., y Andrade, S. (2013). Evolución de los nitratos y Nitritos durante la curación de salchichones con diferentes niveles de sales nitrificantes. Obtenido de <http://hdl.handle.net/10261/111437>.

Carlsen, C. U., Møller, J. K. S., y Skibsted, L. H. (2005). Heme-iron in lipid oxidation. *Coordination Chemistry Reviews*, 249, 485–498.

Clemente Granados, Luis E. Guzmán y Diofanor Acevedo. Información Tecnológica Vol. 24(6), 29-34 (2013). Análisis Proximal, Sensorial y de Textura de Salchichas Elaboradas con Subproductos de la Industria Procesadora de Atún (Scombridae thunnus). Visible en la página web. [http:// https://scielo.conicyt.cl/pdf/infotec/v24n6/art05.pdf](http://https://scielo.conicyt.cl/pdf/infotec/v24n6/art05.pdf).

Comercio, E. (2011). El apio, fuente de salud y belleza. Recuperado el 2019, de <http://www.ultimasnoticias.ec/noticias/3614-el-apio-fuente-de-salud-y-belleza.htm>.

Dingstad, G.I., E. Kubberød, T. Næs, and B. Egeland. 2005. Critical quality constraints of sensory attributes in frankfurter-type sausages, to be applied in optimization models. LWT – Food Science and Technology 38(6): 665–676.

Deda, M.S., J.G, Bloukas, y G.A, Fista, Effect of tomato paste and nitrite level on processing and quality characteristics of frankfurters, Meat Science, 76 (3), 501-508 (2007)

Dingstad, G.I., E. Kubberød, T. Næs, and B. Egeland. 2005. Critical quality constraints of sensory attributes in frankfurter-type sausages, to be applied in optimization models. LWT – Food Science and Technology 38(6): 665–676.

EFSA. (2003) “Opinion of the Scientific Panel on Biological Hazards on a request from the Commission related to the effects of Nitrites/Nitrates on the Microbiological Safety of Meat Products.”

Fernández Hospital, Manuela Fernández Álvarez, Eva Hierro Paredes 2016. Tesis Doctoral. Estudio del efecto de la reducción del contenido de sales nitrificantes en la calidad microbiológica y aroma de los embutidos crudos curados. Madrid, 2016

Freire 2011. Tesis de grado. “EFECTO DE LA ADICIÓN DE HARINA DE CHOCHO (LUPINUS MUTABILIS SWEET) EN LA ELABORACIÓN DE EMBUTIDOS (SALCHICHA TIPO FRANKFURT)”. Obtenido 24/04/2019 de <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3268/1/PAL257.pdf>.

Fretes, C. (2010). Elaboración de Chacinados. Visible en la página web <http://www.mag.gov.py/materiales/Material%20Chacinado.pdf>. Consultado del día 14/06/2019.

GALLIGNANI, M.; CASTELLANOS, L.; VALERO, M.; BRUNETTO, M. 2008. Determinación de nitritos en chorizos por espectrofotometría derivativa, utilizando un sistema de análisis en flujo. *Ciencia*. 16(2):241- 250.

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

Goñi, M., Di Gerónimo, N., Carrozzi, L., Yommi, A., y Roura, S. (2012). Caracterización de compuestos antioxidantes presentes en apio según el estadio de madurez. Recuperado el 2019, de https://www.researchgate.net/profile/Alejandra_Yommi/publication/271076134_Caracterizacin_de_compuestos_antioxidantes_presentes_en_apio_segñ_el_estadio_de_madurez/links/54bd41be0cf218d4a16a2463.pdf

Hammes, W. P. (2012). Metabolism of nitrate in fermented meats: The characteristic feature of a specific group of fermented foods. *Food Microbiology*, 29, 151–156.

Herrera Freire, L. X. (4 de Agosto de 2014). Mejoramiento de los procesos productivos en una empresa de embutidos con la aplicación de buenas prácticas de manufactura. Obtenido de Quito : EPN, 2014.: <http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/8195>

Hierro, E., Fernández, M., De la Hoz, L., y Ordóñez, J. A. (2014). Mediterranean products. En F. Toldrá (Ed.), *Handbook of fermented meat and poultry* (pp. 301– 312). Ames: Wiley-Blackwell.

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

Isaza, Y.L., D.A. Restrepo y J.H. López, Efecto de la Inclusión de un Extracto de Cereza (*Prunus avium* L.) sobre el estado de Oxidación y las Características Fisicoquímicas y Sensoriales de Salchichas Tipo Frankfurt, *Revista Facultad Nacional de Agronomía*, 65 (1), 6541-6552 (2012)

Jaimez, R. E., y Azócar, C. J. (2010). Banco De Germoplasma De Apio Andino (*Arracacia xanthorrhiza* Bancr.). Recuperado el 2019, de http://webdelprofesor.ula.ve/forestal/rjaimez/org/APIO/Proyecto_Banco_de_Germoplasma_Santa_Rosa.pdf

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

José I. Hleap-Zapata* Lina X. Pinzón-Zárate y Luís E. Ordóñez-Santos. Información Tecnológica Vol. 26(5), 45-54 (2015). Análisis de los Parámetros de Color en Salchichas Frankfurt Adicionadas con Extracto Oleoso de Residuos de Chontaduro (*Bactris Gasipaes*). Obtenido 28/04/2019 de <http://scielo.conicyt.cl/pdf/infotec/v26n5/art07.pdf>.

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

Leistner, L. (1995). Stable and safe fermented sausages world-wide. En G. Campbell - Platt y P. E. Cook (Eds.), *Fermented meats* (pp. 160– 175). Londres: Blackie Academic & Professional.

Lundberg, J. O., Weitzberg, E., y Gladwin, M. T. (2008). The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 7, 156 – 167.

Lücke, F. K. (1998). Fermented sausages. En B. J. B. Wood (Ed.), *Microbiology of fermented foods* (pp. 441– 483). Londres: Blackie Academic & Professional.

LLAMAS, J. Investigación “Las Salchichas”, mayo 2007, 23 p.

Jaimez, R. E., y Azócar, C. J. (2010). Banco De Germoplasma De Apio Andino (*Arracacia xanthorrhiza* Bancr.). Recuperado el 2019, de http://webdelprofesor.ula.ve/forestal/rjaimez/org/APIO/Proyecto_Banco_de_Germoplasma_Santa_Rosa.pdf

Magrama. (2014). Apio. Recuperado el 2019, de http://www.magrama.gob.es/es/ministerio/servicios/informacion/apio_tcm7-315451.pdf

Magrinyà, N., Bou, R., Tres, A., Rius, N., Codony, R., y Guardiola, F. (2009). Effect of tocopherol extract, *Staphylococcus carnosus* culture, and celery concentrate addition on

quality parameters of organic and conventional dry-cured sausages. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 8963–8972.

Martelo Casraño, Y., Cortés Rodríguez, M., y Suárez Mahecha, H. (19 de Febrero de 2010). Desarrollo de apio minimamente procesado forificado con vitamina E, utilizando la ingeniería de matrices. Obtenido de http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0012-73532011000100003&lng=en&nrm=iso&tlng=es.

MINISTERIO DE SALUD, República de Colombia. Decreto 2162 del 1 de Agosto de 1983. Consultado: 24/04/2019. URL: <http://www.acaire.org/doc/normas/decreto2162de1983-Minsalud.pdf>.

Mielnik, M.B., K. Aaby, K. Rolfsen, M.R. Ellekjr and A. Nilsson. 2002. Quality of comminuted sausages formulated from mechanically deboned poultry meat. *Meat Science* 61(1):73–84

Moreira, M.R., A. Ponce, C. Del Valle and S. Roura. 2007. Effects of clove and tea tree oils on *Escherichia coli* O157:H7 in blanching spinach and minced cooked beef. *Journal of Food Processing and Preservation* 31(4):379–391.

Moreno C., B., Soto O., K., y González R., D. (2015). El consumo de nitrato y su potencial efecto benéfico sobre la salud cardiovascular. Recuperado el 2016, de http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S0717-75182015000200013&script=sci_arttext

Morita, H., Yoshikawa, H., Suzuki, T., Hisamatsu, S., Kato, Y., Sakata, R., et al. (2004). Anti-microbial action against verotoxigenic *Escherichia coli* O157:H7 of nitric oxide derived from sodium nitrite. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 68, 1027–1034.

Morot-Bizot, S. C., Leroy, S. y Talon, R. 2006. Monitoring of staphylococcal starters in two French processing plants manufacturing dry fermented sausages. *Journal of Applied Microbiology*. 102:238-244.

O'FLYNN, C.C.; CRUZ-ROMERO, M.C.; TROY, D.J.; MULLEN, A.M.; KERRY, J.P. 2014a. The application of high-pressure treatment in the reduction of phosphate levels in breakfast sausages. *Meat Sci.* 96(1):633-639.

O'FLYNN, C.C.; CRUZ-ROMERO, M.C.; TROY, D.; MULLEN, A.M.; KERRY, J.P. 2014b. The application of high-pressure treatment in the reduction of salt levels in reduced-phosphate breakfast sausages. *Meat Sci.* 96(3):1266-1274.

Patiño, N., & Vázquez, V. (2013). Determinación de la concentración de nitritos en salchichas tipo frankfurt que se comercializa en los mercados de la ciudad de Cuenca. consultado el 15 de 06 de 2019, de la pagina <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/3069/1/TESIS.pdf>

Pegg, R. B., y Shahidi, F. (2000)). Nitrite curing of meat: the N-nitrosamine problem and nitrite alternatives. Trumbull: Food & Nutrition Press.

Restrepo Molina, Suárez Mahecha, H, D. A., y Carrasquilla Galeano, L. A. (2011). Influencia de Especies Naturales en la Vida Útil y Aceptación Sensorial de Salchicha Bratwurst. Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v64n1/a23v64n01.pdf>

Rodríguez Saucedo, E. N. (2011). Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhai. Revista de Sociedad, Cultura y Desarrollo Sustentable*, 7(1), 155. Recuperado el 2016, de http://www.uaim.edu.mx/webraximhai/Ej-19articulosPDF/14-58US0%20DE%20AGENTES%20ANTIMICR0BIAN0S%20%20NATURALES%20EN%20LA%20%20CONSERVACION_Elvia%20Rguez.pdf

Rosero Balarezo, R. F. (2015). Desarrollo y formulación de productos cárnicos utilizando aditivos a base de plantas endémicas del Ecuador. Obtenido de Universidad de las Américas: <http://dspace.udla.edu.ec/handle/33000/2518>.

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

Schrader, K. D., Cordray, J. C., Sebranek, J. G., Dickson, J. S., y Mendonca, A. F. (2009). Control of *Listeria monocytogenes* on no-nitrate-or-nitrite-added (natural or organic) frankfurters. *Animal Industry Report*, AS 655, AS.

Sindelar, J. J., Cordray, J. C., Sebranek, J. G., Love, J. A., y Ahn, D. U. (2007). Effects of varying levels of vegetable juice powder and incubation time on color, residual nitrate and

nitrite, pigment, pH, and trained sensory attributes of ready-to-eat uncured ham. *Journal of Food Science*, 72, 388– 395.

Sebranek, J. B. y Bacus, J. N. 2007a. Natural and organic cured meat products: regulatory, manufacturing, marketing, quality and safety issues . *American Meat Science Association White Paper Series* . 1:1-15.

Sebranek, J. B. y Bacus, J. N. 2007b. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? *Meat Science* . 77:136-147.

Sebranek, J. G., Bacus, J. N., 2007. Cured meat products without direct addition of nitrate or nitrite: what are the issues? *Meat Science* 77, 136-147.

Sebranek, J. G., Jackson-Davis, A. L., Myers, K. L. y Laveri, N. A. 2012. Beyond celery and starter culture: advances in natural/organic curing processes in the United States. *Meat Science*. 92:267-273.

Sindelar, J. J., Cordray, J. C., Sebranek, J. G., Love, J. A. y Ahn, D.U. 2007a. Effects of vegetable juice powder concentration and storage time on some chemical and sensory quality attributes of uncured, emulsified cooked sausages. *Journal of Food Science* . 72(5):324-332.

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

Sivertsen, H.K., E. Kubberød and K. Hildrum. 2002. Consumer preferences of beef tenderness and mechanical measurement. *Journal of Sensory Studies* 17(4):365–378.

Skibsted, L. H. (2011). Nitric oxide and quality and safety of muscle based foods. *Nitric Oxide - Biology and Chemistry*, 24, 176 – 183.

Suárez Mahecha, H., Restrepo Molina, D. A., y Carrasquilla Galeano, L. A. (2011). Influencia de Especies Naturales en la Vida Útil y Aceptación Sensorial de Salchicha Bratwurst . Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v64n1/a23v64n01.pdf>

Suárez Mahecha, H., Restrepo Molina, D. A., y Carrasquilla Galeano, L. A. (2011). Influencia de Especies Naturales en la Vida Útil y Aceptación Sensorial de Salchicha Bratwurst . Obtenido de <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v64n1/a23v64n01.pdf>.

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

TAHMASEBI, M., LABBAFI, M., EMAM-DJOMEH, Z. and SAEED, M. Manufacturing the novel sausages with reduced quantity of meat and fat: The product development, formulation, optimization, emulsion stability and textural characterization. *LWT – Food Science and Technology*, 68, 2016, p. 76-84.

Totosaus, A. (2011). Aceites y grasas vegetales como ingrediente funcional en productos cárnicos. Recuperado el 2019, de <http://cbs.izt.uam.mx/nacameh/>

Tsoukalas, D. S., Katsanidis, E., Marantidou, S., y Bloukas, J. G. (2011). Effect of freeze-dried leek powder (FDLP) and nitrite level on processing and quality characteristics of fermented sausages. *Meat Science*, 87, 140–145.

USDA 2011. Servicio de Inocuidad e Inspección de los Alimentos. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. Recuperado el 2019, de https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/54f45552-03cd-4528-a6ce-708fa85d99e9/Sausages___Food_Safety_SP.pdf?MOD=AJPERES.

Ventanas, S., Martín, D., Estévez, M., & Ruiz, J. (2004). Nitratos, nitritos y nitrosaminas en productos cárnicos (I). *Revista Eurocarne*, 14(129), 95-114.

Yarbrough, J. M., Rake, J. B., y Eagon, R. G. (1980). Bacterial inhibitory effects of nitrite: inhibition of active transport, but not of group translocation, and of intracellular enzymes. *Applied and Environmental Microbiology*, 39, 831–834.

ANEXOS

8. ANEXOS

Anexo 1. Proceso de elaboración de la salchicha tipo Frankfurt.

<i>Pesado materia prima</i>	<i>Cuteado</i>	<i>Cuteado</i>
		
<i>Embutido y atado</i>	<i>Escaldado</i>	<i>Empacado</i>
		

Efectividad de la sustitución parcial y total de nitritos por apio en polvo (*arracacia xanthorrhiza bancroft*) en la calidad fisicoquímica, microbiológica y sensorial de la salchicha tipo Frankfurt

Anexo 2. Determinación de las pruebas microbiológicas

<i>Acondicionamiento y esterilizado del material</i>		
		
<i>Preparación de la muestra</i>	<i>Siembra del medio</i>	<i>incubación</i>
		

Anexo 3. Determinación de pruebas fisicoquímicas (humedad y color).

<i>Humedad</i>	<i>Color</i>
	

Anexo 4. Ficha de cata sensorial

NOMBRES Y APELLIDOS _____
FECHA _____ **LUGAR** _____ **EDAD** _____

PROCEDENCIA _____

Frente a usted tiene cuatro muestras de salchicha codificadas respectivamente, de las cuales deberá evaluar, para cada atributo, el grado de aceptación teniendo en cuenta la escala que se dispone a continuación.

- Me desagrada mucho = 1
- Me desagrada un poco = 2
- Ni me gusta, Ni me disgusta = 3
- Me gusta mucho= 4
- Me gusta muchísimo = 5

Muestra	COLOR	OLOR	SABOR	ELASTICIDAD	DUREZA	GOMOSIDAD
464						
374						
586						
201						

OBSERVACIONES: _____

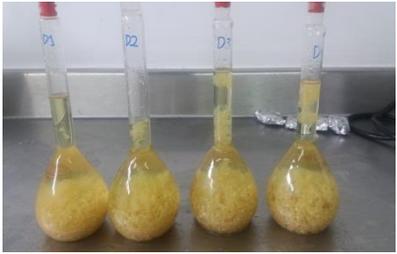
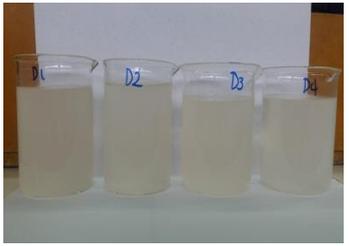
¡MUCHAS GRACIAS!

Efectividad de la sustitución parcial y total de nitritos por apio en polvo (arracacia xanthorrhiza bancroft) en la calidad fisicoquímica, microbiológica y sensorial de la salchicha tipo Frankfurt

Anexo 5. Prueba sensorial



Anexo 6. Determinación de nitritos

<i>Elaboración de la curva</i>	<i>Preparación de la muestra</i>	<i>filtrado</i>
		
<i>Preparación del filtrado</i>	<i>Lectura de absorbancia</i>	
		