

[PID 9103](#)

## Desarrollo de un alimento cárnico embutido saludable con el agregado de extracto acuoso de propóleo (EAP) como conservante

Oroño, A D, Giacomuzzi, N M, Acosta S A, Muchiutti, G S<sup>(1)</sup>, Cámara, N G<sup>(1)</sup>, Correa S<sup>(1)</sup>, Vallejos O<sup>(1)</sup>, Larrosa, V J<sup>(1,2)</sup>, y Pancrazio, G I<sup>(1)</sup>

Autores: (1) Facultad de Bromatología, Universidad Nacional de Entre Ríos, Pte. Perón 1154, Gualeguaychú, Entre Ríos, Argentina

(2) Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos de Entre Ríos (ICTAER-CONICET), Pte. Perón 1154, Gualeguaychú, Entre Ríos, Argentina

Contacto: [gaston.pancrazio@uner.edu.ar](mailto:gaston.pancrazio@uner.edu.ar)

ARK: <http://id.caicyt.gov.ar/ark://80bmmu1x6>

### Resumen

En los últimos años, los consumidores han mostrado interés por productos cárnicos saludables que aporten ingredientes de origen natural, evitando las altas cantidades de sal, grasas y aditivos. Por consiguiente el objetivo de este trabajo fue producir un embutido saludable reducido en sodio y nitritos con el agregado de extracto acuoso de propóleo (EAP), manteniendo las características similares a un producto tradicional. Se modeló un embutido cárnico reducido en su contenido de NaCl y sin materia grasa adicionada el cual presentó en la mayoría de los parámetros analizados similitudes con embutidos comerciales. La disminución del contenido de nitrito produjo alteraciones en el color afectando significativamente el valor del parámetro  $a^*$ , pero afectó considerablemente algunos parámetros de textura. El EAP, mostró una buena acción bacteriostática pero no así fungistática implicando la adición de otro conservante ya sea natural o no que ejerza acción sobre dichos microorganismos para alcanzar la vida útil esperada (42 días). Sensorialmente, el producto presentó diferencias significativas con el comercial pero acaparó la atención de los consumidores. Es factible producir un embutido de bajo contenido en sodio, sin grasa añadida y reemplazando el  $\text{NaNO}_2$  como conservante y asemejarse a un producto industrializado con buena aceptación del consumidor.

**Palabras Claves:** Propóleo, Embutido cárnico, Saludable

### Objetivo general

Producir una salchicha saludable reducida en sodio, nitritos y tenor graso con el

agregado de extracto acuoso de propóleo manteniendo las características físicas, químicas y sensoriales similares a un producto tradicional.

### **Objetivos específicos**

- Lograr un embutido bajo en sodio reemplazado por KCl y CaCl<sub>2</sub> sin grasa agregada y validarlo por modelo RSM.
- Evaluar las modificaciones que ocurren durante la vida útil por comparación de las salchichas producidas al T0, T20 y T40.
- Estimar las propiedades texturales y de color y comparar con productos similares y bibliografía existente.
- Determinar la eficacia del extracto acuoso de propóleo como conservante en productos cárnicos embutidos.
- Entender las percepciones generadas por parte de los consumidores del producto desarrollado.

### **Marco teórico y metodológico**

La carne y los productos cárnicos se consideran importantes impulsores del crecimiento y la salubridad gracias a sus propiedades nutricionales que proporcionan niveles importantes de proteínas, ácidos grasos, vitaminas, minerales y otros compuestos bioactivos. En los últimos años, los consumidores de todo el mundo han mostrado preocupación por garantizar sus efectos beneficiosos para la salud de los productos cárnicos (Ben Slima et al., 2017).

Los componentes sintéticos de las salchichas varían considerablemente de país a país y según las cuestiones económicas marcadas por los ingredientes utilizados. Los ingredientes presentes en una formulación de este tipo de productos cárnicos poseen diferentes aplicaciones físicas, químicas, microbiológicas y hasta tecnológicas, entre ellos se encuentran Sal (como NaCl), Nitritos, Fosfatos, gomas y dentro de los naturales materia grasa, agua y carne (cortes de bajo valor comercial)

La sal común o cloruro sódico se viene usando desde tiempos remotos en el procesamiento de carne, gracias a su capacidad de reducir la actividad de agua, facilitando así su conservación, además de contribuir a la sapidéz (Freixanet, 2013). La sal y los fosfatos desempeñan un papel en la solubilización de las proteínas miofibrilares, que retienen gran parte del agua añadida durante la formulación de la salchicha. Durante la cocción, las proteínas solubilizadas se coagulan y agregan produciendo la matriz, que es una red de gel tridimensional (Flores, 2015). A su vez, los productos cárnicos contribuyen significativamente altas cantidades de sal y grasas a la dieta de los consumidores encontrándose por encima de los niveles recomendados por la Organización Mundial de la Salud (Bolger, Brunton, Lyng, & Monahan, 2017). Según las últimas recomendaciones de la OMS reducir el contenido de sal y grasa puede significar un efecto positivo en la salud pública en países donde el consumo de estos productos cárnicos es elevado (OMS, 2013).

El nitrito y el nitrato son aditivos alimentarios comúnmente utilizados como agentes antimicrobianos de curado, así como conservadores de color para productos cárnicos curados (Chow, 2016). Estas sustancias químicas artificiales son obviamente poco saludables debido a la posible inducción de nitrosaminas cancerígenas. Como cuestión de hecho, el ácido nitroso y la disociación de aminas secundarias pueden conducir a la formación de nitrosaminas, aceleradas con un pH reducido a 3.5 mientras que en las

salchichas el uso de ascorbatos se recomienda junto con el nitrito, ya que acelera el proceso de curado y reduce el riesgo de formación de nitrosaminas. En general, el ácido ascórbico también reduce los niveles de nitritos residuales en las salchichas cocidas (Flores, 2015).

Por lo tanto, las industrias alimentarias han estado desarrollando tecnologías alternativas de biopreservación de la carne. De hecho, el uso de cultivos de ácido láctico y sus productos metabólicos se usa convencionalmente para limitar el crecimiento y desarrollo de microorganismos patógenos durante el almacenamiento refrigerado y para prolongar la vida útil de los alimentos (Ben Slima et al., 2017).

Según un estudio realizado por Shan et al. (2017) el enriquecimiento de productos cárnicos con ingredientes saludables puede mejorar la imagen del alimento por parte del consumidor. Es por esto por lo que diversos investigadores han intentado reemplazar total o parcialmente distintos ingredientes como la sal NaCl o los nitritos y nitratos por sales de potasio y lactatos o aceites esenciales respectivamente (Yim, Chung, Jo, & Nam, 2018).

Dentro de los reclamos por parte de los consumidores en la última década estuvieron orientados hacia el contenido graso de los alimentos en general donde los productos cárnicos no están eximidos de esto. Por ende, se han desarrollado alternativas a los ingredientes grasos con los ya conocido "fat mimics" o reemplazantes de grasas encontrando excelentes resultados ya sea tecnológicos como sensoriales y de aceptación por parte de los consumidores (Kumar, Tyagi, Vishwakarma, & Kalia, 2017; Yousefi, Zeynali, & Alizadeh, 2018).

Como se mencionó anteriormente, existe un creciente interés por parte de los consumidores en adquirir alimentos saludables o que en su formulación contengan algún ingrediente que los haga potencialmente funcionales. Dentro de los productos cárnicos se han utilizado como ingredientes funcionales menta peperina (Moarefian, Barzegar, Sattari, & Naghdi Badi, 2012; Olmedilla-Alonso, Jiménez-Colmenero, & Sánchez-Muniz, 2013) y extracto de propóleo (Reis et al., 2017).

Por todo lo antes mencionado esta investigación pretenderá desarrollar y producir un alimento embutido cocido a base de carne vacuna con el agregado de extracto de propóleos, el cual cumplirá una función de conservante debido a sus propiedades de antioxidantes y antimicrobiana, en el producto formulado, además de los beneficios para la salud. Por otro lado, el proyecto propone la reducción del contenido de grasa y el contenido de cloruro de sodio en la formulación de las salchichas. El planteo de estos desafíos está comprendido en desarrollar productos de consumos masivos pero más saludables de los que se encuentran en el mercado, sumándole que es una realidad existente, donde los consumidores prefieren alimentos saludables.

## **Materiales y métodos**

### ***Composición proximal de la carne utilizada***

Todas las determinaciones se realizaron analizando una muestra homogeneizada por triplicado. La humedad, grasa, proteína y ceniza se determinaron utilizando métodos de la AOAC (2000). pH: usando un ph-metro de punta, todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

### ***Preparación del producto cárnico salchicha***

La formulación base utilizada de las salchichas tipo Viena sin grasa adicionada y

reducidas en contenido de sodio, consistió en 30,0% de agua, 1,95 % de concentrado proteico de suero lácteo, gomas xántica 0,228%, goma guar 0,098 % (ambas gomas en relación 7:3), 0,015% de  $\text{NaNO}_2$ , 0,045% de eritorbato de Na, 0,02 % de glutamato de Na, 0,20 % de pimienta blanca, 0,05% de nuez moscada, colorante 0,003%, sales: cloruro de sodio ( $\text{NaCl}$ ), cloruro de potasio ( $\text{KCl}$ ) y cloruro de calcio ( $\text{CaCl}_2$ ) en un total de 2,4%. Se completó a 100% con carne vacuna magra (bola de lomo) (lípidos totales: 1,5 g/100g).

La trituración-homogeneización de la carne desgrasada previamente se procesó empleando una picadora Amwood aw3810 con un disco de corte de 7 mm diámetro de manera de lograr un único lote de carne y así evitar diferencias en las determinaciones que pudieran surgir debido a la variabilidad bioquímica intrínseca de los cortes provenientes de distintos animales. El lote fue fraccionado en bolsas de aproximadamente 400g, bajo vacío y congelado a  $-20^\circ\text{C}$ . El día previo a la elaboración del producto, se descongeló la bolsa a utilizar en heladera ( $4^\circ\text{C}$ ). La carne congelada se empleó dentro de los 25 días de su fraccionamiento.

La carne y las sales ( $\text{CaCl}_2 + \text{NaCl} + \text{KCl}$ ) junto a la mitad del contenido de hielo se trituró-homogeneizó en una procesadora de alimentos (Multiprocesadora/Licuada Moulinex Masterchef 8000 (Francia)) durante 5 minutos y se dejó reposar dos minutos, para establecer contacto entre la carne y las sales. Paralelamente, en un procesador de menor capacidad se homogeneizaron la mitad del agua/hielo restante y los aditivos durante 1 minuto. La mezcla de los aditivos luego fue añadida a la carne con las sales junto al concentrado proteico de suero lácteo y el colorante. Se procesó durante 5 minutos más. La temperatura final de la mezcla no fue superior a  $15^\circ\text{C}$ .

Inmediatamente la mezcla de salchicha preparada se embutió, utilizando una embutidora de laboratorio (Amwood aw3810 con un plato con orificios de 3 mm diámetro) en tripas celulósicas de 22 mm de diámetro.

Las salchichas se colocaron en bolsas de cocción para el tratamiento térmico en un baño de agua con temperatura controlada a  $85^\circ\text{C}$  hasta lograr temperatura interna de  $74^\circ\text{C}$  medida mediante termocupla. El tiempo de cocción fue determinado en un ensayo previo donde la temperatura fue monitoreada mediante termocupla fijándose en 11 min, con un margen de seguridad de 30 seg. Posteriormente se colocó en agua-hielo con el fin de detener la cocción. Los productos finales se envasaron al vacío y se almacenaron a  $4^\circ\text{C}$  durante 24 hs hasta evaluar las características de calidad.

### **Diseño experimental: reemplazo parcial de cloruro de sodio**

Para el desarrollo de las formulaciones se establecieron tres variables en los procesos de obtención del embutido cárnico ( $\text{NaCl}$ ,  $\text{CaCl}_2$ ,  $\text{KCl}$ ). Para lograr la formulación ideal se empleó un diseño CCD (central composite design, de sus siglas en inglés) con 3 puntos centrales y 11 corridas utilizando el software Design-expert 7.0.0. Las concentraciones establecidas para la formulación del modelo fueron  $\text{NaCl}$  (1,1-1,6%),  $\text{CaCl}_2$  (0,2-0,8%) y  $\text{KCl}$  (0,2-0,8%). Las combinaciones de sales para cada una de las formulaciones se presentan en la tabla 1.

**Tabla 1.** Diseño RSM -CCD para la reducción de  $\text{NaCl}$  en Salchichas

Formulación	NaCl (%)	KCl (%)	CaCl <sub>2</sub> (%)
1	1,600	0,200	0,600
2	1,250	0,800	0,350
3	1,250	0,350	0,800
4	1,100	0,650	0,650
5	1,600	0,600	0,200
6	1,400	0,800	0,200
7	1,517	0,342	0,542
8	1,800	0,300	0,300
9	1,250	0,350	0,800
10	1,250	0,350	0,800
11	1,250	0,350	0,800

En la tabla 2 se muestran las formulaciones obtenidas por el CCD, siendo la formulación N°3, el punto central que se realizó en cuatro oportunidades.

**Tabla 2.** Formulaciones realizadas con sus respectivos ingredientes y porcentajes

Ingredientes	Formulaciones							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Carne vacuna	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8	64,8
Agua (hielo)	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0	30,0
NaCl	1,60	1,25	1,25	1,10	1,60	1,40	1,52	1,80
KCl	0,200	0,800	0,350	0,650	0,600	0,800	0,342	0,300
CaCl <sub>2</sub>	0,600	0,350	0,800	0,650	0,200	0,200	0,542	0,300
TTP-Na	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
Concentrado proteico de suero lácteo	1,95	1,95	1,95	1,95	1,95	1,95	1,95	1,95
Xantica	0,228	0,228	0,228	0,228	0,228	0,228	0,228	0,228
Guar	0,098	0,098	0,098	0,098	0,098	0,098	0,098	0,098
Glutamato de sodio	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020	0,020
Eritrobato de sodio	0,045	0,045	0,045	0,045	0,045	0,045	0,045	0,045
Nitrito de sodio	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015	0,015
Pimienta	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200	0,200
Nuez moscada	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050	0,050
Colorante (carmin)	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003	0,003
	100	100	100	100	100	100	100	100

### **Caracterización de las formulaciones del embutido**

A cada formulación diseñada se le determinaron los valores porcentuales tales como: el contenido de ceniza (método N° 942.05, AOAC, 2000), contenido de proteína (método N° 984.13AOAC, 2000), contenido total de nitrógeno por el factor 6.25 (AOAC, 2000) y el contenido de lípidos (método N° 24.005, AOAC, 1984). Los valores nutricionales tales como calorías totales (kcal) se calcularon en relación con las muestras de 100 g utilizando los valores de Atwater correspondientes a la grasa (9 kcal/g), proteína (4,02 kcal/g) y carbohidratos (3,87 kcal/g) (Jairath, Sharma, Dabur, Singh, & Bishnoi, 2017).

La determinación del contenido de agua se efectuó empleando el método indirecto por secado en estufa a 100°C (Código Alimentario Argentino, 1969). La metodología consistió en determinar la diferencia de peso antes y después de secar las muestras en una estufa (Ionomex, MCH (Argentina)) a 100°C, hasta pesada constante. Los resultados se expresaron como porcentaje en base seca (g de agua/100 g muestra) de tres determinaciones.

El análisis de pH fue realizado de acuerdo al autor Liu, Xiong, and Rentfrow (2011). La medición de pH se realizó con un electrodo de pH combinado de vidrio conectado a un pH-metro (MicropH 2001, Crison, Barcelona, España).

Para las pérdidas por centrifugado (PPC) se tomó una porción cilíndrica (0,5 cm de largo x 0,3 cm de diámetro) de cada formulación a las 24 h de ser elaborada, se pesó y se colocó en un tubo de centrifuga tipo Falcon previsto de una malla plástica y perlas de vidrio, previamente pesado. Se centrifugó a 1200 g durante cinco minutos, posteriormente se retiró la muestra del tubo y se pesó para calcular la cantidad de fluido liberado de la muestra por diferencia de pesada del tubo antes y después del ensayo. Este ensayo permitió analizar de forma empírica la fuerza relativa en la que la matriz se encuentra interactuando con el agua presente en la composición.

La evaluación de color de las muestras se realizó midiendo los parámetros  $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$  del espacio CIELAB, empleando un fotocolorímetro portátil HUNTER LAB MiniScan EZ (Estados Unidos). Se utilizó el iluminante C y un ángulo de observador CIE de 2°. Los resultados se expresaron como el promedio de 3 determinaciones realizadas a cinco muestras de la formulación analizada. La medición se realizó seis veces en cada triplicado. Los valores de luminosidad (CIE  $L^*$ ), enrojecimiento (CIE  $a^*$ ) y amarillez (CIE  $b^*$ ) fueron registrados en el momento.

El Análisis de Perfil de Textura (TPA, siglas en inglés) es un ensayo que consiste en dos compresiones consecutivas del alimento simulando lo que ocurriría en la boca durante la masticación (Bourne, 1978). Permite medir y cuantificar parámetros tales como: dureza, gomosidad, masticabilidad, elasticidad, cohesividad entre otros, que se relacionan con variables como la tasa de deformación aplicada y la composición del producto. El ensayo se realizó utilizando una máquina de testeo universal Instron 3342 (Massachusetts, Estados Unidos) con una punta de acero inoxidable de 5 cm de diámetro. Las muestras se comprimieron al 30% de su altura, a 0,5 mm/s. Todas las mediciones se realizaron por triplicado y los resultados se informaron como el promedio  $\pm$  la desviación estándar.

## Análisis de respuesta de superficie

**Los datos se ajustaron al siguiente modelo polinomial:**

$$\hat{Y} = \beta_0 - \beta_i X_1 + \beta_j X_2 + \beta_k X_3 + \beta_{ij} X_1 X_2 + \beta_{ik} X_1 X_3 + \beta_{jk} X_2 X_3 + \beta_{ijk} X_1 X_2 X_3 + \beta_{ik(i-k)} X_1 X_3 (X_1 - X_3) \quad (1)$$

Donde Y es la variable de respuesta, Xi son la proporción de componentes ( $X_1 = \text{NaCl}$ ,  $X_2 = \text{KCl}$ ,  $X_3 = \text{CaCl}_2$ ,  $\sum X_i = 2,4\%$ ) y  $\beta_i$ ,  $\beta_j$ ,  $\beta_k$ ,  $\beta_{ij}$ ,  $\beta_{ik}$ ,  $\beta_{jk}$ ,  $\beta_{ijk}$  y  $\beta_{i-k}$  son los coeficientes de regresión, respectivamente. Se siguió una metodología paso a paso para determinar los términos significativos en la ecuación (1).

Una vez realizado el ajuste del modelo, se realizó un análisis residual para validar los criterios utilizados en el análisis de varianza. Este análisis incluyó el cálculo de estadísticas de casos para identificar valores atípicos y el examen de gráficos de diagnóstico, como gráficos normales y residuales. La proporción de varianza explicada por los modelos polinomiales obtenidos estuvo dada por el coeficiente de determinación múltiple,  $R^2$ , y la adecuación del modelo se verificó mediante una prueba de "falta de ajuste".

### Optimización

El principal objetivo de la optimización fue lograr valores similares a los que arrojó la muestra comercial con 17 g de grasa / 100 g (valores no mostrados) en las propiedades textuales determinadas por los niveles de variables independientes (componentes de la formulación) que conducen a los mejores embutidos, bajo contenido de sodio y sin grasa agregada.

Se utilizó el criterio de deseabilidad general (Derringer & Suich, 1980). Cada respuesta se estandarizó en las funciones deseadas. Solo aquellos parámetros que se vieron afectados significativamente por la composición se incluyeron en el proceso de optimización. La formulación óptima se utilizó para calcular los valores predichos de las variables de respuesta utilizando las ecuaciones predictivas derivadas por RSM. Finalmente, los resultados fueron validados estadísticamente a los valores predichos por el modelo matemático.

### Preparación del producto cárnico con extracto de propóleo

El extracto acuoso de propóleo (EAP) se obtuvo de una solución al 15% de agua: etanol (30- 70) alcanzado mediante un proceso de lixiviación sobre el propóleo bruto y luego se liofilizó (48 hs,  $-50^\circ\text{C}$ , 0,058mbar) usando como transportador (carrier) las sales de NaCl, KCl y  $\text{CaCl}_2$  que llevaría a la formulación óptima obteniendo así un extracto seco de propóleo.

A partir de la formulación óptima, reducida en sodio y sin grasa añadida, se diseñaron 3 formulaciones en las cuales se hizo un reemplazo parcial y total de la sal de nitrito (conservante) utilizado en el diseño anterior. A la formulación se incorporó el extracto de propóleo liofilizado junto a las sales a la carne con agua-hielo y, siguió según la metodología anteriormente descrita.

### **Estudio del almacenamiento**

Las formulaciones obtenidas y la control fueron envasada al vacío y almacenadas a 4°C durante 42 días, evaluando el pH, humedad, pérdidas por centrifugado, parámetros de color, L\*, a\* y b\*, y análisis de perfil de textura. Estos análisis fueron realizados a inicio, a los 21 y a los 42 días de almacenamiento (T0, a 0 días T21, a 21 días y T42, a 42 días).

### **Análisis microbiológicos**

Se realizaron los siguientes análisis microbiológicos: recuento de coliformes totales, recuento de mohos y levaduras, y recuento de bacterias ácidos lácticos. La determinación de coliformes totales se realizó por la técnica de recuento en placa según la metodología; el recuento de mohos y levaduras por el Método horizontal para la enumeración de mohos y levaduras; según el procedimiento de la International Standard Organization ISO 21527-2:2008. El recuento de bacterias ácido lácticas fue realizado según la técnica de recuento en placas de la norma ISO 15214.

### **Análisis sensorial**

La evaluación sensorial de alimentos es de suma importancia en la investigación y el desarrollo de alimentos. La aceptación de los alimentos por los consumidores, está muy relacionada con la percepción sensorial de los mismos, y es común que existan alimentos altamente nutritivos, pero que no son aceptados por los consumidores. En este caso se llevaron a cabo evaluaciones del tipo cualitativa y cuantitativa que permitieron tener una impresión sobre el producto de los posibles consumidores.

### **Evaluación sensorial cualitativa de la salchicha baja en sodio**

Para la formulación óptima sin extracto de propóleo se propuso realizar una evaluación sensorial cualitativa, con el objetivo principal fue obtener una percepción de lo que juzgan los consumidores de un producto cárnico alternativo y saludable, no se pretendía obtener información de una muestra de población correspondiente a un mercado real de personas (Vidal, Ares, & Giménez, 2013). La encuesta se difundió por correo electrónico, mensajería instantánea y se subió a las redes sociales.

La encuesta enviada tenía cuatro preguntas y una fotografía que describía el producto cárnico. Al principio, se preguntó qué característica (textura, color, sabor, apariencia) debería estar lo más cerca posible de una salchicha tradicional. Luego se les preguntó por la primera impresión o sensaciones sobre el producto cárnico propuesto, utilizándose la técnica Word association task para el análisis de los datos. Finalmente, se agregó una última pregunta para conocer la intención de compra y con una respuesta positiva se les preguntó por el motivo, dando a los participantes dos opciones: curiosidad o necesidad.

### **Evaluación sensorial cualitativa de la salchicha baja en sodio con el extracto de propóleo**

En el caso de la salchicha con el extracto de propóleo se utilizó la misma metodología de encuesta en línea. El estudio se basó en presentar una salchicha tipo Viena con el agregado de extracto de propóleo en reemplazo del nitrito de sodio. Mediante la respuesta del cuestionario online se obtuvo información de las percepciones de los consumidores que interesan a la investigación. Se utilizaron preguntas cerradas de opción múltiple para cuestionar: ¿Consumiría este tipo de producto?, ¿Cuál sería la principal



característica que debería tener para asemejarse a una salchicha tradicional?, ¿Compararía este tipo de producto?, y abiertas al preguntar: ¿Qué espera encontrar en el producto que lo diferencie de las salchichas tradicionales?, y, por último, se les solicitó que expresaran en una palabra la impresión o sensación que le generaba el producto analizada por la técnica Word association task. La investigación se centró en describir la percepción del consumidor en relación con el cambio de ingredientes sintéticos por naturales en salchichas tipo Viena.

**Evaluación sensorial cuantitativa para las salchichas con extracto de propóleo**

Las evaluaciones sensoriales, pruebas dúo-trío y de aceptabilidad, se realizaron con un panel no entrenado, en la Facultad de Bromatología, en la ciudad de Gualeguaychú, Entre Ríos. Para la prueba triangular se les dieron tres muestras codificadas, de las cuales dos muestras fueron idénticas y una fue diferente. Las muestras eran: salchicha sin y sin agregado de extracto de propóleos; todas las muestras fueron codificadas con números de tres dígitos y dispuestas aleatoriamente. A los panelistas, se les solicito que prueben las muestras de izquierda a derecha e identifiquen cuales es la diferente.

Nombre.....	Fecha:.....
Evaluador Nº:.....	
Usted recibirá tres muestras de salchichas. Dos de estas muestras son idénticas y la otra es diferente. Saboree cada una con cuidado y por favor circule el número de la muestra diferente.	
261 544 243 <b>MUCHAS GRACIAS!</b>	

**Figura 1.** Planilla utilizada por los evaluadores para la prueba del triángulo

Para las pruebas de aceptabilidad y descriptivas se usó una escala de intervalos evaluando el grado de aceptabilidad e intensidad de los atributos (color, sabor, textura, apariencia, aceptabilidad en general) del producto, con un total de 80 encuestados. Se presentaron muestras de salchichas comercial reducidas en sodio y grasas totales (Paladini®) y la salchicha diseñada, a los panelistas que incluían profesores universitarios, personal, estudiantes y público en general que tenían experiencia en la evaluación sensorial de alimentos, pero que no recibieron capacitación específica relevante para estos productos. Se pidió a los panelistas que indicaran cuánto les gustaba o disgustaba cada producto en una escala hedónica de 9 puntos (9 = me gusta muchísimo; 1 = me disgusta muchísimo) para cada atributo (Figura 2). A las muestras se les asignaron códigos aleatorios de tres dígitos para su identificación y el orden de presentación fue aleatorio. La mayoría de los panelistas que participaron en los paneles sensoriales se encontraban en el rango de edad de 20 a 70 años.

Una vez finalizado el análisis de aceptabilidad por atributos, se le preguntó a cada panelista sobre las muestras analizadas ¿cuál de las dos muestras prefiere? y definir su preferencia de acuerdo a una evaluación global.

Nombre .....		Fecha:.....							Evaluador N°:.....	
<p>Usted recibirá 2 muestras de salchichas. Utilizando la escala indicada por favor evalúe cada atributo marcando con una cruz (x) en el casillero adecuado.</p>										
		<i>Me disgusta</i>							<i>Me gusta</i>	
	Apariencia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Color	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Sabor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Textura	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Muestra 362</b>	<b>Aceptabilidad general</b>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
		<i>Me disgusta</i>							<i>Me gusta</i>	
	Apariencia	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Color	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Sabor	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	Textura	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>Muestra 926</b>	<b>Aceptabilidad general</b>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>MUCHAS GRACIAS!</b>										
¿Cuál de las dos muestras prefiere? <u>   </u> 926 <u>   </u> 362										

Figura 2. Planilla utilizada para la prueba de aceptabilidad de salchichas por atributos utilizando la escala hedónica

En ambas pruebas las muestras se prepararon sumergiendo las salchichas en agua hirviendo durante 3 min, escurriendo el líquido y manteniéndolas en una bandeja de calentamiento en platos tapados (no más de 30 min). Se distribuyeron piezas templadas de 2 cm de largo en platos de poliestireno blanco. A los panelistas se les proporcionó agua para limpiar el paladar entre muestras. Los experimentos se realizaron en una sala sensorial adecuadamente diseñada e iluminada.

## Resultados

### Composición proximal

La composición de la carne presentó valores de grasas de 1,5 g/100g, en cuanto a las proteínas los valores obtenidos fueron de 17 g/100g.

Las formulaciones presentaron valores de grasa entre 0,14 g/100., proteínas de 16,5mgN/100g, humedad (71,1 y 76,4gH<sub>2</sub>O/100g), pH (5,59 y 6,12), cenizas (2,07 y 6,56mg/100g), Ca<sup>+2</sup> (131,2 y 2421,7mg/100g), Na<sup>+</sup> (290,1 y 3722,2mg/100g) y K<sup>+</sup> (314,8 y 6197,5 mg/100g). El contenido de lípidos para las diferentes formulaciones fue inferior a 0,14 g / 100 g, podría deberse a la cantidad de grasa encontrada en la carne. El valor de la energía estuvo en 81,2- 90,6kcal / 100g, menos de la mitad de los 206 kcal/100g de los productos tradicionales, mientras que los valores de contenido de proteína de las diferentes formulaciones fueron superiores que la muestra comercial analizada (11% de contenido de proteína).

### Parámetros de calidad

Los valores de pH y PPC de las formulaciones se muestran en la tabla 3. Los valores de pH obtenidos para las diferentes formulaciones estuvieron en un rango de 5,62±0,01 a 6,00±0,06. En el análisis de varianza se puede observar que las formulaciones 3 y 4 presentaron los valores más bajos de pH y a su vez no existen diferencias significativas (p>0,05) entre ellos, eso se podría adjudicar a la composición en cuanto al contenido de sales. El punto isoeléctrico (pI) de las proteínas cárnicas se sitúa a un pH = 5.0 (Ruu-

sunen & Puolanne, 2005). Sin embargo, la fuerza iónica del sistema puede alterar el valor de *pI*. Con el agregado de 2 g de NaCl/100g, el *pI* de proteínas cárnicas se desplaza a un *pH* = 4.0 y el *pH* de mayor hinchamiento de las miofibrillas se encuentra entre *pH* = 6.0 - 6.2 (Ruusunen & Puolanne, 2005). El valor de *pH* de las formulaciones analizadas se encontró más cercano a esta última condición permitiendo que se alcanzara el valor de *pH* óptimo para la gelificación de miosina inducida por calor. La no adición de grasa no influyó en este parámetro. Sin embargo, la combinación de sales mostró que un bajo contenido de NaCl y un mayor contenido de CaCl<sub>2</sub> reducen el valor del *pH*, lo que puede comprometer las propiedades de unión a proteínas y la absorción de agua pudiendo afectar negativamente a los parámetros texturales.

**Tabla 3.** Valores de Pérdida por centrifugado y *pH* para cada formulación estudiada

Formulación	NaCl (%)	KCl (%)	CaCl <sub>2</sub> (%)	Pérdidas de centrifugado	<i>pH</i>
F1	1,600	0,200	0,600	23,3±0,89b	5,77±0.00c
F2	1,250	0,800	0,350	26,2±0,89cd	5,69±0.01b
F3	1,250	0,350	0,800	26,6±0,63d	5,60±0.00a
F4	1,100	0,650	0,650	23,2±0,89b	5,62±0.01a
F5	1,600	0,600	0,200	17,0±0,89a	6,00±0.06e
F6	1,400	0,800	0,200	23,6±0,89bc	5,87±0.00d
F7	1,517	0,342	0,542	31,8±0,54e	5,69±0.02b
F8	1,800	0,300	0,300	24,9±0,89bcd	5,78±0.01c

Se muestran los promedios ± errores estándar de la media (EEM). Promedios con una letra común no son significativamente diferentes ( $p > 0,05$ )

En la tabla 3 se muestran los valores de pérdida por centrifugado de las diferentes formulaciones, se observaron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), siendo el valor más bajo de pérdida por centrifugado cuando el contenido de cloruro de calcio es menor y los niveles de cloruro de sodio y potasio son mayores (F5); en cambio, se observó un mayor valor de pérdida por centrifugado a mayor contenido de cloruro de calcio y contrariamente bajo a niveles de cloruro de sodio y potasio bajos (F7).

La pérdida por centrifugación es una prueba en condiciones extremas para evaluar la capacidad de retención de líquidos por la matriz cárnica. El contenido y tipo de sales del sistema determinará la fuerza iónica del mismo. Como es sabido, la fuerza iónica es un parámetro importante que afecta la capacidad de las proteínas para interaccionar con las moléculas de agua en los geles cárnicos. La eficiencia de estas interacciones se puede ver reflejada en la capacidad de retención de agua del gel (Huff-Lonergan & Lonergan, 2005). Así, cuando el NaCl se reduce, la cantidad de proteína extraída también puede disminuir (Gordon & Barbut, 1992) lo que reduce la capacidad de retención de agua y la fuerza del gel (Whiting, 1984). La adición de sal realiza un efecto en la fuerza iónica, lo que significa que el ion cloruro causa una repulsión electrostática en las proteínas del músculo, lo que hace que se ligue más agua o esta quede atrapada dentro de las fibras o células del músculo (Knipe, 2004) por lo que a menor cantidad

de sal que agreguemos existirá más pérdida. Para mejorar la retención de agua en las formulaciones de productos cárnicos emulsionados, se suelen utilizar sales de fosfatos (di, tri y/o polifosfatos), estos elevan el pH y la fuerza iónica, así como un intercambio específico con la proteína muscular fibrilar favoreciendo el proceso de emulsión, ya que estimulan la dispersión molecular (Fisher, 1994.)

### Modelo experimental

El modelo experimental resultante fue lineal con componente mixto de forma real, obteniendo una falta de ajuste=5. Se encontraron errores estándar cercanos a 1 y VIF por debajo de 10 para las tres variables. Diferentes modelos individuales se obtuvieron para cada variable, cuadrático reducido para la dureza y el parámetro  $b^*$ , modelo cuadrático para elasticidad, para los parámetros  $L^*$  y la cohesividad se modeló con modelo reducido cúbico especial, todos con una significancia de  $p < 0,005$ . En la tabla 4 los respectivos coeficientes de regresión.

**Tabla 4.** Coeficientes de regresión de los parámetros de color y TPA modelados

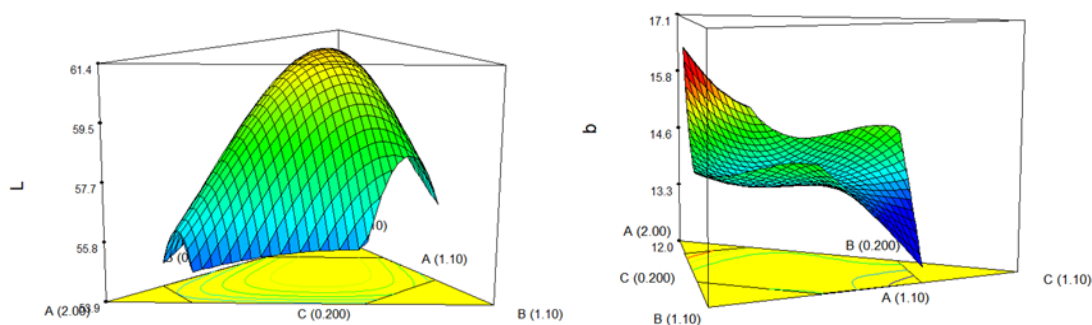
Coeficientes de regresión	Dureza (N)	Elasticidad	Cohesividad	$L^*$	$b^*$
NaCl	32,6	0,998	1,000	61,6	40,7
KCl	29,8	0,988	1,458	130	+61,5
$CaCl_2$	77,0	0,986	1,622	183	-278,
NaCl * KCl		0,024		-177	-141,
NaCl * $CaCl_2$ * KCl	-99,8	0,026		-251	523
KCl * $CaCl_2$		0,029	25,74	-1,16E+003	228
NaCl * KCl * $CaCl_2$			-73,20	2,47E +003	
NaCl * $CaCl_2$ * (NaCl * $CaCl_2$ )					-466
Modelo	<0,0001	0,00490	<0,0001	<0,0001	<0,0001
R-cuadrado ajustado	0,3776	0,2139	0,4270	0,7942	0,8253
R-cuadrado predicho	0,3191	0,1507	0,3919	0,7737	0,8082
Adeq Precision	9,70	5,28	9,24	16,7	25,6
Falta de ajuste	0,8710	0,5770	0,3710	0,229	0,685

Todos los parámetros analizados en el modelo fueron significativas ( $p < 0,001$ ), en todas las variables ajustadas, "R-cuadrado predicho" valor razonable que estuvo de acuerdo con el valor de "R-cuadrado ajustado" y "Adeq Precision" valor que mide las relaciones señal/ruido, donde es deseable una relación superior a 4, como se ve en la Tabla 4, todos los modelos indican una señal adecuada.

### Efecto de la disminución del contenido de NaCl sobre el color y la textura

Con relación al estudio del efecto de la disminución del contenido de NaCl sobre el color y la textura se encontraron diferencias significativas en los parámetros de color,

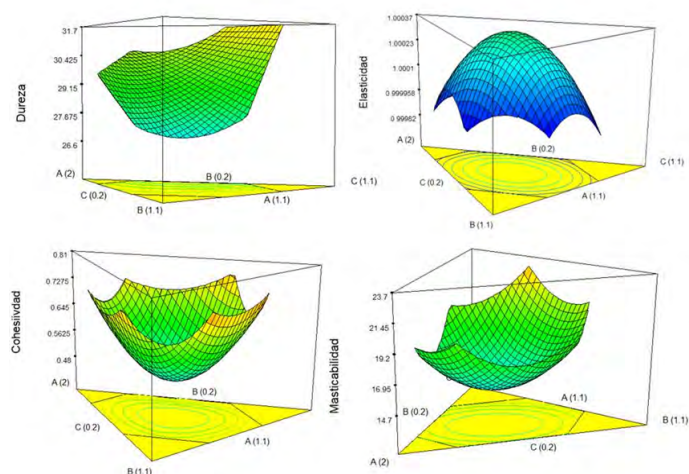
$L^*$  (luminosidad),  $a^*$  y  $b^*$  (parámetros de cromaticidad) en función de la proporción de NaCl, KCl y  $\text{CaCl}_2$ . Solamente los parámetros  $L^*$  y  $b^*$  pudieron ser ajustados al modelo matemático propuesto. En la figura 3 se presentan los gráficos de superficie obtenidos.



**Figura 3.** Parámetros CIE  $L^*$  y  $b^*$  representados por curvas modeladas en 3D

Con relación a los demás parámetros estudiados (dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad), la dureza varió entre 24,4–29,4N. En la figura 4a de este atributo se puede observar que el aumento de  $\text{CaCl}_2$  y la disminución de NaCl, produce un aumento de la dureza, representado por el coeficiente de interacción, el cual fue negativo de magnitud considerable (-99,8) y el coeficiente lineal para el  $\text{CaCl}_2$  fue positivo (+77,0). Estos resultados se encuentran en concordancia con lo explicado por Horita, Messias, Morgano, Hayakawa, and Pollonio (2014) donde las formulaciones que contenían hasta 50% de  $\text{CaCl}_2$  como sustituto mostraron los valores más altos de dureza, así como también de los más altos de pérdida de centrifugado denotando la contribución negativa de la sal divalente de  $\text{CaCl}_2$  hacia las propiedades texturales de los alimentos cárnicos. En los productos cárnicos emulsionados, el aumento de la dureza está relacionado con la reducción del agua ligada en la masa durante la cocción debido a la baja compresión en la matriz proteica (Horita, Morgano, Celeghini, & Pollonio, 2011; Totosaus, Alfaro-rodriguez, & Pérez-chabela, 2004).

La elasticidad de las formulaciones estudiadas fueron significativos los términos lineales y de segundo orden. El máximo valor de elasticidad de acuerdo con el modelo SR correspondería a los valores medios de los niveles de las sales incorporadas en las formulaciones (Figura 4b) y presenta valores similares a la salchicha comercial ( $1,00 \pm 0,0004$ ). La cohesividad presentó una dependencia compleja con la combinación de sales, siendo el término de tercer orden el más influyente de forma negativa. En la figura 4c de cohesividad se puede observar un valor mínimo en niveles medios de las variables independiente. En cuanto a la variable masticabilidad, el modelo mostró que en los términos lineales la variable más influyente para este atributo fue el contenido de  $\text{CaCl}_2$  (209,6). Como se observa en la figura 4d, el aumento del  $\text{CaCl}_2$  produce un incremento de la masticabilidad, pero si a su vez existe un aumento de NaCl, la masticabilidad disminuye, demostrado por el término de interacción  $\text{NaCl} \cdot \text{CaCl}_2$  (-357,9). Esto se puede interpretar de manera similar a lo observado en el parámetro dureza, ya que la masticabilidad está influenciada por la misma (Horita et al., 2014).



**Figura 4.** Parámetros de TPA representados por curvas modeladas en 3D (a-dureza, b-elasticidad, c-cohesión, d-masticabilidad).

### Optimización y validación del modelo

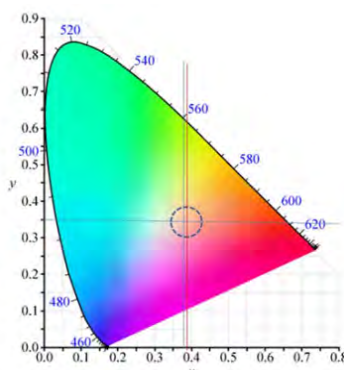
Solo aquellos parámetros que se vieron afectados significativamente por la composición se incluyeron en la optimización del modelo: dureza (d1), elasticidad (d2), cohesión (d3),  $L^*$  (d5) y  $b^*$  (d6). El valor de deseabilidad global obtenido fue 0,864, que es bastante satisfactorio, ya que se acerca a 1.

Se establecieron dentro del modelo ciertos propósitos como minimizar el contenido de NaCl y el parámetro  $b^*$ , maximizar concentraciones de KCl y  $CaCl_2$  y cohesividad mientras que el resto de parámetros se mantuvieron en el rango de trabajo establecido al principio. Dependiendo de las condiciones de diseño indicadas anteriormente, los porcentajes de NaCl, KCl y  $CaCl_2$  se obtuvieron siendo 1,1; 0,728 y 0,572% respectivamente. Una vez determinada la formulación óptima, se utilizó para producir salchichas bajas en sodio y se modelaron todas las variables de respuesta (dureza, elasticidad, cohesión,  $L^*$  y  $b^*$ ). El modelo de validación presentó que solo la dureza, elasticidad y cohesividad estaban dentro del intervalo de confianza, mientras que los parámetros  $L^*$  y  $b^*$  se observaron fuera del mismo (Tabla 5).

**Tabla 5.** Valores descriptivos y esperados de los parámetros modelados

	Dureza (N)	Elasticidad	Cohesividad	Masticabilidad (N)	$L^*$	$b^*$
promedio	34,02	0,999	0,737	25,0	59,2	15,3
SD	3,06	0,0001	0,023	1,65	0,35	0,13
CV	9,00	0,011	3,14	6,60	0,59	0,86
Lím. Inf.	31,0	0,9998	0,714	23,4	58,9	15,2
Lím. sup.	37,1	1,0001	0,760	26,7	59,6	15,4
Esperado	31,5	0,9999	0,732	21,6	60,9	12,9

Con relación a los valores  $L^*$  y  $b^*$ , se puede ver en la Figura 5 (espacio de color CIE 1931), que los puntos estaban próximos entre ellos. Fue corroborado por el cálculo de la  $E^*$  de CieLab, es decir, la diferencia de color, definida por la ecuación  $((L_f - L_i)^2 + (a_f - a_i)^2 + (b_f - b_i)^2)^{1/2}$  donde  $i$  y  $f$  son medidas del color de la salchicha óptima y esperada, respectivamente. Se pudo confirmar que el valor de  $E^*$  fue de 2,98, lo que se considera una diferencia de color apenas perceptible para el ojo humano entre muestras.



**Figura 5.** Representación espacial de los parámetros de CIE Lab obtenidos

Si bien el parámetro “pérdida por centrifugado” no se logró modelar por su “lack of fit” igualmente se realizó para observar el efecto de la reducción de NaCl y aumento de los iones  $Ca^{+2}$  y  $K^+$  en la formulación, observando que el esperado y el obtenido se encontraron muy próximos entre sí, siendo 21,95% y 22,48%, respectivamente.

### **Evaluación sensorial cualitativa: asociación de palabras**

El cuestionario fue completado por doscientos veinticinco consumidores ( $n = 225$ ) y los resultados mostraron que las opciones mencionadas en la pregunta uno (respuestas totales = 220), el sabor fue el más importante (49,5%;  $n = 109$ ), por lo que tiene que ser la característica que debe estar lo más cerca posible de un producto cárnico tradicional, seguida de la apariencia (27,7%;  $n = 61$ ), textura (17,3%;  $n = 38$ ) y finalmente el color del producto cárnico con 5,5%;  $n = 12$ .

Al realizar la tarea de asociación de palabras, las categorías mencionadas por un mayor porcentaje de consumidores fueron “aceptación”, “saludable” y “curiosidad” (Figura 6). Esto indica que los consumidores habían asociado positivamente la idea del producto. Finalmente, cuando se les preguntó si comprarían el producto, el 50,7% ( $n = 112$ ) (respuestas totales = 221) de los consumidores respondieron afirmativamente y solo el 15,8% ( $n = 35$ ) de forma negativa, dejando el resto como una opción quizás: 33,5% ( $n = 74$ ) y el 92,5%;  $n = 149$  (respuestas totales = 161) de los participantes comprarían este producto cárnico saludable por “curiosidad”.







### Estudio de las cambios fisicoquímicos y texturales

Se analizó el efecto del tiempo de almacenamiento sobre las características físico químicas del embutido cárnico con nitrito de sodio (Tabla 7). Se puede observar que los parámetros más afectados durante el almacenamiento a 4°C (T0=0 días, T21=21 días; T42=42 días) fueron los pertenecientes al color (CIE Lab) y la humedad. Así mismo, el pH y el valor de pérdida por centrifugado fueron los parámetros que presentaron valores más elevados, y de los atributos medidos en el análisis de perfil de textura, fueron la adhesividad y cohesividad los más influenciados por el tiempo de almacenamiento (días).

**Tabla 7.** Medias y desviaciones estándares de los parámetros estudiados en cada tiempo de almacenamiento para la formulación control

Parámetros	Muestra con nitrito			Efecto del tiempo	
	T0	T21	T42	F	p
L*	53,21±1,48 <sup>a</sup>	40,8±3,08 <sup>b</sup>	47,44±2,26 <sup>c</sup>	3102,00	<0,001
a*	9,66±0,21 <sup>a</sup>	11,19±0,77 <sup>b</sup>	12,20±0,63 <sup>c</sup>	2485,00	<0,001
b*	16,10±0,26 <sup>a</sup>	11,37±0,29 <sup>b</sup>	13,91±0,32 <sup>c</sup>	16816,00	<0,001
Humedad (%p/p)	75,16±0,16 <sup>a</sup>	73,14±0,52 <sup>b</sup>	73,64±0,23 <sup>c</sup>	361000,00	<0,001
Centrifugado (%p/p)	21,24±2,63 <sup>a</sup>	15,26±1,16 <sup>b</sup>	21,05±1,96 <sup>a</sup>	641,00	<0,001
pH	6,63±1,06 <sup>a</sup>	5,70±0,01 <sup>a</sup>	5,72±0,01 <sup>a</sup>	571,00	<0,001
Dureza (N)	17,47±2,30 <sup>a</sup>	16,49±4,96 <sup>a</sup>	12,03±4,66 <sup>a</sup>	82,00	<0,001
Adhesividad (J)	-1,13±0,06 <sup>a</sup>	-0,05±0,07 <sup>b</sup>	-0,10±0,16 <sup>b</sup>	112,00	<0,001
Elasticidad	1,00±0,00 <sup>a</sup>	0,99±0,00 <sup>a</sup>	0,99±0,00 <sup>a</sup>	-	-
Cohesividad	0,64±0,07 <sup>a</sup>	0,77±0,02 <sup>ab</sup>	0,93±0,18 <sup>b</sup>	268,00	<0,001
Masticabilidad (N)	10,95±0,23 <sup>a</sup>	12,75±4,10 <sup>a</sup>	11,22±4,98 <sup>a</sup>	43,00	<0,001
Resiliencia	0,38±0,02 <sup>ab</sup>	0,48±0,05 <sup>b</sup>	0,20±0,26 <sup>a</sup>	27,00	<0,001
Gomosidad (N)	10,95±0,23 <sup>a</sup>	12,76±4,10 <sup>a</sup>	11,22±4,98 <sup>a</sup>	43,00	<0,001

La Tabla 8 muestra los valores medios y las desviaciones estándar de los parámetros estudiados para cada tiempo de almacenamiento propuesto (7, 21 y 42 días) y para cada concentración de EAP (F2-50%, F3-100% y F4-200%) respecto de la concentración inicial de NaNO<sub>2</sub>.

**Tabla 8.** Medias y desviaciones estándares de los parámetros estudiados en cada tiempo de almacenamiento para cada formulación

Parámetros	F2 Propóleo (50/50)			F3 Propóleo (100%)			F4 Propóleo (200%)		
	T0	T21	T42	T0	T21	T42	T0	T21	T42
L*	55,75±0,83	44,46±3,69	49,77±2,56	55,57±0,54	50,29±3,28	49,08±2,08	54,95±1,02	45,23±5,46	48,31±4,69
a*	7,75±0,18	5,811±0,43	7,37±0,39	5,93±0,19	5,93±0,37	7,04±0,11	5,58±0,11	5,08±0,45	5,63±0,29
b*	17,220,29	13,71±1,11	16,40±0,45	15,75±0,11	14,75±0,89	15,62±0,25	15,67±0,32	13,72±1,36	15,50±1,65
Humedad (%p/p)	76,35±0,52	72,15±0,06	73,45±0,06	75,11±0,02	74,40±0,12	73,80±0,03	75,12±0,72	74,14±0,36	73,22±0,39
Centrifugado (%p/p)	23,30±1,15	18,29±0,83	19,71±0,51	5,69±0,24	30,54±3,42	15,99±2,69	21,93±1,16	17,75±0,21	12,81±0,77
pH	5,68±0,01	5,69±0,00	5,7±0,00	5,78±0,01	5,81±0,01	5,70±0,03	5,83±0,01	5,74±0,00	5,60±0,00
Dureza (N)	13,27±2,10	16,16±2,74	11,99±3,17	15,13±1,07	15,89±1,03	14,41±0,89	17,85±1,81	14,73±2,58	20,05±1,86
Adhesividad (J)	-1,54±0,35	-1,26±1,13	-0,13±0,20	-1,33±0,27	-0,58±0,37	-0,26±0,22	-0,89±0,26	-0,10±0,10	-0,19±0,14
Elasticidad	1,00±0,00	0,99±0,00	0,10±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	0,99±0,00
Cohesividad	0,57±0,03	0,64±0,07	0,77±0,02	0,65±0,01	0,69±0,06	0,73±0,02	0,65±0,00	0,73±0,02	0,72±0,01
Masticabilidad (N)	7,62±1,63	10,18±1,06	8,03±2,49	10,50±1,73	10,41±1,96	10,51±0,71	11,58±1,11	10,69±1,73	14,45±1,39
Resiliencia	0,34±0,02	0,35±0,02	0,40±0,03	0,40±0,01	0,40±0,04	0,36±0,09	0,40±0,05	0,40±0,03	0,40±0,02
Gomosidad (N)	7,62±1,63	10,18±1,06	8,03±2,49	10,51±1,73	10,41±1,97	10,52±0,71	11,58±1,11	10,69±1,73	14,46±1,39

Se realizó un análisis de ANOVA two way, con el fin de establecer el efecto individual del tiempo de almacenamiento y la concentración de EAP, y la interacción de ambas variables. Del análisis (tabla 9) se pudo observar que los parámetros mayormente afectados ( $p < 0,001$ ) por la variable tiempo fueron los parámetros de color ( $a^*$ ), contenido de humedad, pérdida por centrifugado, pH y de los parámetros de textura solo, los valores de adhesividad y cohesividad. Mientras que por la variable concentración de EAP se observaron menor cantidad de parámetros altamente afectados ( $a^*$ , dureza, masticabilidad y gomosidad). En cuanto a la interacción entre tiempo y concentración de EAP los parámetros más afectados fueron parámetro de color  $a^*$ , contenido de humedad, pérdida por centrifugado y pH.

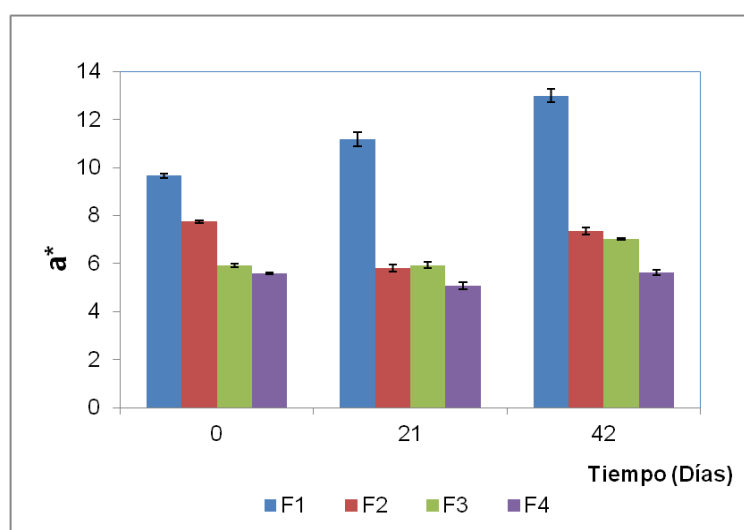
**Tabla 9.** Valores F y p del análisis ANOVA Two Way para evaluar el efecto del tiempo y la concentración de EAP

Parámetros	Tiempo		Concentración EAP		Interacción	
	F	p	F	p	F	P
L*	48,1	0,000	2,94	0,060	2,60	0,045
a*	78,5	0,000	154,9	0,000	25,3	0,000
b*	38,3	0,000	4,83	0,011	4,06	0,006
Humedad (%p/p)	229,3	0,000	8,40	0,001	53,1	0,000
Centrifugado (%p/p)	89,0	0,000	24,1	0,000	186,1	0,000
pH	378,6	0,000	195,6	0,000	230,0	0,000
Dureza (N)	0,03	0,971	15,03	0,000	9,83	0,000

Adhesividad (J)	23,5	0,000	7,83	0,001	3,38	0,016
Elasticidad	0,62	0,539	9,67	0,000	3,37	0,017
Cohesividad	33,7	0,000	5,08	0,010	6,32	0,000
Masticabilidad (N)	2,05	0,140	23,8	0,000	6,79	0,000
Resiliencia	0,19	0,828	3,19	0,050	2,46	0,058
Gomosidad (N)	2,05	0,139	23,8	0,000	6,79	0,000

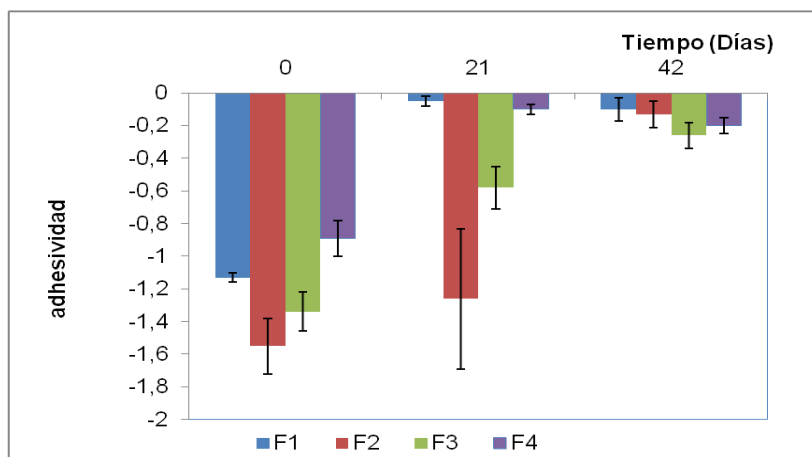
Si bien se observa que la interacción de tiempo de almacenamiento y concentración de EAP afecta los parámetros de perfil de textura, es menos importante que la influencia del tiempo sobre los parámetros de color.

A continuación se muestran las figuras de los parámetros que significativamente fueron afectados por las variables tiempo de almacenamiento y concentración de EAP. En la figura 7 se muestra la variación de parámetro  $a^*$  con respecto al tiempo y a la concentración de extracto de propóleo en las diferentes formulaciones. La formulación que contiene nitrito presentó un valor significativamente ( $p < 0,05$ ) mayor con respecto a las formulaciones en las que se ha reemplazado en forma parcial o total con extracto de propóleo. Por otra parte, F1 presenta un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) de valor de  $a^*$  con respecto al tiempo de almacenamiento, mientras que las formulaciones con extracto, se mantienen sin variaciones significativas. Además, se observó que el valor de  $a^*$  fue menor en la formulación con mayor concentración de extracto (F4), durante todo el tiempo de ensayo.



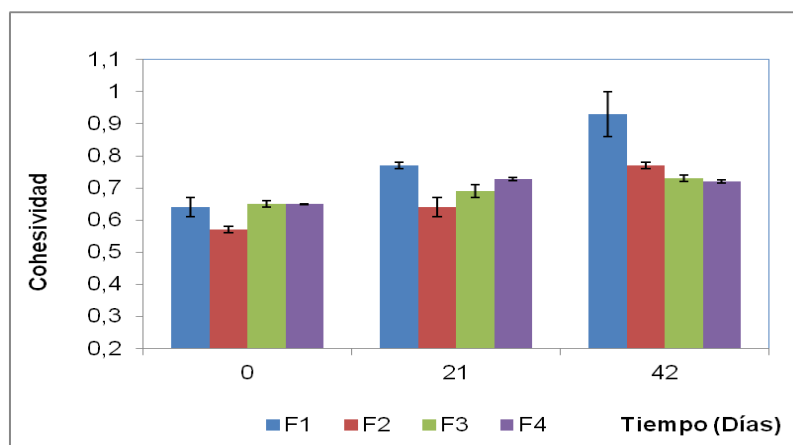
**Figura 7.** Cambios del parámetro  $a^*$  a lo largo del almacenamiento F1- muestra con nitritos, F2- muestra con reemplazo parcial (50/50), F3- Muestra con reemplazo total (100%) y F4 muestra con el doble de concentración (200%)

En cuanto a la adhesividad, (Figura 8) se observa en todas las formulaciones una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) del valor del parámetro a lo largo del tiempo de almacenamiento. La formulación que contiene nitrito (F1), en el tiempo T0 presentó menos adhesividad que las formulaciones con reemplazo parcial (F2) y total (F3). Por otro lado, el valor de adhesividad de las formulaciones que contienen extracto de propóleo, presentaron un valor mayor en el tiempo final de almacenamiento con respecto a la formulación que no tiene nitrito (F1).



**Figura 8.** Cambios del parámetro de textura adhesividad a lo largo del almacenamiento F1- muestra con nitritos, F2- muestra con reemplazo parcial (50/50), F3- Muestra con reemplazo total (100%) y F4 muestra con el doble de concentración (200%).

La cohesividad es una propiedad del grado de deformación de un producto antes de romperse, se define como “Fuerza” de los enlaces internos que mantienen la estructura de un producto. Se observa, al T0, las formulaciones F1, F3 y F4 presentaron valores similares de cohesividad (Figura 9). Por un lado, la formulación F1, presentó un aumento significativo ( $p < 0,05$ ) del valor de cohesividad, mientras las formulaciones en las cuales se reemplazó el nitrito no tuvieron el mismo comportamiento, sin bien el valor cohesividad aumentó, fue en menor grado o se mantuvieron constantes. Esto podría deberse, a que la formulación con extracto de propóleo no tiene el sodio del nitrito, el cual está involucrado en la fuerza iónica, propiedad que es fundamental para retener el agua en las formulaciones.



**Figura 9.** Cambios del parámetro de textura cohesividad a lo largo del almacenamiento F1- muestra con nitritos, F2- muestra con reemplazo parcial (50/50), F3- Muestra con reemplazo total (100%) y F4 muestra con el doble de concentración (200%)

### Análisis microbiológicos

Del análisis de resultados se puede inferir que las formulaciones que contienen EAP presentaron inhibición contra bacterias ácidos lácticos en los distintos puntos analizados, no así contra bacterias coliformes observándose que una menor concentración de EAP tiene un menor efecto conservante. Por otro lado, las formulaciones propuestas presentaron limitada inhibición de crecimiento de Mohos y levaduras, mostrando el menor recuento en la formulación F4 (200%), siendo ésta la que arroja mejores resultados en cuanto al crecimiento microbiano general (Tabla 10).

**Tabla 10.** Resultados microbiológicos para cada formulación en cada punto del tiempo de almacenamiento

Formulación	Determinaciones	T0	T21	T42
F1-control	Mohos y Levaduras	90 UFC/g	30 UFC/g	4,7x10 <sup>3</sup> UFC/g
	Coliformes totales	<10 UFC/g	30 UFC/g	<10 UFC/g
	Bacterias ácido lácticas	5,2x10 <sup>2</sup> UFC/g	<10 UFC/g	<10 UFC/g
F2 Propóleo (50/50)	Mohos y Levaduras	1,4x10 <sup>2</sup> UFC/g	8,0x10 <sup>2</sup> UFC/g	3,0x10 <sup>3</sup> UFC/g
	Coliformes totales	40 UFC/g	10 UFC/g	10x10 <sup>3</sup> UFC/g
	Bacterias ácido lácticas	<10 UFC/g	<10 UFC/g	<10 UFC/g
F3 Propóleo (100%)	Mohos y Levaduras	<10 UFC/g	40 UFC/g	7,5x10 <sup>3</sup> UFC/g
	Coliformes totales	<10 UFC/g	10 UFC/g	5x10 <sup>2</sup> UFC/g
	Bacterias ácido lácticas	<10 UFC/g	<10 UFC/g	<10 UFC/g
F4 Propóleo (200%)	Mohos y Levaduras	30 UFC/g	1,2x10 <sup>2</sup> UFC/g	2,1x10 <sup>3</sup> UFC/g
	Coliformes totales	<10 UFC/g	<10 UFC/g	<10 UFC/g
	Bacterias ácido lácticas	<10 UFC/g	<10 UFC/g	<10 UFC/g

Del análisis de resultados se puede inferir que las formulaciones que contienen EAP presentaron inhibición contra bacterias ácidos lácticos en los distintos puntos analizados, no así contra bacterias coliformes observándose que una menor concentración de EAP tiene un menor efecto conservante. Por otro lado, las formulaciones propuestas presentaron limitada inhibición de crecimiento de mohos y levaduras, mostrando el menor recuento en la formulación F4 (200%), siendo esta la que arroja mejores resultados en cuanto al crecimiento microbiano general (Tabla 10).

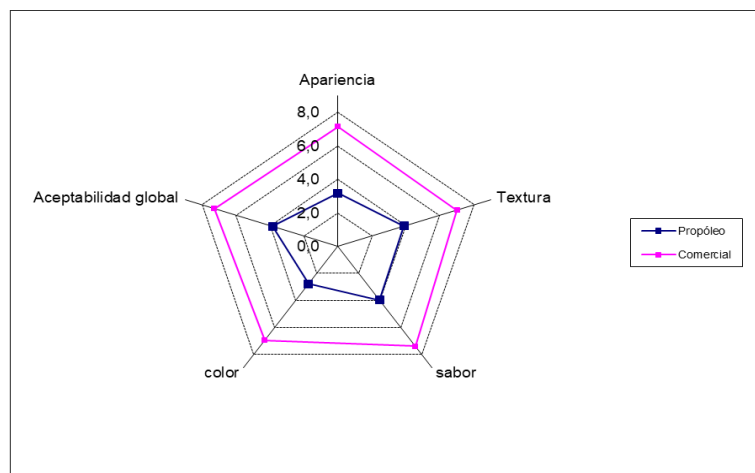
Respecto al período de almacenamiento, podría determinarse en 21 días, descartándose el de 42 días ya que el recuento de Mohos y Levaduras supera los valores recomendables para estos alimentos (103 UFC/g, CAA Art. N° 302).

### Asociación de palabras y percepción del consumidor a aditivos naturales no tradicionales

La encuesta en línea fue respondida por un total de 151 encuestados, siendo el 65,6% de los participantes corresponde al sexo femenino y el 60% del total tienen entre 21 y 40 años. Al proporcionarles una foto del producto, el 43,7% de los encuestados afirmó que lo consumiría y un 41,7% que tal vez lo haría. Luego, respondieron que la principal característica que debería tener el producto para asemejarse a una salchicha tradicional sería: sabor (53%), apariencia (29,1%), textura (13,9%) y color (4%). Además, cuando se les pidió que expresaran en una palabra que impresión o sensación les ge-



(colorante, procesamiento y embutido) se podría acercar a los valores obtenidos para un embutido comercial. Al preguntar cuál de ambas muestras elegiría solo 1 de cada 8 consumidores optaron por el embutido con propóleo.



**Figura 11.** Representación gráfica de las respuestas de los consumidores para cada embutido

## Conclusiones

Se logró obtener una formulación modelada para la elaboración de un embutido cárnico reducido en su contenido de NaCl y sin materia grasa adicionada.

En cuanto al reemplazo de la sal de nitrito, se dedujo que su disminución produjo no solamente alteraciones en el color afectando significativamente el valor del parámetro  $a^*$ , sino que a su vez afectó considerablemente algunos parámetros de textura del alimento estudiado. En relación al efecto del EAP, podemos concluir que posee una buena acción bacteriostática pero no así fungistática implicando la adición de otro conservante ya sea natural o no que ejerza acción sobre dichos microorganismos para alcanzar la vida útil esperada (42 días).

Al evaluar los resultados obtenidos en cuanto a lo sensorial, se puede concluir que el producto elaborado presenta grandes oportunidades de ser aceptado por los consumidores debido a ser un alimento novedoso que presenta curiosidad y buenas propiedades texturales siendo reconocidas por los mismos consumidores.

Se puede concluir que los valores obtenidos indican que se puede producir un embutido cárnico de bajo contenido en sodio, sin grasa añadida y reemplazando el  $\text{NaNO}_2$  por extracto de propóleo como conservante y asemejarse a un producto industrializado.

## Indicadores de producción

Se han presentado trabajos a 3 congresos internacionales, uno nacional y dos jornadas nacionales de estudiantes de Bromatología. A su vez, se ha desarrollado un embutido cárnico saludable. Dentro de este trabajo se están desarrollando 3 trabajos finales de grado

## Bibliografía

- AOAC. (2000). Official methods of analysis. In (17Th ed.). Gaithersburg: Association of Official Analytical Chemists.
- Ben Slima, S., Ktari, N., Trabelsi, I., Triki, M., Feki-Tounsi, M., Moussa, H., . . . Ben Salah, R. (2017). Effect of partial replacement of nitrite with a novel probiotic *Lactobacillus plantarum* TN8 on color, physico-chemical, texture and microbiological properties of beef sausages. *LWT - Food Science and Technology*, 86, 219-226. doi:10.1016/j.lwt.2017.07.058
- Bolger, Z., Brunton, N. P., Lyng, J. G., & Monahan, F. J. (2017). Comminuted meat products—consumption, composition, and approaches to healthier formulations. *Food Reviews International*, 33(2), 143-166. doi:10.1080/87559129.2016.1149861
- Bourne, M. C. (1978). Texture Profile Analysis. *Food Technology*, 32, 62-66.
- Chow, C. K. (2016). Health implications of nitrates and nitrites. *Current Topics in Toxicology*, 12, 85-91. Retrieved from <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-85019604788&partnerID=40&md5=7f1b129c8758db526ab6c1b-1fbba8d30>
- Código Alimentario Argentino, 18284 C.F.R. (1969).
- Derringer, G., & Suich, R. (1980). Simultaneous Optimization of Several Response Variables. *Journal of Quality Technology*, 12(4), 214-219. doi:10.1080/00224065.1980.11980968
- FDA. (1998). Bacteriological Analytical Manual, Revision A, chapter 4. In *BAM Chapter 4: Enumeration of Escherichia coli and the Coliform Bacteria* (8th ed.): US Food and Drugs.
- Fisher, A. (1994.). *Tecnología e higiene de la carne. Tecnología de la producción y elaboración de productos cárnicos*. (e. a. Trad. Escobar J, Trans. E. A. S.A. Ed.). Zaragoza. España. .
- Flores, M. (2015). Sausages and Comminuted Products: Cooked Sausages. In *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 722-727).
- Freixanet, L. (2013). Aditivos e ingredientes en la fabricación de productos cárnicos cocidos de músculo entero.
- Gordon, A., & Barbut, S. (1992). Effect of chloride salts on protein extraction and interfacial protein film formation in meat batters. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 58(2), 227-238. doi:10.1002/jsfa.2740580211
- Horita, C. N., Messias, V. C., Morgano, M. A., Hayakawa, F. M., & Pollonio, M. A. R. (2014). Textural, microstructural and sensory properties of reduced sodium frankfurter sausages containing mechanically deboned poultry meat and blends of chloride salts. *Food Research International*, 66, 29-35. doi:10.1016/j.foodres.2014.09.002
- Horita, C. N., Morgano, M. A., Celeghini, R. M. S., & Pollonio, M. A. R. (2011). Physico-chemical and sensory properties of reduced-fat mortadella prepared with blends of calcium, magnesium and potassium chloride as partial substitutes for sodium chloride. *Meat Science*, 89(4), 426-433. doi:10.1016/j.meatsci.2011.05.010
- Huff-Lonergan, E., & Lonergan, S. M. (2005). Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of postmortem biochemical and structural changes. *Meat Science*, 71(1), 194-204. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2005.04.022>
- Jairath, G., Sharma, D. P., Dabur, R. S., Singh, P. K., & Bishnoi, S. (2017). Standardization of corn starch as a fat replacer in buffalo calf meat sausages and its effect on the quality attributes. *Indian Journal Of Animal Research*, 1-5.



- Knipe, L. (2004). *Use of phosphates in meat products*. Paper presented at the Meat industry research conference., Ohio State University.
- Kumar, Y., Tyagi, S. K., Vishwakarma, R. K., & Kalia, A. (2017). Textural, microstructural, and dynamic rheological properties of low-fat meat emulsion containing aloe gel as potential fat replacer. *International Journal of Food Properties*, 20, S1132-S1144. doi:10.1080/10942912.2017.1336721
- Liu, C., Xiong, Y. L., & Rentfrow, G. K. (2011). Kiwifruit protease extract injection reduces toughness of pork loin muscle induced by freeze-thaw abuse. *LWT - Food Science and Technology*, 44(10), 2026-2031. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2011.05.019>
- Moarefian, M., Barzegar, M., Sattari, M., & Naghdi Badi, H. (2012). Production of functional cooked sausage by Mentha piperita essential oil as a natural antioxidant and antimicrobial material. *Journal of Medicinal Plants*, 11(41), 46-57. Retrieved from <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-84862883338&partnerID=40&md5=3ac20c35a6292247e2c77467975a324c>
- Olmedilla-Alonso, B., Jiménez-Colmenero, F., & Sánchez-Muniz, F. J. (2013). Development and assessment of healthy properties of meat and meat products designed as functional foods. *Meat Science*, 95(4), 919-930. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.03.030>
- OMS. (2013). *Ingesta de sodio en adultos y niños*. Retrieved from
- Reis, A. S. d., Diedrich, C., Moura, C. d., Pereira, D., Almeida, J. d. F., Silva, L. D. d., . . . Carpes, S. T. (2017). Physico-chemical characteristics of microencapsulated propolis co-product extract and its effect on storage stability of burger meat during storage at -15 °C. *LWT - Food Science and Technology*, 76, 306-313. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.05.033>
- Ruusunen, M., & Puolanne, E. (2005). Reducing sodium intake from meat products. *Meat Science*, 70(3), 531-541. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2004.07.016>
- Shan, L. C., De Brún, A., Henschion, M., Li, C., Murrin, C., Wall, P. G., & Monahan, F. J. (2017). Consumer evaluations of processed meat products reformulated to be healthier - A conjoint analysis study. *Meat Science*, 131, 82-89. doi:<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.04.239>
- Totosaus, A., Alfaro-rodriguez, R. H., & Pérez-chabela, M. L. (2004). Fat and sodium chloride reduction in sausages using  $\kappa$ -carrageenan and other salts. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 55(5), 371-380. doi:10.1080/09637480400002990
- Vidal, L., Ares, G., & Giménez, A. (2013). Projective techniques to uncover consumer perception: Application of three methodologies to ready-to-eat salads. *Food Quality and Preference*, 28(1), 1-7. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2012.08.005>
- Whiting, R. C. (1984). Stability and Gel Strength of Frankfurter Batters Made with Reduced NaCl. *Journal of Food Science*, 49(5), 1350-1354. doi:10.1111/j.1365-2621.1984.tb14988.x
- Yim, D. G., Chung, K. Y., Jo, C., & Nam, K. C. (2018). Use of alternative curing salts for processing salamis. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 31(1), 123-128. doi:10.5713/ajas.17.0432
- Yousefi, N., Zeynali, F., & Alizadeh, M. (2018). Optimization of low-fat meat hamburger formulation containing quince seed gum using response surface methodology. *Journal of Food Science and Technology*, 55(2), 598-604. doi:10.1007/s13197-017-2969-x

**PID 9103 Denominación del Proyecto**

Desarrollo de un alimento cárnico embutido saludable con el agregado de extracto acuoso de propóleo (EAP) como conservante

**Director**

Pancrazio, Gastón Ignacio

**Codirectora**

Larrosa, Virginia Judith

**Unidad de Ejecución**

Universidad Nacional de Entre Ríos

**Dependencia**

Facultad de Bromatología

**Cátedra/s, área o disciplina científica**

LICENCIATURA EN BROMATOLOGIA. Cátedra Bromatología I, II y Tecnología de los Alimentos I y II.

**Contacto**

[gaston.pancrazio@uner.edu.ar](mailto:gaston.pancrazio@uner.edu.ar)

**Integrantes del proyecto**

Docentes: Camera, Nancy G.; Correa, Silvana A.; Muchiutti, Gabriela S.; Vallejos, Omar A. Becarios: Acosta, Silvina A.; Giacomuzzi, Nicolás M.

**Fechas de iniciación y de finalización efectivas**

01/02/2019 y 24/12/2022

Aprobación del Informe Final por Resolución C.S. N° 299/23 (01-09-2023)