



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTILÁN

**EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA ADICIÓN DE  
CULTIVOS INICIADORES EN LOS CAMBIOS QUE SUFREN  
LOS LÍPIDOS EN EMBUTIDOS CÁRNICOS MADURADOS  
MEDIANTE CROMATOGRAFÍA DE GASES ACOPLADA A  
ESPECTROMETRÍA DE MASAS**

**T E S I S**  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**INGENIERO EN ALIMENTOS**  
P R E S E N T A:  
**ERNESTO JACOB TEXPA HERNÁNDEZ**

Asesoras: Dra. Adriana Llorente Bousquets  
M. en C. Ma. Olivia Noguez Córdova



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
UNIDAD DE LA ADMINISTRACIÓN ESCOLAR  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN



DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: L. A. ARACELI HERRERA HERNÁNDEZ  
Jefe del Departamento de Exámenes  
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 26 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la Tesis:

Evaluación del efecto de la adición de cultivos iniciadores en  
los cambios que sufren los lípidos en embutidos cárnicos  
madurados mediante Cromatografía de Gases acoplada a  
Espectrometría de Masas

que presenta el pasante: Ernesto Jacob Texpa Hernández

con número de cuenta: 097329327 para obtener el título de :  
Ingeniero en Alimentos

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE  
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 28 de Octubre de 2009.

PRESIDENTE	<u>Dra. Adriana Llorente Bousquets</u>	
VOCAL	<u>IBQ. Saturnino Maya Ramírez</u>	
SECRETARIO	<u>Dra. Carolina Moreno Ramos</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>MC. Ignacio Martínez Trejo</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>IA. Ana María Soto Bautista</u>	

**El presente trabajo forma parte del MACROPROYECTO:**

**“PRODUCTIVIDAD SOSTENIBLE DE LOS HATOS DE CRÍA  
EN PASTOREO”.**

**Proyecto 7.5.4. DESARROLLO DE ALIMENTOS A TRAVÉS DE  
PROCESOS MICROBIANOS.**

**“ELABORACIÓN DE ALIMENTOS FERMENTADOS.  
BIOCONSERVACIÓN DE PRODUCTOS CÁRNICOS”.**

**Facultad de Química, Facultad de Medicina Veterinaria y  
Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM.**

## AGRADECIMIENTOS

A *Dios* por permitirme vivir un día más.

A la *U.N.A.M.* por darme la oportunidad pertenecer a ella y por haberme formado como profesionalista y persona.

A la Dra. *Adriana Lorente Bousquets* por permitirme ser parte de su equipo de trabajo, por su apoyo incondicional durante el desarrollo de este proyecto y la grata experiencia de aprender cada día cosas nuevas.

A la M. C. *Ma. Olivia Noguez Córdova* por todo el apoyo brindado durante mi etapa como estudiante y en la asesoría permanente de este proyecto.

Al equipo de trabajo del laboratorio “7” de Bioconservación de Productos Cárnicos de la UIM FESC C-4; M. A. *Jorge López Pérez*, M. C. *Jorge Rico Pérez*, Dra. *Alma Virginia Lara Sagahon* e I.A. *Aura Alvarado Camacho*, por permitirme aprender de ustedes y por las valiosas aportaciones a este proyecto.

A mis amigos y futuros socios I.A. *Rita Angélica Pulido Sánchez*, I.A. *Brenda Gpe Cristóbal Martínez*, I.A. *Luis Alberto Velasco Pérez*, porque siempre han estado conmigo en las buenas y en las malas, sin ustedes no lo hubiera logrado.

Al personal del Taller de Carnes de la FESC C-4 I.A. *Alicia Pérez Morales*, M.V.Z *Andrés Cardona Lieja*, por permitirme el acceso a las instalaciones, por el apoyo en material, instrumentos y equipos de proceso para el acondicionamiento y procesamiento de las materias primas cárnicas.

A la Sección de Química Orgánica de la FESC C-1 por haberme permitido realizar parte importante de mi experimentación en su laboratorio (Lab-122), a maestros y compañeros especialmente al Dr. *René Miranda Ruvalcaba*, M. C. *Ma. Olivia Noguez Córdova*, M. C. *Joel Martínez*, Dr. *Benjamín Velasco Bejarano* por la asesoría, el apoyo en material, reactivos y equipos para el análisis en CG-EM.

A la I.Q. *Guadalupe Sánchez Reyes* y a *Coni* por brindarme apoyo durante mi experimentación en el laboratorio de Química Orgánica.

A la sección de Ciencia Básica (LCB III) en especial a la I.A. *Sandra Margarita Rueda Enríquez* e I.B.Q. *Saturnino Maya Ramírez* por facilitarme el material de laboratorio y permitirme realizar parte de mi experimentación en su laboratorio.

Al I.A. *Zósimo Guerrero Cancino* por el apoyo en la formulación del producto y porque siempre nos sacó de apuros.

A mis amigos (CowParade) de la FESC C-1 *Jimena, Tamara, Toño, Isaac, Paco-Karla, Marcela y Karina* por hacerme la vida más fácil en la universidad y por la gran amistad que nos une.

A los que no me pueden faltar Q.F.B. *María del Rocío Lara Sánchez, Tania, Tere, Luis (oso), Víctor (pareja), Abril, Carla, Alicia y Lupita IQ* por su sincera amistad.

Al M.V.Z. *Miguel Ángel Gómez Bonachea* por el apoyo en material de laboratorio durante la experimentación en Ciencia Básica.

A las Familias *Guzmán Hernández* y *Trujillo Espinosa* por el apoyo brindado a mí y a mi familia en todos estos años.

A los profesores que integran el jurado de esta Tesis por sus valiosas aportaciones para mejorarla:

I.B.Q. *Saturnino Maya Ramírez*

Dra. *Carolina Moreno Ramos*

M. C. *Ignacio Martínez Trejo*

I.A. *Ana María Soto Bautista*

## DEDICATORIAS

Al Sr. *Ernesto Texpa López* y Sra. *Rosalinda Hernández Martínez* por darme la vida, porque siempre confiaron en mí y porque a pesar de las adversidades han logrado sacar adelante a esta gran familia, Gracias Amados Padres este proyecto es para ustedes.

A mis queridos hermanos *Erika, Tania* y *Ermys* porque no pude haber tenido mejores hermanos que ustedes, por las alegrías y tristezas compartidas, porque sin ustedes la vida no tendría sentido, los amo mucho hermanitos.

A mis hermosos sobrinos *Irving, Erik, Jared* y *Amy* por ser la mayor motivación que puedo tener para seguir adelante.

**CUANDO LA DETERMINACIÓN DE TRIUNFAR ES LO SUFICIENTEMENTE  
FUERTE, EL FRACASO JAMÁS TE ALCANZARÁ.**

**PUEDES LLEGAR TAN LEJOS COMO TE LLEVEN TUS SUEÑOS, SÉ  
PACIENTE CON TODO EL MUNDO PERO SOBRE TODO CONTIGO MISMO.**

# ÍNDICE

	Página
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	3
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	5
<b>ABREVIATURAS</b> .....	7
<b>RESUMEN</b> .....	9
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	10
<b>CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO</b> .....	11
<b>1.1. Factores que influyen en la composición de la carne</b> .....	12
1.1.1. Manejo Antemortem.....	13
1.1.2. Rigor mortis.....	15
1.1.3. Maduración de la carne.....	16
<b>1.2. Carne</b> .....	16
1.2.1. Agua.....	17
1.2.1.1 Actividad de agua (aw).....	17
1.2.2. Proteínas.....	18
1.2.3. Lípidos.....	20
1.2.3.1. Ácidos grasos.....	23
<b>1.3. Microbiología de la carne</b> .....	24
<b>1.4. Deterioro de los lípidos</b> .....	26
1.4.1. Oxidación de las grasas.....	26
1.4.2. Lipólisis.....	27
1.4.3. Autooxidación.....	28
1.4.4. Termooxidación.....	29
<b>1.5. El papel de los lípidos como precursores de aroma</b> .....	29
<b>1.6. Transesterificación de los ácidos grasos</b> .....	30
<b>1.7. Técnicas para evaluar los cambios químicos de las grasas</b> .....	31
1.7.1. Cromatografía de gases.....	32
1.7.2. Espectrometría de masas.....	33
1.7.3. Cromatografía de gases acoplada a Espectrometría de masas.....	35
<b>1.8. Embutidos</b> .....	37
1.8.1. Clasificación de embutidos.....	37
1.8.1.1. Productos cárnicos madurados.....	38
1.8.2. Salami.....	39
1.8.2.1. Materias primas para la elaboración de embutidos.....	39
1.8.2.2. Fermentación cárnica.....	41
1.8.3. Maduración.....	41
<b>1.9. Bioconservación</b> .....	42
1.9.1. Bacterias ácido lácticas.....	43
1.9.1.1. Acción conservadora.....	44
1.9.2. <i>Pediococcus acidilactici</i> .....	44
1.9.3. <i>Lactobacillus plantarum</i> .....	45
<b>Justificación del trabajo</b> .....	46
<b>Objetivos</b> .....	47
<b>Hipótesis</b> .....	47

<b>CAPÍTULO 2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL</b> .....	48
<b>2.1. Preparación del inóculo</b> .....	51
<b>2.2. Elaboración de modelos experimentales (salamis)</b> .....	52
2.2.1. Acondicionamiento de las materias primas.....	54
<b>2.3. Análisis realizados</b> .....	60
2.3.1. Medición de la actividad de agua ( $a_w$ ).....	60
2.3.1.1. Procedimiento.....	61
2.3.2. Caracterización de lípidos mediante CG-EM.....	61
2.3.2.1. Extracción de las grasas (Método de Soxhlet).....	61
2.3.2.2. Transesterificación de los ácidos grasos.....	62
2.3.2.3. Identificación y cuantificación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos mediante Cromatografía de gases acoplada a Espectrometría de masas (CG-EM)...	64
2.3.3. Análisis Estadístico.....	66
 <b>CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	 68
3.1. Actividad de agua ( $a_w$ ).....	69
3.2. Identificación y cuantificación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos de los salamis.....	77
 <b>CONCLUSIONES</b> .....	 94
 <b>LITERATURA CITADA</b> .....	 97
 <b>Anexos</b> .....	 102

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Músculo esquelético .....	18
Figura 2. Corte transversal del músculo esquelético .....	19
Figura 3. Haz muscular (a), fibra muscular (b), miofibrillas (c) .....	20
Figura 4. a) Molécula de glicerol, b) Triacilglicérido .....	23
Figura 5. general de un éster .....	30
Figura 6. Reacción general de la formación de un éster .....	30
Figura 7. Cromatógrafo de gases .....	32
Figura 8. Cromatograma de una muestra de ésteres metílicos de ácidos grasos de salami adicionado con <i>Pediococcus acidilactici</i> .....	33
Figura 9. Cámara de ionización del espectrómetro de masas .....	34
Figura 10. Espectro de masas del éster metílico del ác. Mirístico de salami adicionado con <i>Pediococcus acidilactici</i> . .....	35
Figura 11. Diagrama de un sistema típico de CG-EM .....	36
Figura 12. Cuadro Metodológico .....	49
Figura 13. Diagrama del proceso de elaboración de salamis .....	50
Figura 14. Incubación de los medios de cultivo .....	51
Figura 15. Centrifugación de los medios de cultivo.....	51
Figura 16. Separación de los sobrenadantes .....	52
Figura 17. Carne de res (CRCG) .....	53
Figura 18. Carne de res (CRCP) .....	53
Figura 19. Carne de cerdo... ..	53
Figura 20. Lardo.....	53
Figura 21. Corte de las carnes .....	54
Figura 22. Carne empacada al vacío .....	55
Figura 23. Cutter para el picado de las carnes .....	56
Figura 24. Incorporación de las carnes ... ..	56
Figura 25. Adición de los aditivos.....	56
Figura 26. Pasta cárnica .....	56
Figura 27. Adición del cultivo iniciador .....	56
Figura 28. Tripas para embutir .....	57
Figura 29. Embutidora Hollymatic .....	58
Figura 30. Embutido de la pasta en las tripas .....	57
Figura 31. Amarre de los salamis .....	58
Figura 32. Colgado de los salamis durante 24 h a temperatura ambiente (25°C) .....	58
Figura 33. Salamis en refrigerador comercial .....	60
Figura 34. Salamis en cámara climática .....	60
Figura 35. Aparato de medición Pawkit .....	60
Figura 36. Sistema de extracción de la grasa .....	62
Figura 37. Separación de la mezcla ( <i>n-hexano-grasa</i> ) de los salamis en rotavapor .....	62
Figura 38. Reacción de transesterificación .....	62
Figura 39. Transesterificación .....	63
Figura 40. Ésteres a pH inicial .....	63
Figura 41. Ésteres a pH final .....	63
Figura 42. Separación de la fase orgánica .....	64
Figura 43. Obtención de los ésteres de ácidos grasos.....	64
Figura 44. Dilución de los ésteres en <i>n-hexano</i> .....	64
Figura 45. Inyección en la columna del CG-EM .....	64

Figura 46. CG-EM .....	65
Figura 47. Efecto del tiempo en los cambios en $a_w$ de salamis (lote 1) RL y RLC sin inóculo, y adicionados de <i>L. plantarum</i> o <i>P. acidilactici</i> .....	70
Figura 48. Efecto de la interacción entre el Tiempo-Formulación en los cambios en $a_w$ de salamis (lote 1) RL y RLC sin inóculo, y adicionados de <i>L. plantarum</i> o <i>P. acidilactici</i> .....	70
Figura 49. Efecto del Tipo de Carne en los cambios en $a_w$ de salamis CRFG (lote 2) comparando con CRCG (lote1) adicionados o no de <i>P. acidilactici</i> .....	71
Figura 50. Efecto del Tiempo en los cambios en $a_w$ de salamis CRFG (lote 2) comparando con CRCG (lote1) adicionados o no de <i>P. acidilactici</i> .....	72
Figura 51. Efecto de la interacción entre el Tiempo-Tipo de carne en los cambios en $a_w$ de salamis CRFG (lote 2) comparando con CRCG (lote1) adicionados o no de <i>P.</i> <i>acidilactici</i> .....	72
Figura 52. Efecto del Tipo de Carne en los cambios en $a_w$ de salamis (lote 3) adicionados o no de <i>P. acidilactici</i> .....	74
Figura 53. Efecto del Tiempo en los cambios en $a_w$ de salamis (lote 3) adicionados o no de <i>P. acidilactici</i> .....	74
Figura 54. Efecto del Tipo de Almacenamiento en los cambios en $a_w$ de salamis (lote 3) adicionados o no de <i>P. acidilactici</i> .....	75
Figura 55. Efecto de la interacción entre el Tipo de Almacenamiento y el .....	75
Figura 56. Efecto del Tipo de Carne en los cambios en $a_w$ de salamis (lote 4) adicionados o no de <i>P. acidilactici</i> .....	76
Figura 57. Efecto del Tipo de Carne en la concentración del ác. palmítico de salamis (lote 3) adicionados o no de <i>P. acidilactici</i> .....	84
Figura 58. Efecto del Tipo de Almacenamiento en la concentración del ác. palmítico de salamis (lote 3) adicionados o no de <i>P. acidilactici</i> .....	85
Figura 59. Efecto de la interacción entre las condiciones de almacenamiento y el Tipo de Carne en la concentración del ác. palmítico de salamis (lote 3) adicionados o no de <i>P. acidilactici</i> .....	85
Figura 60. Efecto del Tiempo en la concentración del ác. 5-octadecenoico de salamis (lote 3) adicionados o no de <i>P. acidilactici</i> .....	87
Figura 61. Efecto de la interacción entre el Tiempo de maduración y el Tipo de Carne del ác. 5-octadecenoico de salamis (lote 3) adicionados o no de <i>P. acidilactici</i> .....	87
Figura 62. Efecto de la interacción entre el Tipo de Almacenamiento y el Tipo de Carne del ác. 5-octadecenoico de salamis (lote 3) adicionados o no de <i>P. acidilactici</i> .....	88
Figura 63. Efecto del Tiempo en la concentración del ác. esteárico de salamis (lote 3) adicionados o no de <i>P. acidilactici</i> .....	89
Figura 64. Cromatograma de Salami <i>c/Pediococcus acidilactici</i> día 1 .....	112
Figura 65. Cromatograma de Salami <i>s/Pediococcus acidilactici</i> día 1 .....	112
Figura 66. Cromatograma de Salami <i>c/Pediococcus acidilactici</i> día 5 .....	113
Figura 67. Cromatograma de Salami <i>s/Pediococcus acidilactici</i> día 5 .....	113
Figura 68. Cromatograma de Salami <i>c/Pediococcus acidilactici</i> día 10 .....	114
Figura 69. Cromatograma de Salami <i>s/Pediococcus acidilactici</i> día 10 .....	114
Figura 70. Espectro de masas del Ester metílico del Ác. Mirístico .....	116
Figura 71. Espectro de masas del Ester metílico del Ác. Palmítico .....	117
Figura 72. Espectro de masas del Ester metílico del Ác. 5-octadecenoico .....	118
Figura 73. Espectro de masas del Ester metílico del Ác. Esteárico .....	119

## ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Composición química aproximada del músculo esquelético.....	17
Tabla 2. Composición de ácidos grasos (g/100 g de ácido graso) de tejido adiposo y músculo ( <i>longissimus</i> ) de cortes de lomo de cerdo y res .....	21
Tabla 3. Ácidos grasos saturados .....	23
Tabla 4. Ácidos grasos insaturados .....	24
Tabla 5. Microorganismos patógenos presentes en la carne y que suponen un riesgo para el hombre .....	25
Tabla 6. Algunas características de intoxicación bacteriana por carne .....	25
Tabla 7. Factores endógenos y exógenos que provocan deterioro en las grasas de la carne .....	26
Tabla 8. Formulaciones de los salamis .....	55
Tabla 9. Experimento 1. Diseño Factorial 2 <sup>2</sup> *3.....	66
Tabla 10. Experimento 2. Diseño Factorial 2 <sup>2</sup> *3.....	67
Tabla 11. Experimento 3. Diseño Factorial 2 <sup>3</sup> *3.....	67
Tabla 12. Experimento 4. Diseño Factorial 2 <sup>2</sup> *3.....	67
Tabla 13. Prueba de significancia para la a <sub>w</sub> del Experimento 1 .....	71
Tabla 14. Prueba de significancia para la a <sub>w</sub> del Experimento 2 .....	73
Tabla 15. Prueba de significancia para la a <sub>w</sub> del Experimento 3 .....	76
Tabla 16. Prueba de significancia para la a <sub>w</sub> del Experimento 4 .....	77
Tabla 17. Ejemplo de la hoja de excel empleada para la cuantificación de los AG de salamis .....	79
Tabla 18. Identificación de los esteres metílicos de AG en salamis.....	80
Tabla 19. Prueba de significancia para el Ác. Mirístico del Experimento 1 .....	81
Tabla 20. Prueba de significancia para el Ác. Palmítico del Experimento 1 .....	82
Tabla 21. Prueba de significancia para el Ác. 5-octadecenoico del Experimento 1...	82
Tabla 22. Prueba de significancia para el Ác. Esteárico del Experimento 1 .....	82
Tabla 23. Prueba de significancia para el Ác. Mirístico del Experimento 2 .....	83
Tabla 24. Prueba de significancia para el Ác. Palmítico del Experimento 2 .....	83
Tabla 25. Prueba de significancia para el Ác. 5-octadecenoico del Experimento 2...	83
Tabla 26. Prueba de significancia para el Ác. Esteárico del Experimento 2 .....	83
Tabla 27. Prueba de significancia para el Ác. Mirístico del Experimento 3 .....	84
Tabla 28. Prueba de significancia para el Ác. Palmítico del Experimento 3 .....	86
Tabla 29. Prueba de significancia para el Ác. 5-octadecenoico del Experimento 3...	89
Tabla 30. Prueba de significancia para el Ác. Esteárico del Experimento 3 .....	90
Tabla 31. Prueba de significancia para el Ác. Mirístico del Experimento 4 .....	90
Tabla 32. Prueba de significancia para el Ác. Palmítico del Experimento 4 .....	91
Tabla 33. Prueba de significancia para el Ác. 5-octadecenoico del Experimento 4...	91
Tabla 34. Prueba de significancia para el Ác. Esteárico del Experimento 4 .....	91
Tabla 35. Datos de a <sub>w</sub> de los salamis (lote 1) adicionados o no de cultivos iniciadores ( <i>P. acidilactici</i> y <i>L. plantarum</i> .) .....	103
Tabla 36. Datos de a <sub>w</sub> de los salamis (lote 2) adicionados o no de cultivo iniciador ( <i>Pediococcus acidilactici</i> ) .....	103
Tabla 37. Datos de a <sub>w</sub> de los salamis (lote 3) adicionados o no de cultivo iniciador ( <i>Pediococcus acidilactici</i> ) .....	103
Tabla 38. Datos de a <sub>w</sub> de los salamis (lote 4) adicionados o no de cultivo iniciador ( <i>Pediococcus acidilactici</i> ) .....	103

Tabla 39. Concentración de ácidos grasos (%) de salamis (lote 1) durante el periodo de fermentación-maduración adicionados o no de cultivos iniciadores ( <i>P. acidilactici</i> y <i>L. plantarum</i> ) .....	105
Tabla 40. Concentración de ácidos grasos (%) de salamis (lote 2) durante el periodo de fermentación-maduración adicionados o no de cultivo iniciador ( <i>Pediococcus acidilactici</i> ) .....	106
Tabla 41. Concentración de ácidos grasos (%) de salamis (lote 3) durante el periodo de fermentación-maduración adicionados o no de cultivo iniciador ( <i>Pediococcus acidilactici</i> ) .....	107
Tabla 42. Concentración de ácidos grasos (%) de salamis (lote 4) durante el periodo de fermentación-maduración adicionados o no de cultivo iniciador ( <i>Pediococcus acidilactici</i> ) .....	107
Tabla 43. Concentración de AGS, AGI y AG totales (%) de salamis (lote 1) durante el periodo de fermentación-maduración adicionados o no de cultivos iniciadores de ( <i>P. acidilactici</i> y <i>L. plantarum</i> ) .....	108
Tabla 44. Concentración de AGS, AGI y AG totales (%) de salamis (lote 2) durante el periodo de fermentación-maduración adicionados o no de cultivo iniciador ( <i>P. acidilactici</i> ) .....	109
Tabla 45. Concentración de AGS, AGI y AG totales (%) de salamis (lote 3) durante el periodo de fermentación-maduración adicionados o no de cultivo iniciador ( <i>P. acidilactici</i> ) .....	109
Tabla 46. Concentración de AGS, AGI y AG totales (%) de salamis (lote 4) durante el periodo de fermentación-maduración adicionados o no de cultivo iniciador ( <i>P. acidilactici</i> ) .....	110

## ABREVIATURAS

BAL	Bacterias ácido lácticas
CG	Cromatografía de gases
EM	Espectrometría de masas
CG-EM	Cromatografía de Gases acoplada a Espectrometría de Masas a <sub>w</sub>
Actividad de agua	
NOM	Norma Oficial Mexicana
N	Normal
g	Gramos
Kg	Kilo gramos
%	Porcentaje
Ω	Omega
AGS	Ácidos grasos saturados
AGMI	Ácidos grasos monoinsaturados
AGPI	Ácidos grasos poliinsaturados
14:0	Ácido mirístico
16:0	Ácido palmítico
16:1cis	Ácido palmitoleico
18:0	Ácido esteárico
18:1cis-9	Ácido oleico
18:2Ω-6	Ácido linoleico
18:3Ω-3	Ácido linolénico
20:4Ω-6	Ácido araquidónico
20:5Ω-3	Ácido eicosapentanoico
°C	Grados centígrados
ATP	Adenosin trifosfato
DFD	Dark Firm Dry
PSE	Pale Soft Exudative
pH	Potencial de hidrogeniones
ATPasa	Adenosin trifosfatasa
<i>et al.</i>	Colaboradores
R <sup>·</sup>	Radical libre de ácido graso
RH	Sitio de oxidación,
ROO <sup>·</sup>	Radical libre de peróxido
ROOH	Hidroperóxido
MeOH	Metanol
MeONa	Metóxido de sodio
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ácido sulfúrico
NaOH	Hidróxido de sodio
TBA	Ácido tiobarbitúrico
M <sup>+</sup>	Ion molecular
<i>m/z</i>	Masa-carga
min	Minutos
mm	Milímetros
cm	Centímetros
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
NO <sub>3</sub>	Nitrato
NO <sub>2</sub>	Nitrito

µm	Micrómetros
ml	Mililitros
Mod	Modelo
rpm	Revoluciones por minuto
CRCG	Carne de Res Congelada de bovinos alimentados con granos
CRCP	Carne de Res Congelada de bovinos alimentados en pastoreo
CRFG	Carne de Res Fresca de bovinos alimentados con granos
RL	Res-Lardo
RLC	Res-Lardo-Cerdo
RLs	Res-Lardo-sin inóculo
RL-Lb	Res-Lardo-con <i>Lactobacillus plantarum</i>
RL-Pa	Res-Lardo-con <i>Pediococcus acidilactici</i>
RLCs	Res-Lardo-Cerdo- sin inóculo
RLC-Lb	Res-Lardo-Cerdo con <i>Lactobacillus plantarum</i>
RLC-Pa	Res-Lardo-Cerdo con <i>Pediococcus acidilactici</i>
RLC F	Res fresca-Lardo-Cerdo
RLC F Pa	Res fresca-Lardo-Cerdo con <i>Pediococcus acidilactici</i>
RLC F r	Res fresca-Lardo-Cerdo en refrigerador comercial
RLC F Pa r	Res fresca-Lardo-Cerdo con <i>Pediococcus acidilactici</i> en refrigerador comercial
RLC F c	Res fresca-Lardo-Cerdo en cámara climática
RLC F Pa c	Res fresca-Lardo-Cerdo con <i>Pediococcus acidilactici</i> en cámara climática
RLC C	Res congelada-Lardo-Cerdo
RLC C Pa	Res congelada-Lardo-Cerdo con <i>Pediococcus acidilactici</i>
RLC C c	Res congelada-Lardo-Cerdo en cámara climática
RLC C Pa c	Res congelada-Lardo-Cerdo con <i>Pediococcus acidilactici</i> en cámara climática
TIF	Tipo inspección federal
h	Horas
UFC/ml	Unidades formadoras de colonias por mililitro
HR	Humedad relativa
AOAC	Association of Official Analytical Chemist
NaCl	Cloruro de sodio
AcOEt	Acetato de etilo
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Sulfato de sodio anhidro
T1	Temperatura 1 de la columna
T2	Temperatura 2 de la columna
ml/min	Mililitros por minuto
Ác.	Ácido

## RESUMEN

Se elaboraron embutidos madurados tipo salami con dos formulaciones (RL y RLC) a base de carne congelada de los cuartos delanteros de bovinos alimentados con granos y/o alimentados en pastoreo (CRCG y CRCP), esta carne proviene de un rancho experimental ubicado en el municipio de Martínez de la Torre en el Estado de Veracruz y la carne fresca (CRFG), proveniente de un sistema de producción en Aguascalientes.

El lardo y la carne de cerdo provienen del rastro TIF No 94 (San Lorenzo) ubicado en el Municipio de Cuautitlán Izcalli. Los salamis fueron elaborados con y sin la adición de cultivos iniciadores (*L. plantarum* y *P. acidilactici*) a los cuales se les midió su  $a_w$  además de evaluar mediante CG-EM la presencia y concentración de ácidos grasos.

Se realizó la extracción de grasa por soxhlet y mediante reacciones de transesterificación de los ácidos grasos, se obtuvieron los esteres de cada uno y posteriormente fue evaluada la concentración de los AG mediante CG-EM.

Se detectaron y fueron cuantificados los ácidos Mirístico, Palmítico, Esteárico (AGS) y el ácido 5-octadecenoico (AGI), éste último en mayor concentración con los AGS.

Factores como el Tipo de Carne empleada para la elaboración de los lotes experimentales, el Tiempo de maduración (días), las Condiciones de Almacenamiento (Refrigerador comercial y/o Cámara Climática) tuvieron algunos efectos en los cambios en  $a_w$  y la concentración de AG de los salamis.

Los análisis estadísticos demuestran que para los lotes 1-4 los factores antes mencionados tienen efectos significativos en los cambios en  $a_w$ . Sin embargo no se pudo comprobar que la adición o no de cultivos iniciadores tuvieran efecto alguno en dichos cambios.

Se encontraron efectos significativos del Tipo de Carne empleada para la elaboración de los salamis y el Tipo de Almacenamiento en la concentración de los ácidos palmítico, 5-octadecenoico y esteárico de los salamis del lote 3. Sin embargo no se pudo demostrar el efecto de los cultivos iniciadores en los cambios que sufren los AG de los salamis.

## INTRODUCCIÓN

La industria cárnica busca mantener la mejora continua en la aplicación de tecnologías de producción y conservación de sus productos, debido a las exigencias de los consumidores y a la competencia en el mercado. El uso de bajas temperaturas, altas presiones hidrostáticas, uso de nuevos materiales de empaque, fermentación y bioconservación, son solo algunas de las alternativas que se tienen para la conservación de carne y productos cárnicos.

En el desarrollo de alimentos a través de procesos microbianos (elaboración de alimentos fermentados), se aplican procesos de bioconservación que incluye el uso de bacterias acidolácticas (BAL), responsables del desarrollo de mejores características sensoriales y calidad sanitaria de los productos cárnicos. Dentro de las BAL se incluyen especies de los géneros *Pediococcus* y *Lactobacillus* las cuales juegan un rol esencial como cultivos iniciadores en la elaboración de una amplia variedad de productos cárnicos madurados.

Durante la fermentación-maduración de embutidos, los cultivos presentan actividad metabólica y como resultado se producen diferentes compuestos responsables de los aromas característicos de estos productos. Técnicas analíticas como la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (CG-EM) se emplean para la separación e identificación de compuestos orgánicos y es una herramienta útil para dar seguimiento al cambio que sufren los lípidos en estos productos.

# **CAPÍTULO 1. MARCO TEÓRICO**

## 1.1. Factores que influyen en la composición de la carne

La composición de los músculos depende de la función de los mismos. En general tienen mayor proporción de agua los músculos que desarrollan más actividad. De igual forma hay factores como la edad, el sexo, la raza y el tipo de alimentación que influyen directamente en la composición de la carne (Niinivaara, 1973; Chacón, 2004).

Por ejemplo, la distribución de colágeno en los músculos no es uniforme, ya que la cantidad presente guarda cierta relación con su actividad física; así la musculatura de las extremidades contiene más colágeno que la del dorso y, en consecuencia, la carne de la primera es más dura que la última (Forrest, 1979).

La composición de la carne de bovino ofrece pocas diferencias en lo que respecta a las partes privadas de grasa. En cambio el contenido graso de la carne de cerdo está sometido a oscilaciones considerables.

La presencia más o menos abundante de tejido adiposo depende de un gran número de factores, como son, la especie del animal, la región anatómica, la edad, el sexo, la raza y el tipo de alimentación (Niinivaara, 1973).

- *La edad.* La carne de animales jóvenes (dos años como máximo) contiene en general más agua y menos grasa, proteínas y minerales que la de los animales adultos. Los bovinos jóvenes son más propensos al engrasamiento intermuscular que al depósito de grasa subcutánea e intramuscular. Esta es también la razón de que la carne de los animales jóvenes no presente marmorización. Con la edad aumenta la deposición de grasa y el progresivo aumento de color amarillo de la misma (Niinivaara, 1973; Begoña, 1999).
- *El sexo.* Las hembras tienden más que los machos a la formación de tejido adiposo. Por eso la carne de las hembras suele contener más grasa que la de los machos.
- *La raza.* Esta influye en la composición de la carne, sobre todo, en lo que respecta al contenido graso y a la grasa responsable de la marmorización. La carne de las razas bovinas especializadas en esa producción muestra generalmente mayor cantidad de grasa intramuscular, en tanto que las razas de aptitud lechera tienen mayor predominio de grasa subcutánea e intermuscular (Niinivaara, 1973).
- *La alimentación.* Una alimentación con un nivel energético alto provoca un crecimiento y engrasamiento rápido en el animal disminuyendo el hueso. El estado de

engrasamiento aumenta con una alimentación a base de granos y suplementos alimenticios (concentrados). Las dietas con alto nivel de energía producen una carne con mayor marmoleo y más tierna, frente a las dietas con un menor contenido energético (Begoña, 1999).

La importancia relativa de los distintos depósitos de lípidos intramusculares depende del grado de engrasamiento que a su vez es variable en función del sistema de alimentación el cual puede ser inicialmente con hierba y finalizados con heno y concentrado, engordados solamente a base de heno y concentrado, engordados sobre pastos exclusivamente o en combinación con concentrados, engordados exclusivamente a base de concentrado y paja de cereales (Martínez, 2007).

### **1.1.1. Manejo *antemortem***

Cuando los animales se desplazan a lugares que no les son familiares, suelen excitarse, fatigarse y sufrir de calor o de frío. Todas estas condiciones son consecuencia de las respuestas del organismo animal frente a estímulos originados por diversos factores del nuevo medio ambiente. Cuando el animal está expuesto a condiciones adversas sufre cambios en su ritmo cardiaco, velocidad respiratoria, temperatura corporal y presión sanguínea.

Bajo determinadas condiciones, muchos elementos ambientales son estresantes para los animales. El calor, la humedad, la luz, ruido y espacio disponible pueden originar problemas al animal.

*Temperatura.* Cuando las temperaturas empiezan a ser más frías que aquellas a las que los animales están aclimatados, éstos comienzan a utilizar procesos adicionales para producir y conservar el calor corporal. Los temblores pueden reducir los niveles de glucógeno muscular, ya que este tipo de contracción se acompaña de un mayor flujo sanguíneo muscular sin dar lugar al aumento o acumulo del ácido láctico. Por otro lado las temperaturas excesivamente altas exigen una gran actividad de los mecanismos de enfriamiento del animal. Muchas veces, la temperatura muscular se elevará porque el organismo animal es incapaz de liberarse del calor con la rapidez suficiente. Los animales que no pueden eliminar el calor corporal desarrollan temperaturas musculares de hasta 42-43°C. Temperaturas tan altas aceleran las reacciones metabólicas, tales como la hidrólisis

del ATP y la glucólisis, que a veces tienen lugar durante el stress y pueden llevar a la muerte del animal.

*Humedad.* En general, los altos niveles de humedad aumentan el malestar de los animales expuestos a temperaturas frías o calientes durante periodos cortos de tiempo. Cuando los animales necesitan enfriarse, la humedad del aire hace más difícil la pérdida de calor por la respiración. En ambientes fríos la humedad del aire aumenta la velocidad de la pérdida calórica directa del organismo.

*Luz, espacio y ruido.* Estos factores son singularmente importantes durante la comercialización del ganado. Algunos animales se atemorizan en ambientes que les son extraños mientras que otros se vuelven hostiles. Las diferencias se asocian probablemente a muchos factores animales, tales como equilibrio hormonal, fatiga y experiencia de manejo previa.

Cualquiera de los factores ambientales antes mencionados puede originar cambios en el metabolismo muscular. A su vez estos cambios son los responsables de las diferencias observadas en las propiedades últimas de la carne (Forrest, 1979).

Un animal que sufra de maltrato antes del sacrificio es muy probable que sea presa del estrés e hiperactividad, iniciando como consecuencia la producción en vida de ácido láctico que posteriormente afectará la calidad de la carne. Así mismo si un animal no experimenta un ayuno de 24 horas, antes de la matanza es muy probable que al ser sacrificado posea mucha energía en forma de glucógeno en el músculo. Por ello el animal tendrá mucha fuente de glucógeno para transformarlo en ácido láctico durante el *rigor mortis* generando una mayor contracción del músculo y una acidez muy baja. Ambos resultados no son deseables en la carne. La intención del ayuno es reducir el volumen del contenido gastrointestinal para evitar el posible riesgo de contaminación de la canal durante la evisceración (Chacón, 2004; Grandin, 1998).

Gran parte del estrés sufrido durante el transporte y la manipulación se origina durante las operaciones de carga y descarga pues los dispositivos de contención son muy drásticos y con demasiado ruido. La mayor parte de las pérdidas por muerte y la mayoría de los traumas son durante el transporte; camiones indebidamente ventilados o condiciones climáticas calurosas causan molestias enormes a los animales (Lawrie, 1998; Forrest, 1979).

Las implicaciones directas en la calidad de un manejo pobre *antemortem* son en dos sentidos. La carne oscura, firme y seca ó Dark Firm Dry (DFD), este defecto en la carne usualmente en la de res resulta de animales estresados y exhaustos con mínimas reservas de glucógeno. Típicamente tiene un valor final de pH menor a 5.9 y es de apariencia oscura y con textura seca, se deteriora rápidamente con una decoloración verdosa acompañada de olores desagradables. El defecto de la carne pálida, suave y exudativa ó Pale Soft Exudative (PSE) comúnmente se presenta en cerdos estresados que tienen reservas significativamente altas de glucógeno, la carne se presenta pálida y de textura suave con grandes cantidades de agua exudada. En el cerdo la incidencia de carne PSE está genéticamente ligada a su especie (Llorente, 1997).

### **1.1.2. Rigor Mortis**

Inmediatamente después de la muerte, el músculo se encuentra en reposo, manteniendo el consiguiente estado de tensión (tono muscular). En este estado pueden aparecer en los músculos contracciones espontáneas, pero que normalmente se limitan a pequeñas porciones del músculo (convulsión muscular local). Los procesos bioquímicos del músculo tras el sacrificio están marcados por el proceso de degradación y resíntesis del ATP (Prandl, 1994).

La contracción muscular exige un consumo adicional de energía además de la normalmente gastada por el músculo en reposo. Esta energía deriva del ATP en una acción catalizada por la enzima miosin-ATPasa. El ATP continúa proporcionando energía durante un periodo de tiempo para las funciones musculares (contracción, relajación). Cuando el músculo se contrae rápidamente, su aporte de oxígeno no es suficiente para soportar la resíntesis de ATP mediante metabolismo aeróbico. Bajo estas condiciones de falta de oxígeno el metabolismo anaeróbico puede proporcionar energía durante un corto tiempo.

La glucosa se almacena en el músculo en forma de glucógeno el cual se fragmenta a unidades glucosa-1-fosfato para posteriormente llevarse a cabo la glucólisis formando tres moléculas de ATP de forma que el metabolismo Anaeróbico pueda proporcionar energía para la contracción muscular. La cantidad de energía disponible es limitada. La acumulación de ácido láctico (producto de la degradación de glucógeno) en el músculo baja su pH y cuando éste alcanza valores menores de 6.0-6.5 se presenta una rápida fatiga

y el músculo no puede contraerse debido a la falta de energía y a la presencia de un exceso de acidez (Forrest, 1979).

A consecuencia del agotamiento de ATP producido por la vía anaeróbica el músculo se endurece notablemente, pierde su flexibilidad y elasticidad y su extensibilidad se reduce hasta alcanzar solamente en un 5-10% por encima de su longitud normal. De esta forma el músculo llega a un estado que se denomina *rigor mortis* y que se alcanza entre las 10 y 24 horas posteriores a la muerte del animal (Chacón, 2004; Prandl, 1994).

### **1.1.3. Maduración de la carne**

Una vez completado el *rigor mortis*, se inician cambios en la carne que tienden a hacer que la misma se vuelva más suave, a la vez que se mejora el sabor y el aroma. Además, el aspecto de la carne cambia, aparece un matiz marrón-rojizo y el color se aclara (Chacón, 2004).

Para una maduración correcta es importante que exista una adecuada acidificación de la carne con valores de pH alrededor de 5.4-5.8. Valores finales elevados de pH pueden conducir a una alteración bacteriana.

La maduración de la carne tiene lugar, normalmente, durante el almacenamiento de las canales ya sean medias canales o por cuartos, aunque también pueden madurarse piezas individuales de carne, en la mayoría de los casos envasadas al vacío. En general, la maduración es llevada a cabo a una temperatura entre -1 y +2 °C (Prandl, 1994).

El proceso de maduración se debe a la acción de sistemas enzimáticos endógenos los cuales se encuentran relacionados con la ruptura de las proteínas miofibrilares responsables de la estructura muscular. A diferencia de las proteínas miofibrilares, el tejido conectivo no es significativamente fragmentado y difícilmente cambia durante el proceso de maduración (Chacón, 2004).

## **1.2. Carne**

De acuerdo con la NOM-009-Z00-1994 la carne es la estructura compuesta por fibra muscular estriada, acompañada o no de tejido conjuntivo elástico, grasa, fibras nerviosas, vasos linfáticos y sanguíneos, de las especies animales autorizadas para el consumo

humano. El valor nutritivo de la carne se debe a sus proteínas, grasas, carbohidratos, vitaminas y minerales. Aunque la carne proporciona calorías a partir de las proteínas, de las grasas y las limitadas cantidades de carbohidratos que posee, su contribución principal a la dieta deriva de la cantidad y calidad de sus proteínas (Tabla 1) Los tres componentes principales de la carne son el agua, las proteínas y los lípidos. (Forrest, 1979).

**Tabla 1. Composición química aproximada del músculo esquelético de mamíferos**

Compuesto	%
Agua	75
Proteína	18.5
Lípidos	3.0
Sustancias Nitrogenadas no proteicas	1.5
Carbohidratos	1.0
Minerales	1.0
Total	100.0

**Fuente: Forrest, 1979.**

### **1.2.1. Agua**

El agua es el más abundante de dichos componentes constituyendo aproximadamente el 70% (aunque puede variar de un 60 a 80 %). El agua sirve de medio de transporte de nutrientes, metabolitos, hormonas y productos de desecho a través del cuerpo (Olson, 1991; Forrest, 1979). Las reacciones químicas, enzimáticas y microbiológicas, dependen del agua contenida en los alimentos y son las principales causas de deterioro de un producto.

#### **1.2.1.1. Actividad de agua ( $a_w$ )**

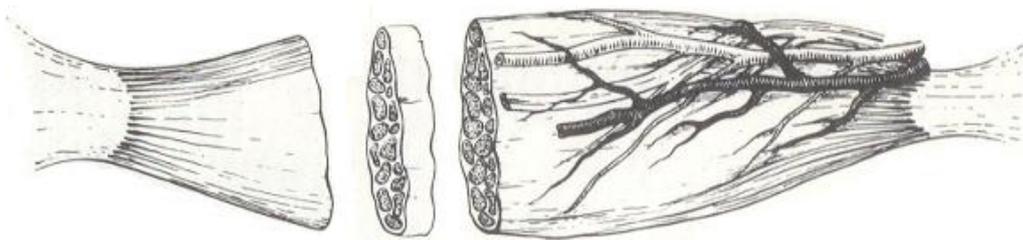
De acuerdo con la forma en que se encuentra el agua en los alimentos, el agua se divide en libre y ligada; la primera se encuentra disponible para el crecimiento de microorganismos e interviene en reacciones hidrolíticas, químicas, enzimáticas, etc., la segunda está unida a la superficie sólida y no puede intervenir en estos procesos (Badui, 1999). La  $a_w$  de la carne fresca es generalmente de 0.99, óptima para el crecimiento de la mayoría de los microorganismos (Forrest, 1979).

### 1.2.2. Proteínas

Las proteínas de la carne son en gran parte las de los tejidos muscular y conectivo; la mayor proporción de proteínas musculares totales la constituyen las miofibrilares con un 9.5 %, seguidas por las sarcoplásmicas con 6.0 %, formadas por enzimas musculares y mioglobina principalmente; con un 3.0 % las menos abundantes son las proteínas del tejido conectivo, constituidas fundamentalmente por colágeno y elastina (Forrest, 1979).

Las fibras musculares o miofibrillas son el componente de mayor tamaño y el más abundante del músculo (Olson, 1991).

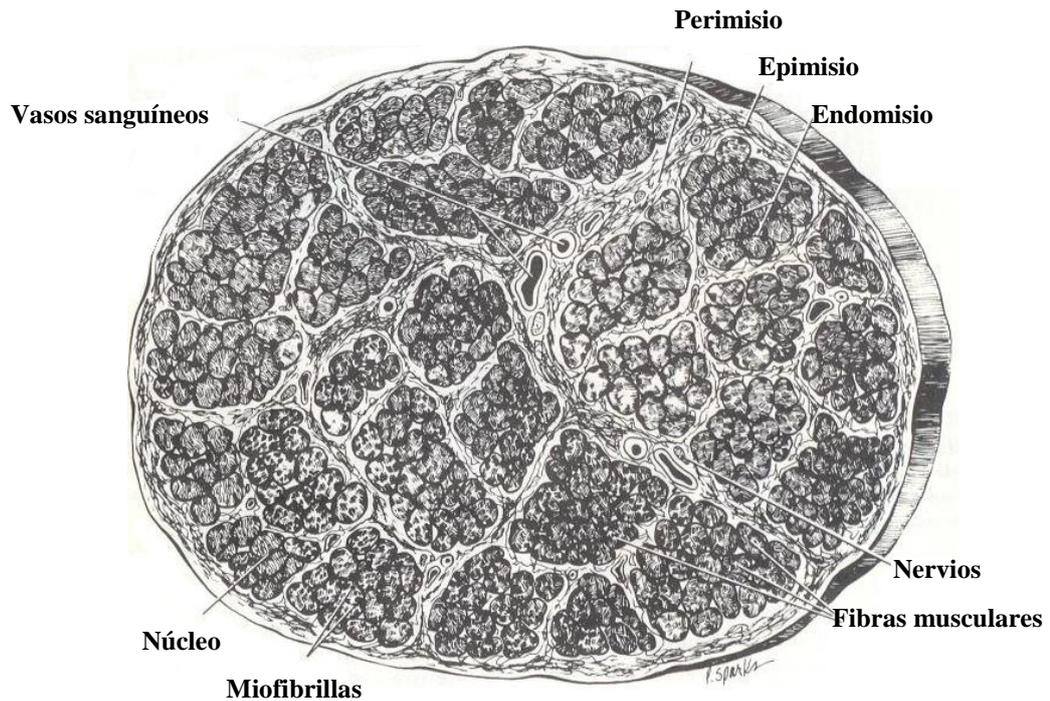
El músculo esquelético (Figura 1) se encuentra conformado por células alargadas y estrechas llamadas fibras, las cuales se disponen en forma paralela unas con respecto de otras. Las fibras se encuentran encerradas en una delicada membrana plasmática integrada por lipoproteínas, mucopolisacáridos y tejido conectivo denominada sarcolema.



**Figura 1. Músculo esquelético**

**Fuente: Forrest, 1979**

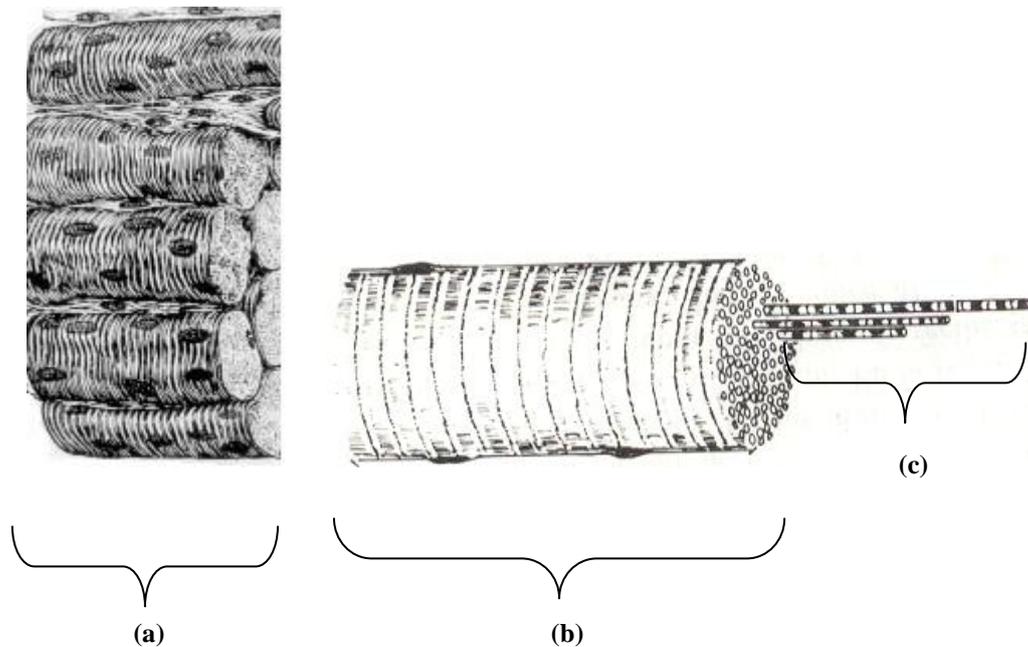
Rodeando al sarcolema y separando cada fibra de las demás, se localiza una fina capa de tejido conectivo denominada endomisio. Las fibras integran conjuntos denominados haces, los cuales se encuentran a su vez rodeados de una capa ligeramente más gruesa de tejido conectivo denominada perimisio. De manera homóloga a las fibras, los haces de fibras musculares se agrupan para formar el músculo encontrándose rodeadas de una capa gruesa de tejido conectivo llamada epimisio (Figura 2).



**Figura 2. Corte transversal del músculo esquelético**

**Fuente: Forrest, 1979**

Las fibras musculares constituyen las unidades celulares básicas del músculo (figura 3). Cada fibra está compuesta por miofibrillas, las cuales se encuentran integradas por un arreglo de proteínas miofibrilares. Las miofibrillas están incluidas en el citoplasma de cada célula muscular, el cual se denomina sarcoplasma. En el interior de la fibra las miofibrillas se encuentran envueltas por el retículo sarcoplásmico. Un arreglo entrecruzado de filamentos gruesos de miosina y actina, principales proteínas miofibrilares conforman las miofibrillas. Estos arreglos se encuentran agrupados en unidades básicas secuenciales denominadas sarcómeros (sarcómera), los cuales conforman la unidad contráctil básica del músculo (Chacón, 2004).



**Figura 3. Haz muscular (a), fibra muscular (b), miofibrillas (c)**

**Fuente: modificado de Forrest, 1979**

Además de su alto contenido proteico, la carne proporciona proteína de alto valor biológico pues contiene todos los aminoácidos esenciales, los cuales no pueden sintetizarse en el organismo en cantidades suficientes para cubrir sus necesidades. Estos aminoácidos son: arginina, histidina, fenilalanina, valina, triptófano, treonina, metionina, leucina, isoleucina y lisina. Tanto el contenido como el tipo de aminoácidos de las proteínas de la carne es el mismo en las diferentes especies animales. La alimentación no influye en la composición de aminoácidos de la carne (Forrest, 1979; Badui, 1999; Prandl, 1994).

### **1.2.3. Lípidos**

El contenido de lípidos en la carne es el componente más variable. Es muy importante porque afecta directamente el sabor y la textura. La cantidad y la estructura de la grasa animal dependen sobre todo de la especie, de la raza y de la alimentación.

La grasa de los bovinos la constituyen: la extracelular localizada debajo de la piel y demás depósitos de grasa del organismo (también llamada de cobertura o subcutánea), la intermuscular situada en cada uno de los músculos individuales y la intramuscular que está incluida en forma de fibras muy finas en el músculo y que se conoce como veteado o marmorización de la carne. La composición en ácidos grasos, además de ser importante

para la consistencia, influye en la calidad organoléptica de la carne. La grasa intramuscular da el sabor y el aroma característico y particular a la carne (Tabla 2) (Begoña, 1999; Niinivaara, 1973).

**Tabla 2. Composición de ácidos grasos (g/100 g de ácido graso) de tejido adiposo y músculo (*longissimus*) de cortes de lomo de cerdo y res.**

	Tejido adiposo		Músculo	
	Cerdo	Res	Cerdo	Res
Mirístico (14:0)	1.6	3.7	1.3	2.7
Palmítico (16:0)	23.9	26.1	23.2	25
Palmitoleico (16:1cis)	2.4	6.2	2.7	4.5
Esteárico (18:0)	12.8	12.2	12.2	13.4
Oleico (18:1cis-9)	35.8	35.3	32.8	36.1
Linoleico (18:2 $\Omega$ -6)	14.3	1.1	14.2	2.4
Linolénico (18:3 $\Omega$ -3)	1.4	0.5	0.95	0.70
Araquidónico (20:4 $\Omega$ -6)	0.2	ND	2.21	0.63
Eicosapentanoico (20:5 $\Omega$ -3)	ND	ND	0.31	0.28
Total	65.3	70	4.9	3.8

**Fuente: Wood *et al.*, 2008.**

El contenido de grasa intramuscular en los bovinos es de aproximadamente 5%, aunque puede ser inferior al 1% en las razas bovinas de elevado desarrollo muscular y mayor a 18% en razas de menor desarrollo muscular. La grasa de los rumiantes es predominantemente saturada (C14:0+C16:0+C18:0=40-45%) y monoinsaturada (C16:1+C18:1=40-45%), la fracción poliinsaturada (11%) contiene ácidos grasos poliinsaturados (AGPI)  $\Omega$ -6 y  $\Omega$ -3. Los ácidos grasos saturados (AGS) y monoinsaturados (AGMI) suponen más del 95% del total de ácidos grasos de los triglicéridos de reserva mientras que los fosfolípidos de las membranas celulares contienen por encima del 30% de AGPI (Martínez, 2007).

Los componentes lipídicos de mayor interés, desde el punto de vista nutritivo, son los triglicéridos, constituidos por tres ácidos grasos ligados a una molécula de glicerol, fosfolípidos, colesterol y vitaminas liposolubles. El valor calórico de los lípidos de la carne procede de los ácidos grasos (láurico, mirístico, palmítico, esteárico, oleico, linoleico y linolénico) de los triglicéridos y de los fosfolípidos. Algunos ácidos grasos son esenciales para la alimentación humana y por ello han de ser suministrados con la alimentación, estos ácidos grasos son el linoleico y el linolénico. Las grasas aportan mayor valor calórico que los carbohidratos o las proteínas y son por tanto una fuente de energía de primera línea (Prandl, 1994; Olson, 1991; Forrest, 1979).

Los lípidos son un grupo de compuestos generalmente constituidos por carbono, hidrógeno y oxígeno, en general son solubles en compuestos orgánicos como el cloroformo, hexano y éter de petróleo (Badui, 1999; Fennema, 1993).

Clasificación de los lípidos:

- Lípidos simples. Son ésteres de los ácidos grasos y alcoholes. Los cuales se dividen en:
  - Grasas y aceites. Son ésteres de glicerol con ácidos monocarboxílicos
  - Ceras. Son ésteres de alcoholes monohidroxilados y ácidos grasos
- Lípidos compuestos. Son lípidos simples conjugados con moléculas no lipídicas
  - Fosfolípidos. Ésteres que contienen ácido fosfórico en lugar de un ácido graso, combinado con una base de nitrógeno
  - Glucolípidos. Compuestos de carbohidratos, ácidos grasos y esfingosinol, llamados también cerebrósidos
  - Lipoproteínas. Compuestos de lípidos y proteínas
- Compuestos asociados
  - Ácidos grasos (derivados de los lípidos simples)
  - Pigmentos
  - Vitaminas liposolubles
  - Hidrocarburos

### 1.2.3.1. Ácidos grasos

Los ácidos grasos son ácidos monocarboxílicos de cadena lineal con número par de átomos de carbono, que pueden ser saturados o insaturados. Cuando los átomos de carbono de un ácido graso están unidos por un enlace simple se dice que es un ácido graso saturado (Tabla 6). Una o varias dobles ligaduras en la cadena del ácido graso indican un ácido graso insaturado o no saturado (Tabla 7). Uno, dos o tres ácidos grasos unidos a una molécula de glicerol forman un monoacilglicérido, diacilglicérido o triacilglicérido respectivamente (Figura 4) (Badui, 1999; Olson, 1991).



Figura 4. a) Molécula de glicerol, b) Triacilglicérido

Fuente: Wingrove, 1999

Los ácidos grasos saturados (Tabla 3) están constituidos por átomos de carbono que van desde 4 a 24 átomos; su punto de fusión aumenta con el peso molecular o tamaño de la molécula; así, los de C<sub>4</sub> a C<sub>8</sub> son líquidos a 25°C mientras que los de C<sub>10</sub> en adelante son sólidos.

Tabla 3. Ácidos grasos saturados

Abreviatura	Nombre común	Nombre científico	Fórmula	Punto de fusión (°C)
4:0	Butírico	Butanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>2</sub> COOH	-5.9
6:0	Caproico	Hexanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> COOH	-3.4
8:0	Caprílico	Octanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>6</sub> COOH	16.7
10:0	Cáprico	Decanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>8</sub> COOH	31.6
12:0	Láurico	Dodecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>10</sub> COOH	44.2
14:0	Mirístico	Tetradecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>12</sub> COOH	54.4
16:0	Palmítico	Hexadecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>14</sub> COOH	63.0
18:0	Esteárico	Octadecanoico	CH <sub>3</sub> (CH <sub>2</sub> ) <sub>16</sub> COOH	69.4

Fuente: Badui, 1999; Fennema, 1993.

Los ácidos grasos insaturados (Tabla 4) tienen gran reactividad química ya que están propensos a transformaciones oxidativas y de isomerización. Su temperatura de fusión disminuye con el aumento de las dobles ligaduras y ésta siempre es menor que la de los saturados para una misma longitud de cadena. Los ácidos que contienen solo una insaturación se llaman monoinsaturados y a los de más de una se les llama poliinsaturados (Badui, 1999).

**Tabla 4. Ácidos grasos insaturados**

Abreviatura	Nombre común	Nombre científico	Fórmula	Punto de fusión (°C)
16:1	Palmitoleico	9-hexadecanoico	C <sub>15</sub> H <sub>29</sub> COOH	-0.5
18:1	Oleico	9-octadecanoico	C <sub>17</sub> H <sub>33</sub> COOH	13
18:2	Linoleico	9,12-Octadecadienoico	C <sub>17</sub> H <sub>31</sub> COOH	-5.0
18:3	Linolénico	9,12,15-Octadecatrienoico	C <sub>17</sub> H <sub>29</sub> COOH	-11.0
20:4	Araquidónico	5,8,11,14-Eicosatetraenoico	C <sub>19</sub> H <sub>31</sub> COOH	-49.5

**Fuente: Badui, 1999; Fennema, 1993.**

### 1.3. Microbiología de la carne

La microbiología de la carne se ocupa de la presencia, origen y significado de los microorganismos existentes en la carne. Su importancia radica en el hecho de que la tasa microbiana presente constituye un parámetro para calificar la calidad de la carne (Prandl, 1994). De este modo los microorganismos que alteran la carne, pueden tener acceso a la misma por infección del animal vivo (enfermedad endógena) o por contaminación de la carne *post-mortem* (infección exógena) (Lawrie, 1998).

El animal vivo, alberga asimismo multitud de especies microbianas. Estas se encuentran principalmente en la superficie corporal, sobre todo en las regiones húmedas de las aberturas naturales: boca, conducto auditivo externo, ano, y órganos genitales externos; en las hembras, también los conductos excretores de las glándulas mamarias (Prandl, 1994) (Tabla 3).

Por otro lado la alteración de la carne y las intoxicaciones alimentarias se deben a la infecciones exógenas *post-mortem* causadas por bacterias. Las fuentes de contaminación externa pueden ser la piel, la suciedad adherida a la misma, el contenido gastrointestinal, contacto con pisos húmedos y sucios, malas prácticas de sacrificio, áreas de trabajo insalubres, utensilios no estériles, además de las deficiencias en la higiene durante la manipulación u otro tratamiento inadecuado como un almacenamiento de la carne a altas temperaturas (Tabla 5) (Lawrie, 1998; Prandl, 1994).

**Tabla 5. Microorganismos patógenos presentes en la carne y que suponen un riesgo para el hombre**

Microorganismo	Factor de riesgo
<i>Bacillus anthracis</i> (Carbunco)	Por contacto con animales infectados y por el consumo de carne mal cocinada
<i>Mycobacterium tuberculosis</i> var. <i>bovis</i> (Tuberculosis bovina)	Por consumo de leche cruda o mal calentada
<i>Brucella abortus</i> var. <i>bovis</i> (Brucelosis)	Contagio por vía digestiva, contacto directo con la leche contaminando carne y órganos
<i>Listeria monocytogenes</i> (Listeriosis)	Por el consumo de leche, carne y carnes fermentadas crudas contaminadas.
<i>Campylobacter jejuni</i> (Campilobacteriosis)	Contacto directo con el animal infectado, leche cruda contaminada, por contaminación fecal.
<i>Salmonella</i> (Salmonelosis)	Piensos, animales, alimentos, hombre y aguas residuales se relacionan para constituir una cadena infecciosa.

**Fuente: Prandl, 1994.**

**Tabla 6. Algunas características de intoxicación bacteriana por carne**

Microorganismo	Reservorio del microorganismo	Síntomas
<i>Salmonella</i>	Tracto gastrointestinal animal	Dolor abdominal, náuseas, diarreas
<i>Staphylococcus</i>	Piel, nariz, heridas del hombre y animal	Dolor abdominal, náuseas, diarreas, salivación y vómitos
<i>Escherichia coli</i>	Tracto intestinal animal	Calambre abdominal, diarrea
<i>Clostridium perfringens</i>	Tracto intestinal animal	Calambre abdominal, diarrea
<i>Streptococcus faecalis</i>	Suelo sucio	Dificultad de deglución, visión doble, parálisis respiratoria
<i>Clostridium botulinum</i>	Suelo sucio	Dificultad de deglución, visión doble, parálisis respiratoria

**Fuente: Lawrie, 1998.**

## 1.4. Deterioro de los lípidos

Las grasas pueden sufrir diferentes cambios químicos conocidos como rancidez, que además de reducir el valor nutritivo del alimento, producen compuestos volátiles que imparten olores y sabores desagradables (Badui, 1999; Gray *et al.*, 1978).

### 1.4.1. Oxidación de las grasas

La oxidación de los lípidos es uno de los mecanismos primarios que provocan el deterioro de la carne y productos cárnicos, disminuyendo así la calidad de los mismos y esto se ve reflejado en cambios de color, olor, sabor, textura y valor nutritivo (Gray *et al.*, 1996).

Las principales causas de deterioro de las grasa son los procesos de hidrólisis y la oxidación. En el deterioro de las grasa pueden intervenir factores tanto endógenos como exógenos (Tabla 7).

**Tabla 7. Factores endógenos y exógenos que provocan deterioro en las grasas de la carne**

Factores endógenos	Factores exógenos
Lipasas tisulares	Microorganismos lipolíticos
Contenido de Ac. Grasos Insaturados	La acción de la luz
Falta de vitamina E	La presencia de oxígeno
La humedad	Las altas temperaturas

**Fuente: Prandl, 1994.**

La hidrólisis de las grasas se inicia por la acción de las *lipasas* de origen microbiano de aquellos microorganismos que forman parte de la microbiota de la carne, de los cuales algunos son considerados alterantes, como *Acinetobacter*, *Micrococcus*, *Candida lipolytica*, Levaduras y mohos, etc., o patógenos de los géneros *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Proteus*, *Aeromonas* y *Aspergillus niger* que provocan la hidrólisis del enlace éster de los triacilglicéridos, con la liberación de los ácidos grasos mediante las reacciones de rancidez hidrolítica de la grasa.

Las lipasas bacterianas son resistentes al calor y pueden mostrar incluso cierta actividad a bajas temperaturas de hasta -30°C. Su pH óptimo es de aproximadamente 7. Las lipasas pueden atacar distintos puntos de las moléculas de grasa, la mayoría ataca sólo las posiciones 1 y 3 de los ácidos grasos, mientras que las lipasas de *Aspergillus niger* y

*Staphylococcus aureus* separan los tres ácidos grasos en el triglicérido (pueden ser cualquier tipo de ácido graso unido a la molécula de glicerol) (Prandl, 1994).

La oxidación de las grasas de la carne se puede dar por autooxidación y por la oxidación microbiana.

La grasa de cerdo es más susceptible a oxidarse que la carne de res debido a que la primera contiene mayor cantidad de ácidos insaturados. La rotura se suele producir a nivel de los dobles enlaces de los ácidos grasos insaturados, aunque también pueden oxidarse los ácidos grasos saturados formando compuestos tales como los aldehídos (pentanal, heptanal, octanal), cetonas (2-pentanona, 2-heptanona) y ácidos carboxílicos de cadena corta. Estos compuestos imparten aromas y sabores atípicos en la carne y productos cárnicos (Prandl, 1994; Chacón, 2004).

La sensibilidad de los lípidos musculares a la oxidación se debe a su alto contenido en ácidos grasos insaturados y a que las reacciones oxidativas se catalizan especialmente en presencia de compuestos *hemo* tales como la mioglobina, la hemoglobina y el citocromo C.

En la oxidación de origen microbiano se ha podido demostrar que algunos microorganismos desencadenan y aceleran la formación de peróxidos y monocarbonilos causantes del enranciamiento oxidativo. La oxidación microbiana de las grasas se facilita si antes ha tenido lugar una hidrólisis parcial.

El enranciamiento de origen bacteriano afecta a los productos cárnicos fermentados y a la carne cuando se almacenan por mucho tiempo. Durante la fermentación de productos cárnicos se desarrollan microorganismos productores de catalasas que pueden actuar inhibiendo o retardando la oxidación de las grasas (Prandl, 1994).

#### **1.4.2. Lipólisis**

Se le llama lipólisis a la hidrólisis total o parcial de los enlaces éster de los lípidos que se produce por la acción de enzimas lipolíticas (lipasas) y en ciertas condiciones, por efecto de las altas temperaturas se da la liberación de ácidos grasos. Estas lipasas pueden ser endógenas de tejidos animales y/o también generadas por microorganismos lipolíticos (Fennema, 1993; Badui, 1999; Prandl, 1994).

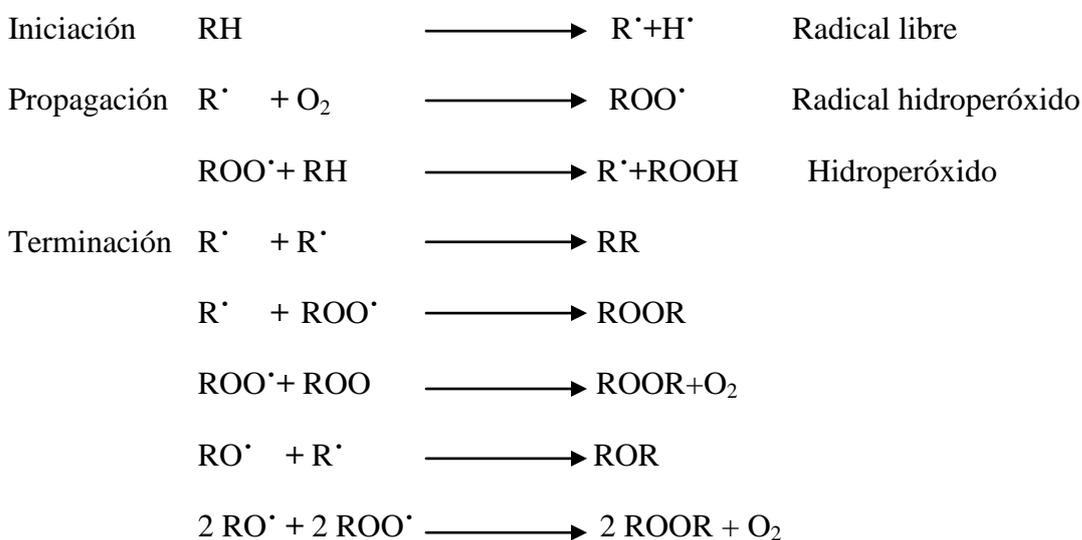
Durante los procesos lipolíticos se generan ácidos grasos libres que influyen de un modo marcado en el sabor del producto final. Los ácidos grasos de cadena corta (más volátiles) intervienen directamente en el aroma de los productos cárnicos madurados (Franco *et al.*, 2004).

### 1.4.3. Autooxidación

Recibe el nombre de autooxidación porque es un mecanismo mediante el cual se generan compuestos altamente reactivos, que continúan reaccionando hasta la descomposición completa de la grasa, disminuyendo el valor nutritivo de los alimentos. La reacción con oxígeno molecular es la principal reacción implicada en la oxidación de los lípidos y ésta es una de las principales causas de deterioro de los alimentos (Fennema, 1993; Badui, 1999).

Compuestos tales como los aldehídos, los ácidos carboxílicos e hidrocarburos son producidos a partir de hidroperóxidos. Las altas temperaturas aceleran la autooxidación especialmente por encima de 60°C (Badui, 1999).

Mecanismo de oxidación de los lípidos:



RH= sitio de oxidación, R<sup>·</sup>= radical libre de ácido graso, ROO<sup>·</sup>= radical libre de peróxido, ROOH= hidroperóxido.

#### **1.4.4. Termooxidación**

La termooxidación es un proceso oxidativo inducido por la temperatura, considerándose ésta cuando se alcanzan valores alrededor de 150°C-200°C. Si se comparan los ácidos grasos saturados con los insaturados, los primeros son más estables y menos susceptibles a los procesos de oxidación, sin embargo cuando son sometidos a elevadas temperaturas, experimentan oxidación dando lugar a productos de descomposición como *n*-alcanos y *n*-alquenos. Procesos culinarios y a nivel industrial como la fritura es claro ejemplo donde se presenta la termooxidación (Fennema, 1993; Gómez *et al.*, 1989).

#### **1.5. El papel de los lípidos como precursores de aroma**

Los lípidos son los precursores de muchos compuestos aromáticos derivados de los fenómenos hidrolíticos y oxidativos durante la maduración de algunos productos cárnicos. Los ácidos grasos libres son precursores de moléculas aromáticas. Asimismo cierto grado de oxidación lipídica contribuye a la formación del aroma y sabor típico de los embutidos. El problema se encuentra en la formación de compuestos volátiles que a determinadas concentraciones proporcionan un aroma y sabor a rancio (Begoña, 2007).

Los ácidos grasos de cadena corta (más volátiles) intervienen directamente en el aroma de los productos cárnicos madurados. Los ácidos grasos insaturados influyen en el sabor de los productos a través de los compuestos que se forman a partir de ellos vía reacciones de autooxidación. De igual forma, el enranciamiento debido a la lipólisis se aplica a los olores desagradables resultantes de la oxidación lipídica. Aunque una autooxidación lipídica intensa conduce a modificaciones desfavorables en los productos cárnicos crudo-curados, este proceso en niveles moderados conlleva la aparición de compuestos de bajo peso molecular (fundamentalmente carbonilos: aldehídos, ácidos y cetonas) con un umbral de percepción muy bajo, por lo que pequeñas cantidades de los mismos suponen una gran aportación al aroma y sabor de los productos en los que se encuentran (Franco *et al.*, 2004; Fennema, 1993).

## 1.6. Transesterificación de los ácidos grasos

Los compuestos que se clasifican como derivados de ácidos carboxílicos son aquellos que tienen grupos funcionales que se convierten en ácidos carboxílicos por una hidrólisis ácida o básica. Los derivados más importantes de los ácidos son los ésteres, las amidas y los nitrilos.

Los ésteres (Figura 5) son derivados de ácidos carboxílicos en los cuales el grupo alcoxi (–OR) sustituye al grupo hidroxilo (–OH).

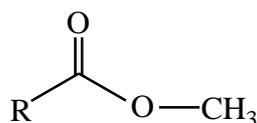


Figura 5. Estructura general de un éster

Fuente: Badui, 1999

Un éster es el producto de la reacción entre un ácido carboxílico y un alcohol con la pérdida de una molécula de agua (Figura 6) (Wade, 1993).

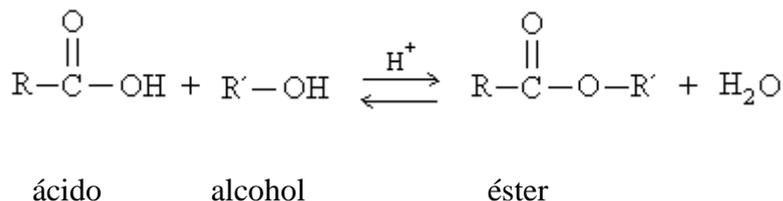


Figura 6. Reacción general de la formación de un éster

Fuente: Badui, 1999

El proceso de transesterificación se emplea para modificar los lípidos y así lograr propiedades físicas, químicas y de estabilidad deseadas en las grasas y aceites en la industria alimentaria. La transesterificación se lleva a cabo calentando la grasa a temperaturas de 55°C a 135°C empleando catalizadores como zinc, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, acetatos carbonatos, hidróxidos de sodio, litio y potasio y metóxido de sodio (MeONa); éste último es el más común y se utiliza generalmente a concentraciones de 0.05% a 0.5% (Badui, 1999).

Durante la transesterificación los ácidos grasos se separan de la molécula de glicerol y el metanol (MeOH) se une a ellos formando ésteres metílicos. El hidróxido de sodio (NaOH)

estabiliza al glicerol es decir, que el glicerol es sustituido por una molécula de alcohol ante la presencia del catalizador (Biodisol.com). En la presente investigación para llevar a cabo el seguimiento de los cambios en los lípidos, se utilizan técnicas de cromatografía de gases, acoplada a espectrometría de masas (CG-EM), para lo cual fue necesario realizar la transesterificación de las grasas.

### **1.7. Técnicas para evaluar los cambios químicos de las grasas**

Los lípidos pueden sufrir cambios y llegar a enranciarse a consecuencia de la hidrólisis (lipólisis) generada por lipasas de origen bacteriano, además de la oxidación por autooxidación. El metabolismo bacteriano es una de las causas de deterioro que sufren ciertos ácidos grasos resultando en la producción de peróxidos y compuestos carbonilo como los aldehídos, cetonas y ácidos (Demeyer *et al.*, 1974)

Estos compuestos tienen un bajo umbral de detección sensorial lo que da lugar a la aparición de olores extraños en diversos productos (Navarro *et al.*, 2004)

La descomposición de los lípidos tiene gran importancia desde el punto de vista de aceptabilidad como de calidad nutritiva de los productos alimenticios. Existen muchos métodos para evaluar estos cambios, sin embargo, ninguna prueba de forma individual puede medir todas las reacciones de oxidación ni tampoco una que pueda emplearse en todas sus etapas. Un solo análisis puede dar cierta información para una muestra dada, aunque se pueden obtener más información cuando se combinan dos o más análisis (Fennema, 1993).

Para poder verificar que los productos cárnicos se encuentran en buen estado y que los cambios sufridos por los lípidos no han causado deterioro en el producto se emplean evaluaciones sensoriales al igual que análisis químicos y/o físicos que en ocasiones requieren el uso de equipos sofisticados. Análisis químicos como el índice de peróxidos y prueba del ácido tiobarbitúrico (TBA) son los que regularmente se emplean para analizar la oxidación de los lípidos. Dentro de los análisis físicos se encuentra la espectrofotometría infrarroja, la cromatografía de gases (CG) y la cromatografía de gases acoplada a la espectrometría de masas (CG-EM) (Badui, 1999).

### 1.7.1. Cromatografía de gases

La cromatografía de gases (CG) es un método analítico usado ampliamente para separar, identificar y cuantificar componentes volátiles y semivolátiles de mezclas complejas. Se emplea para confirmar la presencia o ausencia de un compuesto en una muestra determinada. Esto se lleva a cabo por comparación del tiempo de retención de una sustancia pura con el de la muestra, siempre que las condiciones para la obtención de ambos sean idénticas (Gutiérrez *et al.*, 2002).

Tiene múltiples aplicaciones en el análisis de los productos alimentarios. Se ha utilizado en la determinación de ácidos grasos, triglicéridos, colesterol, alcoholes, pesticidas y compuestos aromatizantes. Es un método ideal para determinar la composición de ácidos grasos de un producto alimentario (Nielsen, 2007).

En la cromatografía de gases, la muestra se inyecta hacia la columna donde se mezcla con la fase móvil, la cual es un gas inerte (generalmente Helio, aunque también se puede emplear Nitrógeno e Hidrógeno). En esta fase, los distintos componentes de la muestra pasan a través de la fase estacionaria que se encuentra fija en la columna capilar. La columna se encuentra dentro de un horno con programación de temperatura. La velocidad de desplazamiento de cada componente (y en consecuencia de su tiempo de retención en la columna) será función de su distribución entre la fase móvil y la fase estacionaria. Cada soluto presente en la muestra tiene una diferente afinidad hacia la fase estacionaria, lo que permite su separación: los componentes fuertemente retenidos por esta fase se moverán lentamente en la fase móvil, mientras que los débilmente retenidos lo harán rápidamente (Figura 7) (Gutiérrez *et al.*, 2002).

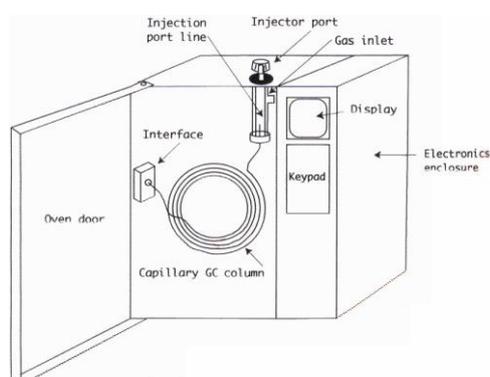


Figura 7. Cromatógrafo de gases

Fuente: McMaster *et al.*, 1998

Cada componente de una muestra suministra tres unidades de información: posición, altura y ancho de los picos en un cromatograma y cada pico representa a un solo compuesto (Dabrio, 1973) (Figura 8).

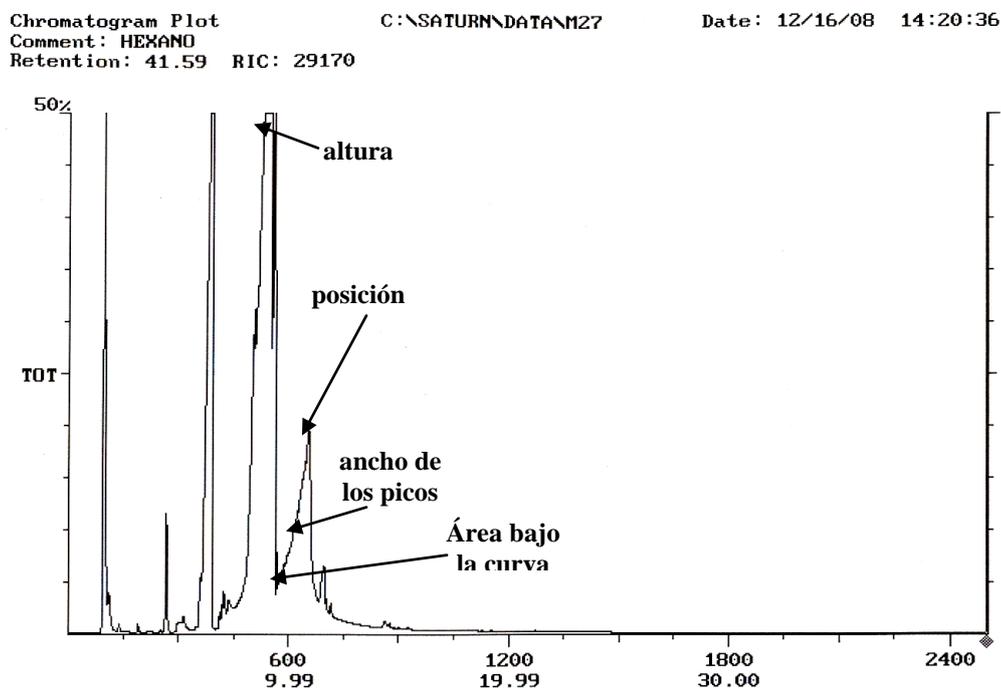


Figura 8. Cromatograma de una muestra de ésteres metílicos de ácidos grasos de salami adicionado con *Pediococcus acidilactici*

Fuente: Biblioteca de archivos del CG-EM marca Saturn

### 1.7.2. Espectrometría de masas

La espectrometría de masas (EM) es una de las técnicas analíticas más completas que existen. Se utiliza en investigación, en análisis de rutina de los procesos industriales, en control de calidad, etc.

Sus principales cualidades son:

- Capacidad de identificación de forma inequívoca, ya que proporciona el peso molecular de cada molécula.
- Es específica cuando se analiza el patrón de fragmentación de la molécula.
- Es una técnica rápida: se puede realizar un espectro en muy poco tiempo, y puede monitorearse para obtener información en tiempo real sobre la composición de una mezcla de gases, cuando hay acoplamiento.

Dentro del espectrómetro de masas (Figura 9), se produce una ionización de la muestra (gas, si proviene de un cromatógrafo, ya que la muestra puede ser un sólido o líquido, mediante inserción directa) generalmente mediante el sistema de ionización por impacto electrónico que bombardea las moléculas gaseosas con electrones de una cierta energía (70 eV), capaces de provocar la emisión estimulada de un electrón formando iones moleculares ( $M^+$ ).

Una vez ionizadas las moléculas se aceleran y salen de la cámara de ionización y se conducen hacia el sistema colector mediante campos eléctricos o magnéticos. La velocidad para cada ión será dependiente de su masa.

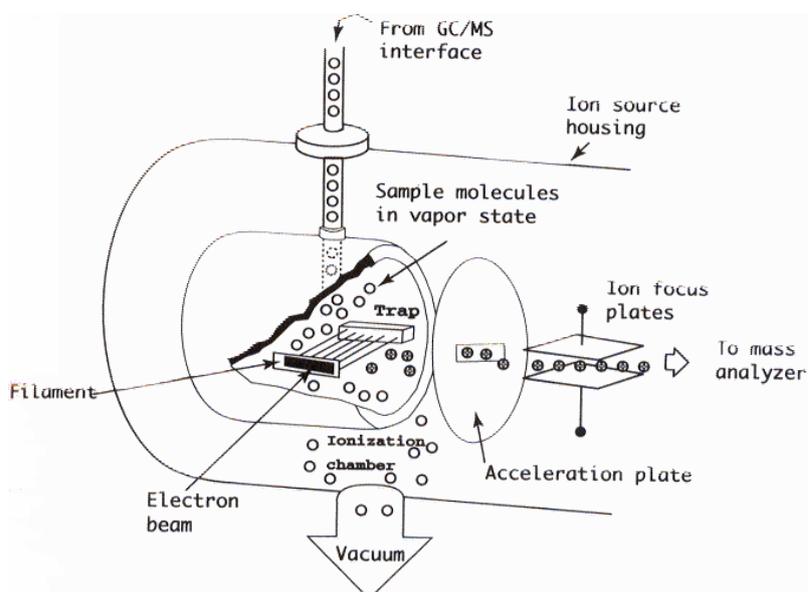


Figura 9. Cámara de ionización del espectrómetro de masas

Fuente: McMaster *et al.*, 1998

La detección consecutiva de los iones formados a partir de las moléculas de la muestra, suponiendo que se trate de una sustancia pura, produce el espectro de masas de la sustancia que es diferente para cada compuesto químico. En el espectro de masas (Figura 10), se puede visualizar la abundancia relativa de cada ión de masa ( $m$ ) y se representa gráficamente en función de sus valores respectivos de relación masa-carga ( $m/z$ ) (Gutiérrez *et al.*, 2002).

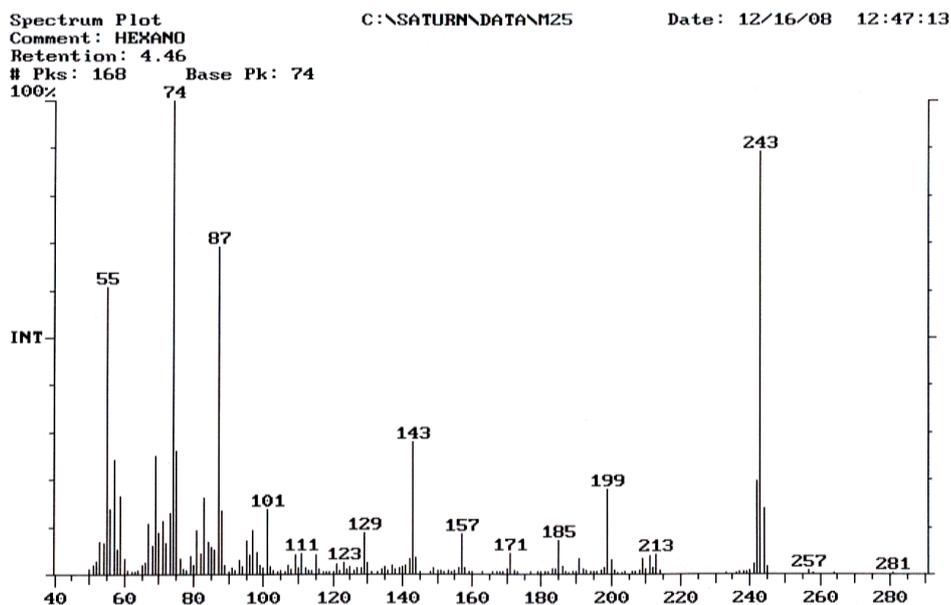


Figura 10. Espectro de masas del éster metílico del ácido Mirístico de salami adicionado con *Pediococcus acidilactici*.

Fuente: Biblioteca de archivos del CG-EM marca Saturn

### 1.7.3. Cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas CG-EM

La cromatografía de gases es una técnica que logra la separación e incluso la identificación de mezclas complejas, sin embargo una vez separados, detectados e incluso cuantificados todos los componentes individuales de una muestra el único dato que se tiene para su identificación es el tiempo de retención de los correspondientes picos cromatográficos. Este dato no es suficiente para una identificación plena.

Por otro lado, la espectrometría de masas puede identificar sustancias puras, pero no es capaz de identificar los componentes individuales de una mezcla sin separarlos previamente (Gutiérrez *et al.*, 2002).

El espectrómetro de masas es capaz de proporcionar información estructural sobre muestras de diversa índole. Resulta en particular adecuado para el análisis directo de los compuestos eluidos de la columna de un cromatógrafo de gases. Sin embargo, la CG y la EM son básicamente incompatibles en relación a sus presiones de operación, pues un sistema de CG opera a presiones atmosféricas (1 mm Hg) y un EM opera a presión de vacío.

Ambos sistemas tienen dos importantes características en común pues trabajan con muestras en estado gaseoso y la incompatibilidad en las presiones de trabajo se puede resolver por medio de interfases para la reducción de presión colocadas como conexión entre los dos instrumentos, lo cual hace posible la operación combinada y simultánea de un CG y un EM (Dabrio, 1973).

El acoplamiento de la CG-EM (Figura 11), como sistema individual es una técnica analítica capaz de separar, identificar y medir cualitativa y cuantitativamente los componentes de una mezcla compleja para posteriormente proporcionar de cada compuesto orgánico su peso molecular y la elucidación de su estructura química, mediante su espectro de masas. Conectando la salida de un cromatógrafo de gases a la cámara de ionización de un espectro de masas (EM) se puede obtener información estructural para cada uno de los componentes de la mezcla original previamente inyectada en el cromatógrafo, a medida que estos son arrastrados a través de la columna cromatográfica. La columna no es un instrumento analítico sino tan solo un medio de separación física (Dabrio, 1973; McMaster *et al.*, 1998).

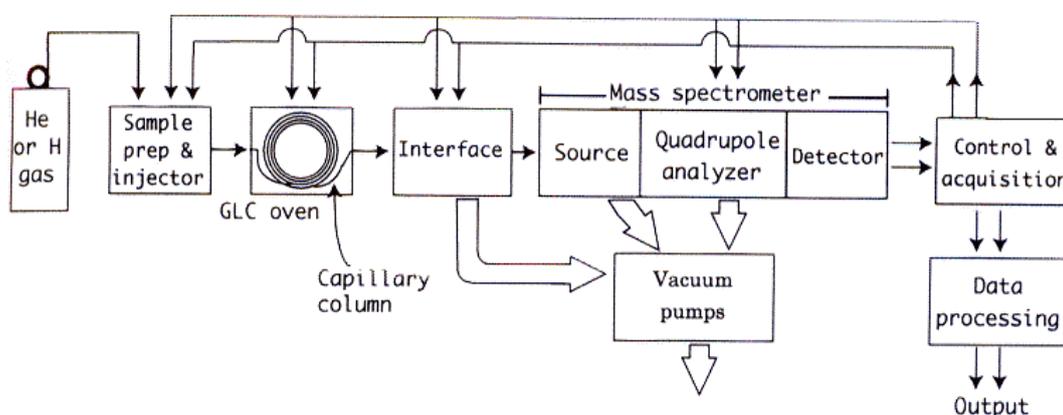


Figura 11. Diagrama de un sistema típico de CG-EM

Fuente: McMaster *et al.*, 1998

La CG-EM permite una confirmación rápida y precisa de la estructura y peso molecular de las muestras analizadas, además es una herramienta muy útil para dar seguimiento a reacciones de compuestos orgánicos (Dabrio, 1973).

Los campos de aplicación más importantes son:

- El análisis clínico
- Química forense
- Industria del petróleo
- Metabolismo de drogas
- Industria alimentaria
- Metabolismo hormonal

## **1.8. Embutidos**

Los embutidos son productos elaborados con carne, grasa de cerdo, sangre, vísceras, adicionados de condimentos. La masa cárnica es embutida en tripas naturales o artificiales para proporcionar forma, aumentar la consistencia y llevar a cabo tratamientos posteriores dependiendo del tipo de embutido (Paltrinieri, 1990).

### **1.8.1. Clasificación de embutidos**

Existe una gran variedad de productos cárnicos llamados embutidos. Estos se pueden clasificar de acuerdo con el tipo de las materias primas utilizadas, su forma de preparación y la tecnología de elaboración. En este sentido se pueden clasificar en embutidos crudos, embutidos cocidos y embutidos escaldados (Paltrinieri, 1990; Schiffner *et al.*, 1996).

Embutidos crudos. El embutido crudo se elabora a base de trozos pequeños de carne cruda de res, cerdo y tejido graso (lardo o tocino). La elaboración del embutido comienza con la elaboración de la masa cárnica que implica la mezcla de las carnes troceadas, además de la incorporación de los ingredientes como la sal, azúcar y nitritos. La producción de este tipo de embutidos representa una forma de conservar la carne cruda incluida en tripas, en combinación con la salazón, fermentación y deshidratación (Schiffner *et al.*, 1996; Schiffner, 1978).

Embutidos cocidos. Se denominan embutidos cocidos todos aquellos embutidos que se elaboran con materias primas cocidas y que, una vez embutidos, son tratados otra vez por

calor. Dependiendo del tipo de embutido se agregan determinadas materias primas como por ejemplo, hígado o sangre. A diferencia de los embutidos escaldados, los embutidos cocidos sólo presentan consistencia firme en frío. Si se calientan, se separan en sus diferentes fracciones. Los principales embutidos cocidos son los embutidos de hígado (patés), los embutidos de sangre (morcillas) y los embutidos de gelatina (gelatinas).

Embutidos escaldados. Los embutidos escaldados se elaboran a base de carne de res, carne de cerdo, en algunas ocasiones se puede añadir carne de aves, grasa, agua y otros condimentos. Este tipo de embutidos se someten a un proceso de cocción. A diferencia de los embutidos cocidos, no se altera su estructura natural por el recalentamiento. Son ejemplo de embutidos escaldados la salchicha, la mortadela, el salami cocido y el pastel de carne (Schiffner *et al.*, 1996).

#### **1.8.1.1. Productos cárnicos madurados**

De acuerdo con la NOM-213-SSA1-2002, los productos cárnicos madurados son aquellos que son sometidos a deshidratación parcial, pudiendo ser ahumados o no, sometidos durante cierto tiempo a la acción de cultivos microbianos o enzimas o microorganismos propios de la carne y su acción sobre azúcares añadidos o no. Pueden ser en cortes enteros o troceados.

La estabilidad de este tipo de productos se basa en la producción de ácidos y el consecuente descenso en los valores de pH por la fermentación microbiana de los carbohidratos, la disminución de la  $a_w$  a causa de los solutos añadidos a la pasta cárnica y de la deshidratación producida durante la maduración (Begoña, 2007; Coretti, 1986).

Para la elaboración de este tipo de embutidos es importante verificar tres aspectos sumamente importantes:

- La calidad de la carne y la grasa así como la sal y las especias
- La composición bacteriana de las materias primas iniciales y el desarrollo posterior de los microorganismos
- Las buenas prácticas de manufactura, así como las condiciones de proceso (temperatura, luz, humedad) (Schiffner *et al.*, 1996).

La producción de embutidos crudos es una forma de conservar la carne, en combinación con la salazón, fermentación y deshidratación. Los cambios físico-químicos que ahí se desarrollan, confieren al producto características de color, olor, sabor y tiempo de vida útil. En esto, los microorganismos juegan un papel importante pues su adición a la pasta cárnica mejora estas características (Schiffner, 1978).

### **1.8.2. Salami**

El salami es un embutido curado-madurado de media y larga duración elaborado con carne de res, carne de cerdo, lardo, sal común, sales curantes (nitritos) y azúcar, que al ser mezclados todos los componentes se forma una pasta cárnica con diámetros de partícula cárnica de aproximadamente 2 mm la cual es embutida en tripas naturales o artificiales.

Una vez embutida la pasta cárnica se inicia el proceso de fermentación, posteriormente se lleva el producto a una etapa de maduración donde se puede apreciar que las diferentes partículas comienzan a formar una masa compacta creando una interacción entre ellas, además se adquiere el color rojo característico de este tipo de productos y conforme pasan los días el producto va adquiriendo mayor color y se aprecia un aroma típico de estos productos (Coretti, 1986).

En la elaboración del salami es necesario crear un ambiente de desarrollo óptimo de las bacterias propias de la pasta cárnica, éstas necesitan agua, proteínas, vitaminas y carbohidratos. La pasta cárnica incluida ya en la tripa contiene una flora bacteriana que hace uso del azúcar para producir ácido láctico. Junto a este se encuentran en la pasta ácido pirúvico, alcohol etílico y CO<sub>2</sub> (Schiffner, 1978).

#### **1.8.2.1. Materias primas para la elaboración de salami**

Para la elaboración de embutidos madurados se emplean carne de res pudiendo ser de cortes convencionales como el lomo aunque en algunos casos se emplean otros músculos, carne de cerdo regularmente se usa la pierna, lardo o tocino, tripas naturales o artificiales, sal común, sales curantes (nitritos), azúcar y algunas veces, solo si se desea especias. El lardo debe estar congelado antes de ser usado y la carne deberá estar a temperaturas de

8°C-10°C. La finalidad de usar las carnes a esta temperatura es evitar la coagulación de las proteínas por el calentamiento provocado por la acción de picado.

La carne debe ser de fibra consistente, de buen color, fresca y con un pH de entre 5.5 y 6.2 bien madurada. El lardo debe ser de corte consistente para que los trozos no se vuelvan viscosos al ser picados y evitar que se empaste durante esta etapa (Coretti, 1986; Paltrinieri, 1990).

La grasa, que es proporcionada mayoritariamente por el lardo, cumple una función tecnológica importante en la producción de embutidos (salamis), siendo esencial para el desarrollo de sabor, del aroma, de la textura y la aceptación sensorial del producto (Dalla *et al.*, 2008).

Las tripas funcionan como una piel, protegiendo contra la alta humedad o evitando que se seque muy rápido el producto. Existen tripas artificiales (fibras de celulosa o colágeno) y tripas naturales (tracto intestinal de bovinos o porcinos), las tripas deben ser permeables al vapor de agua y a los gases, lo cual es indispensable para permitir la correcta deshidratación progresiva del producto, además de que conforme pasa el tiempo de maduración éstas se deben adaptar a la forma que va tomando el embutido (Carnilac, 2006).

La sal afecta la capacidad de retención de agua de la carne y mediante la deshidratación se detiene la multiplicación de la mayoría de las bacterias que pudieran afectar la calidad del producto. Durante la maduración, el embutido pierde agua, su actividad acuosa desciende y la concentración de sal se eleva de 3 a 4%. La menor actividad de agua y el aumento de contenido de sal, junto con el descenso del pH frenan el crecimiento microbiano y favorecen la calidad sanitaria del producto.

Se ha de añadir a la pasta cárnica sal de curado (nitrito o nitrato de potasio) para que el embutido adquiera un color estable, de rojo pardo a rojo intenso. El enrojecimiento del embutido tiene por base la formación de metamioglobina y nitrosomioglobina, siendo condición necesaria para que se desarrolle dicho proceso el que exista nitrito; de no ser así, el nitrato incorporado ha de originarlo al ser reducido por acción enzimática.

La acidificación que se produce en el curso de la maduración se debe principalmente a la formación de ácido láctico, y alcanza su valor máximo a pH de 4.5-5.0 (Schiffner, 1978).

### 1.8.2.2. Fermentación cárnica

Los embutidos fermentados se caracterizan por su bajo valor de humedad y de  $a_w$ , y por la presencia de ácido láctico en concentraciones que confieren al producto un sabor característico.

La fabricación de salamis se inicia con la mezcla de los ingredientes, el embutido en tripa y posterior fermentación, por último la maduración donde se lleva a cabo la deshidratación. La etapa de fermentación es la fase donde ocurre la disminución del pH originada por la acción de las bacterias lácticas sobre los carbohidratos produciendo ácido láctico y así contribuye al desarrollo de las características del salami.

En la etapa final, ocurre la deshidratación que además de reforzar algunas propiedades sensoriales, reduce la  $a_w$  a niveles que inhiben el desarrollo de microorganismos tanto patógenos como aquellos responsables del deterioro de la calidad sanitaria del producto (Dalla *et al.*, 2008).

### 1.8.3. Maduración

La maduración de embutidos se lleva a cabo en cámaras climáticas o en habitaciones climatizadas con control de temperatura, humedad y ventilación adecuadas. Las condiciones de maduración dependerán del tipo de producto y la duración según cada proceso, debido a esto se considera de suma importancia definir las condiciones de tiempo, temperatura y humedad relativa. La maduración puede llevarse a cabo a temperaturas de 10°C- 15°C y hasta 25°C con humedades relativas desde 70 %-95% (Schiffner *et al.*, 1996).

Los procesos más importantes que tienen lugar durante la maduración son el enrojecimiento, la desnaturalización de proteínas que dan lugar a una consistencia firme y la formación del olor característico de estos productos (Coretti, 1986). Durante la maduración el embutido va adquiriendo un color rojo cada vez más intenso. Se da una reducción del nitrato ( $\text{NO}_3$ ) a nitrito ( $\text{NO}_2$ ) por la acción de microorganismos reductores de nitratos (*Micrococcus* y *Staphylococcus*). La descomposición del nitrito sólo se realiza de forma óptima en medios de pH de entre 5.3 y 5.6. El enrojecimiento del embutido tiene por base la formación de metamioglobina y nitrosomioglobina, siendo necesaria la presencia de nitrito para que se desarrolle el proceso. En la descomposición del nitrito a nitrosomioglobina son responsables las enzimas propias de la carne. La nitrosomioglobina

recién formada es inicialmente sensible al medio ambiente, sin embargo a medida que va evolucionando la maduración se hace más estable. La forma estable del rojo de curado se denomina nitrosomiocromógeno (Coretti, 1986; Schiffner *et al.*, 1996). En esta etapa se desarrollan bacterias acidolácticas que conforme avanza el proceso se convierten en la flora predominante en el embutido y éstas fermentan los carbohidratos presentes en el embutido para obtener la energía necesaria para su metabolismo produciendo ácidos, principalmente ácido láctico. También aumenta la cantidad de ácido y el pH disminuye de 5.8-6.0 hasta 5.0-5.2 (Coretti, 1986).

En el curso de la maduración, al ir perdiendo agua el embutido, desciende también la  $a_w$  y por consecuencia, se eleva en un 3 a 4% la concentración de sal. La menor  $a_w$  y el aumento de contenido de sal, junto con el descenso del pH, se frena el crecimiento de microorganismos causantes de deterioro favoreciendo a una mayor conservación del producto (Schiffner, 1978).

El aroma del embutido crudo es el resultado de procesos de transformación de los componentes de la masa cárnica como las proteínas, las grasas, los carbohidratos y el agua. Al descomponerse las proteínas de alto peso molecular se originan, sucesivamente, peptonas, aminoácidos, aminos y amoníaco, se forman compuestos como el ácido glutámico, que es muy aromático. Las grasas se ven involucradas debido a la formación de ácidos carbonílicos carboxílicos que son muy aromáticos. A medida que avanza la fase de maduración predominan los procesos oxidativos que se ven favorecidos por la hidrólisis, actividad lipolítica y oxidación formándose ácidos grasos de bajo peso molecular así como aldehídos y cetonas (Schiffner *et al.*, 1996).

### **1.9. Bioconservación**

La bioconservación es un método que hace uso de bacterias acidolácticas (BAL), sus productos metabólicos o ambos, se emplean para mejorar o asegurar la calidad de los alimentos que son generalmente fermentados, debido a la producción de ácidos orgánicos (láctico, acético, propiónico, cítrico, etc.) a temperaturas controladas de acidificación. La producción controlada de ácido es una forma importante de bioconservación en la que están involucrados factores como el pH inicial, tipo de organismo, naturaleza y concentración del carbohidrato fermentable y velocidad de crecimiento de las BAL. Dichas bacterias tienen la finalidad de controlar la alteración de los alimentos y los

microorganismos patógenos presentes en ellos. Las bacterias utilizadas en los procesos de bioconservación no deben presentar peligro para los humanos, deben tener buena actividad competitiva por los nutrientes del alimento frente a los microorganismos alterantes y/o patógenos (Llorente, 1998; Yousef *et al.*, 2006).

La mayoría de los alimentos fermentados son dependientes de las bacterias ácido lácticas (BAL) que median los procesos de fermentación. Los productos finales del catabolismo de los carbohidratos por estas bacterias contribuyen no solo a la conservación, sino, también al sabor, olor y textura, y ayudan a determinar las características propias y únicas del producto (Rivera, 2004).

### **1.9.1. Bacterias Ácido Lácticas**

Las BAL comprenden un grupo heterogéneo de microorganismos. Son Gram (+), no forman esporas, son anaerobias facultativas y son capaces de metabolizar los carbohidratos mediante diversas rutas fermentativas. Algunas lo hacen produciendo sólo ácido láctico (homofermentativas), mientras que otras producen además alcohol y CO<sub>2</sub> (heterofermentativas). Los géneros de bacterias más relevantes son: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* y *Pediococcus* (Yousef *et al.*, 2006; Fragoso *et al.*, 2000).

Las bacterias ácido lácticas pueden producir un amplio rango de compuestos antimicrobianos y sustancias proteicas que pueden inhibir o reducir flora indeseable en productos alimenticios (Rivera, 2004).

Las BAL juegan un rol esencial en las fermentaciones de alimentos y es usada una amplia variedad de cepas como cultivos iniciadores en la producción de productos horneados, vegetales, productos lácteos, carnes y productos cárnicos. Una de las contribuciones más importantes de estos microorganismos es la de extender la vida útil de los productos fermentados en comparación con el sustrato crudo (Fragoso *et al.*, 2000).

Las BAL que se aplican a los embutidos crudos son siempre “homofermentativas”, o sea, que de la glucosa y otros carbohidratos que se aplican para la elaboración de embutidos crudos forman sólo ácido láctico. Las bacterias lácticas “heterofermentativas” producirían además ácido acético y CO<sub>2</sub>, sustancias ambas que son indeseables para el embutido crudo, por sus efectos sobre el sabor y sobre el aspecto (porosidad y agrietamiento). De dichas

bacterias, las más usuales para esta finalidad pertenecen a los siguientes tipos: *Lactobacillus plantarum*, *L. sake*, *L. curvatus*, *Pediococcus pentosaceus* y *P. acidilactici* (Rivera, 2004).

#### **1.9.1.1. Acción conservadora**

La aplicación de bacterias acidolácticas como cultivos iniciadores garantizan mejores características sensoriales y sanitarias del producto final, comparados con sus correspondientes productos no fermentados, contribuyendo en el dominio sobre la flora natural, que incluye otras BAL y/o patógenas, como *Staphylococcus aureus*, *Salmonella spp*, *Clostridium botulinum*, *Listeria spp*, *Yersinia spp*, *E. coli*, etc. La inhibición del crecimiento de microorganismos patógenos y alterantes de alimentos por las BAL se debe a la competencia por los nutrientes y a la presencia de inhibidores derivados de los cultivos iniciadores, como son la formación de ácidos, peróxidos de hidrógeno y bacteriocinas (Llorente, 1998; Frago *et al.*, 2000).

La acción conservadora de los cultivos iniciadores en sistemas de alimentos y bebidas es atribuida a la acción combinada de una variedad de metabolitos antimicrobiales producidos durante el proceso de fermentación. Esta incluye la producción de ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, dióxido de carbono, diacetilo, y compuestos antimicrobianos de amplio espectro tales como reuterina y la producción de bacteriocinas (Rivera, 2004).

En la industria cárnica, el empleo de cultivos bacterianos permite que la calidad sanitaria de los embutidos crudos permanezca invariable, dentro de ciertos límites, además de llevar de buena forma el control del proceso (tiempos de producción, empleo de materias primas, producto fermentado-madurado en menor tiempo, disminución de mermas) (Schiffner, 1978).

#### **1.9.2. *Pediococcus acidilactici***

Uno de los géneros de BAL más importantes en alimentos, es el de *Pediococcus*, se ha descrito como un grupo de bacterias Gram (+), inmóviles, no encapsuladas, homofermentativas, anaerobios facultativos, cuyas células esféricas forman principalmente tétradas, aunque también se les encuentra formando pares. Son catalasa negativo y no son patógenas a plantas y animales. Las colonias varían en tamaño de 1-2.5 mm de diámetro,

son lisas redondeadas, de color blanco grisáceo. Todas las especies crecen a 30 °C, pero las temperaturas óptimas se encuentran entre 25-40 °C (Rivera, 2004).

*Pediococcus acidilactici* crece en forma óptima a 30°C, con un máximo de tolerancia a los 52°C, se destruye por calentamiento a los 70°C por 10 minutos. Produce ácido láctico a partir de glucosa, galactosa, arabinosa, maltosa, manitol y dextrinas; algunas cepas lo producen también a partir de sacarosa y lactosa (Llorente, 1998). Se ha reportado que *P. acidilactici*, *P. pentosaceus* y *P. acidophilus* presentan gran resistencia a la liofilización y un crecimiento rápido en substratos cárnicos, aspecto que favorece su uso como cultivos iniciadores en la elaboración de productos cárnicos (Bello y Durán, 1992).

Bello y Durán (1992), utilizaron *Pediococcus acidilactici* en la elaboración de salami, y demostraron que los productos elaborados con este tenían mejores características sensoriales (textura, color, aroma) y sanitarias durante la maduración-fermentación, que aquellos lotes a los que no se adicionó el iniciador.

### **1.9.3. *Lactobacillus plantarum***

El género *Lactobacillus* está comprendida por bacterias en forma bacilar de 0,5 – 1,2 x 1,0 – 10,0 µm, comúnmente se asocian en cadenas cortas, son anaerobias facultativas, catalasa y citocromo negativos. Degradan la sacarosa para producir lactato. La temperatura óptima de crecimiento de los lactobacilos está entre 30 – 40 °C. Su hábitat natural es variado pudiéndolos encontrar en el aparato gastrointestinal de mamíferos y aves, incluyen alimentos de origen vegetal y animal (Waldir *et al.*, 2007).

En la fermentación espontánea de embutidos elaborados en el sur de Grecia se encontró que de entre 300 cepas de bacterias lácticas aisladas durante la fermentación y maduración de embutidos, *L. plantarum* es la especie dominante de lactobacilos con un 45.6% en embutidos fermentados. Considerando la importancia de las BAL en la fermentación de productos cárnicos y de las especies *L. plantarum*, comúnmente presentes en la microbiota natural de embutidos fermentados se han empleado cepas de esta especie en la elaboración de embutidos tipo salami-milano para mejorar la calidad y garantizar la seguridad y las propiedades del producto, incluyendo el sabor, color, y para acortar el tiempo de maduración (Sawitzki *et al.* 2008).

## JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

En la presente investigación se exploró una alternativa de conservación de la carne de bovino producida en pastoreo, para lo cual se utilizaron los cuartos delanteros en el desarrollo de productos cárnicos de alto valor agregado tipo salami, se comparó la fuente de carne de bovino producida mediante alimentación con granos y aquella producida en pastoreo. Para evaluar los cambios químicos que sufren las grasas durante la fermentación-maduración de salamis se realizó un seguimiento mediante CG-EM, de aquellos producidos por la microbiota mediante fermentación espontánea y en controlada por la aplicación de inóculos de *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042.

## OBJETIVOS

### Objetivo general

Evaluar por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas, los cambios que sufren los lípidos de embutidos cárnicos madurados con y sin la adición de cultivos iniciadores elaborados a base de carne congelada de cuartos delanteros de bovinos de un rancho experimental en Veracruz y carne de un sistema de producción en Aguascalientes y carne de los cuartos traseros de cerdo.

### Hipótesis de trabajo

“Mediante el uso de inóculos de cultivos iniciadores de *Pediococcus acidilactici* y *Lactobacillus plantarum* en la elaboración de salamis, se tendrán variaciones en  $a_w$  y habrá cambios en los lípidos del producto, dependiendo de la presencia o no del cultivo iniciador y tipo de iniciador empleado”.

### Objetivos particulares:

1. Evaluar el efecto de la adición de cultivos iniciadores de *Pediococcus acidilactici* o *Lactobacillus plantarum* en el comportamiento de la actividad de agua ( $a_w$ ) de los embutidos durante su fermentación-maduración.
2. Evaluar el efecto de la adición de cultivos iniciadores de *Pediococcus acidilactici* o *Lactobacillus plantarum* en los cambios que sufren los lípidos de los embutidos durante su fermentación-maduración.
3. Evaluar el efecto que guarda la adición de *Pediococcus acidilactici* durante la fermentación-maduración de embutidos tipo salami a diferentes condiciones de almacenamiento, formulados a base de carne congelada de los cuartos delanteros de bovinos y de los cuartos traseros de cerdo.

# **CAPÍTULO II. METODOLOGÍA** **EXPERIMENTAL**

**Figura 1. Cuadro Metodológico**

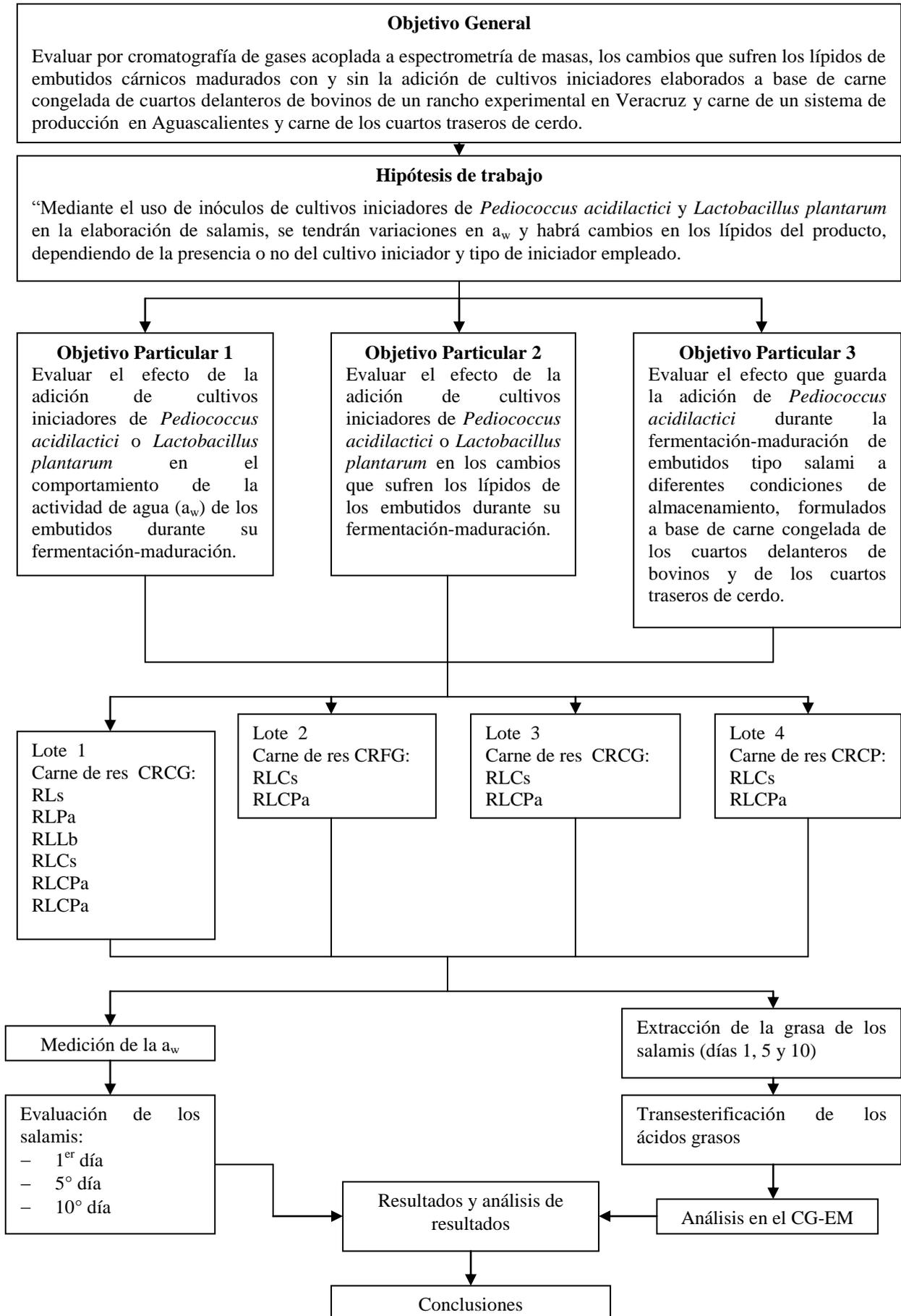
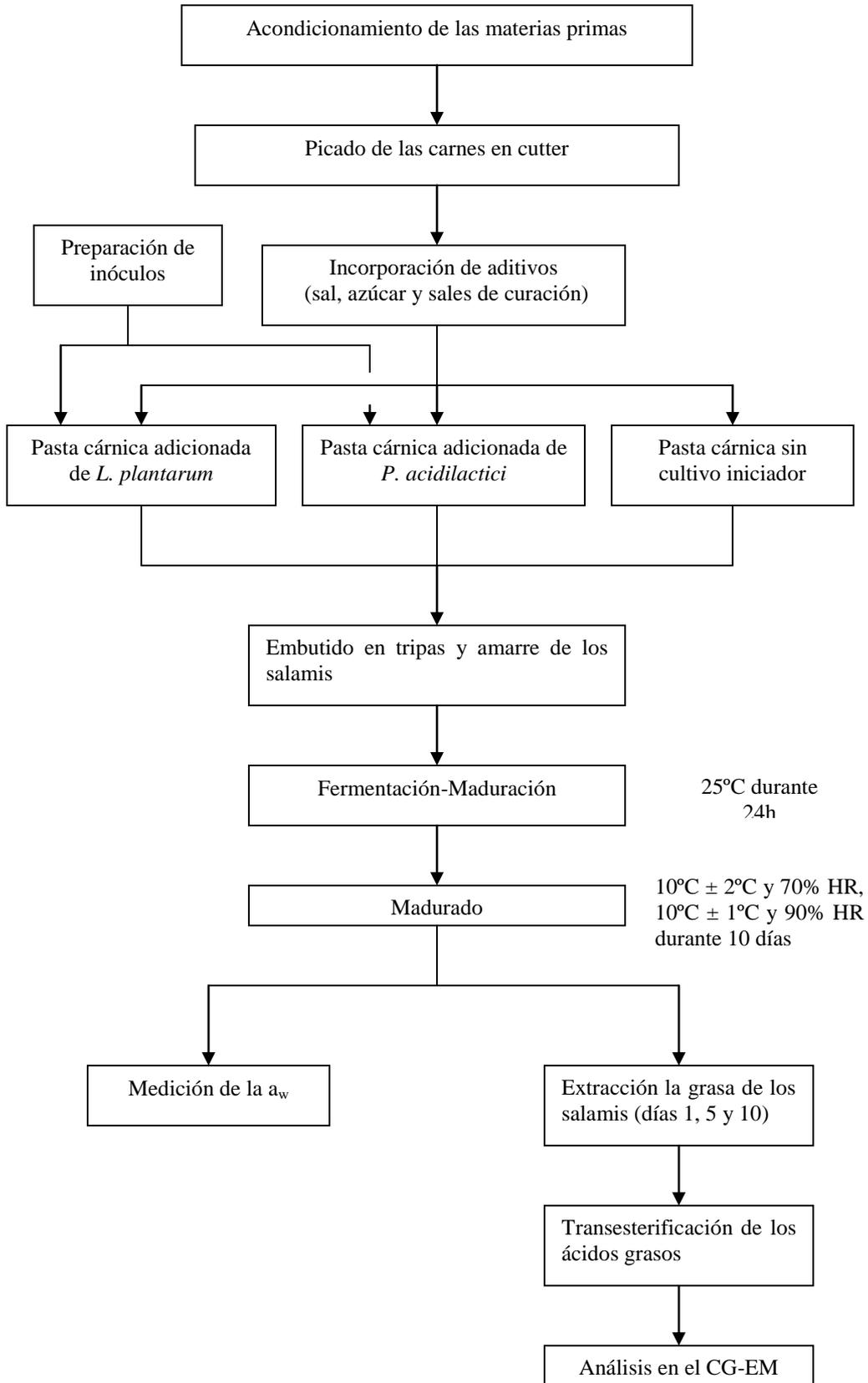


Figura 2. Diagrama del proceso de elaboración de salamis



## 2.1. Preparación del inóculo

Material, reactivos y equipos empleados:

- Cepas ATCC: *Pediococcus acidilactici* y *Lactobacillus plantarum*
- Matraces de cultivo con rosca de 250 y 500 ml
- Tubos cónicos estériles de 50 ml
- Caldo MRS modificado
- Balanza de 2 platos
- Centrífuga Centra CL2 Mod. Thermo IEC
- Encubadora L7abline Mod. 4628CCGM
- Campana de flujo laminar

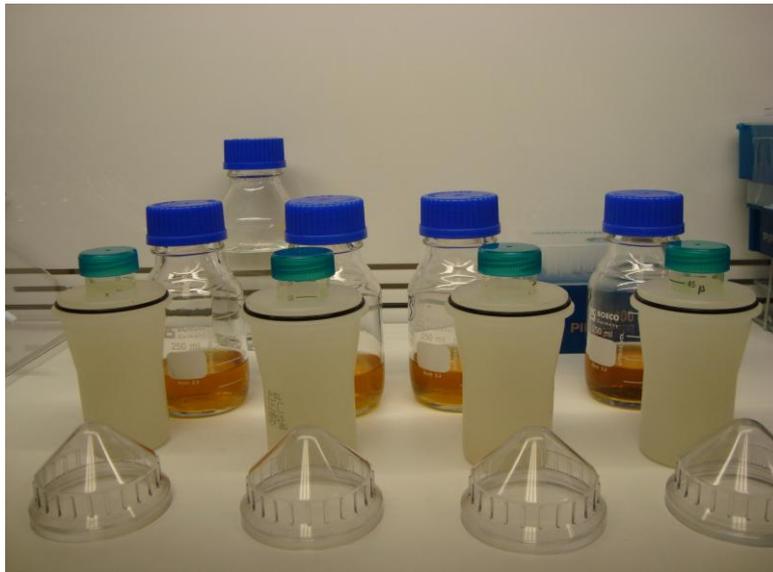
Se preparó el preinóculo a partir de un pellet liofilizado de cada una de las cepas de *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 y *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 y por separado se cultivaron en matraces de 200 ml con 100 ml de caldo MRS modificado. Se incubaron en agitación a 30°C y 60 rpm durante 24 horas (Figura 14). Al término de esta incubación, se inocularon al 2% de nueva cuenta en matraces de cultivo de 500 ml con 200 ml de caldo MRS modificado para cada cepa y se incubaron bajo las mismas condiciones durante 8 horas. Se cosecharon las células por centrifugación a 3,500 rpm durante 30 min en tubos cónicos estériles a 3500 rpm durante 30 minutos (Figuras 15 y 16).



Figura 3. Incubación de los medios de cultivo



Figura 4. Centrifugación de los medios de cultivo



**Figura 5. Separación de los sobrenadantes.**

## **2.2. Elaboración de modelos experimentales (salamis)**

Para la elaboración de los modelos experimentales se empleó carne de res de cortes no convencionales (cuarto delantero de bovino), carne de cerdo (pierna), lardo de cerdo y tripas naturales como materias primas.

La carne de res proveniente de un rancho experimental ubicado en el municipio de Martínez de la Torre en el Estado de Veracruz.

- ✓ Carne de Res Congelada proveniente de bovinos de cruzas europeas, alimentados con granos (CRCG)
- ✓ Carne de Res Congelada proveniente de bovinos de cruzas europeas, alimentados en pastoreo (CRCP)

Carne de res proveniente de un sistema de producción en Aguascalientes.

- ✓ Carne de Res Fresca proveniente de bovinos de cruza europeas, alimentados con granos (CRFG)

Dicha carne fue obtenida a partir de ganado alimentado mediante dos sistemas diferentes: ganado alimentado a base de granos (CRCG) (Figura 17) y ganado alimentado únicamente en pastoreo (CRCP) (Figura 18).



**Figura 6.** Carne de res (CRCG)



**Figura 7.** Carne de res (CRCP)

La carne de cerdo (Figura 19), el lardo (Figura 20) y las tripas (Figura 28) provienen del rastro TIF No 94 (San Lorenzo) ubicado en el Municipio de Cuautitlán Izcalli.



**Figura 8.** Carne de cerdo



**Figura 9.** Lardo

Para la evaluación de las reacciones de oxidación de lípidos se desarrollaron formulaciones a base de las siguientes materias primas:

- Res-Lardo (RL)
- Res-Lardo-Cerdo (RLC)

Se prepararon lotes adicionados o no de cultivos iniciadores:

- Res-Lardo-sin inóculo (RLs)
- Res-Lardo-con *Lactobacillus plantarum* (RL-Lb)
- Res-Lardo-con *Pediococcus acidilactici* (RL-Pa)
- Res-Lardo-Cerdo- sin inóculo (RLCs)
- Res-Lardo-Cerdo con *Lactobacillus plantarum* (RLC-Lb)
- Res-Lardo-Cerdo con *Pediococcus acidilactici* (RLC-Pa)

### 2.2.1. Acondicionamiento de las materias primas

Para la elaboración de los modelos experimentales se procedió al acondicionamiento de las materias primas. La carne de res congelada en bloques de 18-20 kg se encontraba empacada en bolsas de plástico al alto vacío y embalada en cajas de cartón. Fue descongelada y cortada en cubos de aproximadamente 5x5 cm, al igual que la carne de cerdo y el lardo en cubos de 3x3 cm. Los cortes fueron realizados en el Taller de Carnes de la FESC C4 (Figura 21).



Figura 10. Corte de las carnes

Una vez cortados la carne y el lardo se empacaron en bolsas de plástico, fueron pesados, empacados al vacío y colocados en una cámara de congelación (Figura 22).



**Figura 11. Carne empacada al vacío**

Para el desarrollo de los salamis se utilizó “El diseño de la hoja de cálculo para el desarrollo de formulaciones cárnicas” de Guerrero, 2006, la cual se basa en un balance de proteína-grasa, para la obtención de productos funcionales al menor costo, que cumplan con las normas de calidad (Tabla 8).

**Tabla 1. Formulaciones de los salamis**

<b>Res-Lardo</b>	<b>%</b>	<b>Res-Lardo-Cerdo</b>	<b>%</b>
Carne de res	67.0	Carne de res	38.5
Lardo	29.5	Carne de cerdo	38.5
Sal	2.0	Lardo	19.5
Sacarosa	1.0	Sal	2.0
Sal cura	0.5	Sacarosa	1.0
		Sales de curación	0.5
<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>Total</b>	<b>100</b>

El picado de las carnes se realizó en un equipo cutter (Hobart, Mod. 84181D) con capacidad para 15 kg de producto (Figura 23). Primero se incorporó al plato del equipo la carne de res, enseguida la carne de cerdo y por último el lardo (Figura 24), una vez hecha la pasta se incorporaron los aditivos (sal, azúcar y sales de curación) (Figura 25).



**Figura 12. Cutter para el picado de las carnes**



**Figura 13. Incorporación de las carnes**



**Figura 14. Adición de los aditivos**

El mezclado de las carnes y el lardo permitió la formación de una pasta gruesa, con diámetro de partícula de aproximadamente 3mm (Figura 26), en el caso de los embutidos inoculados, enseguida se adicionaron 10 ml de cultivo iniciador en fase logarítmica (*Pediococcus acidilactici* o *Lactobacillus plantarum*  $1 \times 10^9$  UFC/ml); y se mezclaron homogéneamente con la pasta cárnica (Figura 27).



**Figura 15. Pasta cárnica**



**Figura 16. Adición del cultivo iniciador**

Las tripas naturales (Figura 28) previamente lavadas con agua para retirar el exceso de sal y verificar que no tuvieran alguna rasgadura, fueron tratadas con una solución de ácido láctico al 5% esto con la finalidad de eliminar la carga bacteriana de la tripa, además adquiere mejores características para su manejo durante el embutido y en el proceso de maduración, evitando así defectos en el producto.



**Figura 17. Tripas para embutir**

Con ayuda de una embutidora marca: Hollymatic, Mod. M900-0207 (Figura 29), y una vez obtenida la pasta cárnica se realizó el embutido en las tripas (Figura 30) y finalmente el amarre de los salamis (Figura 31).



**Figura 18. Embutidora Hollymatic**



**Figura 19. Embutido de la pasta en las tripas**



**Figura 20. Amarre de los salamis**

Una vez elaborados, los salamis fueron colgados a temperatura ambiente (25°C) durante 24 horas (Figura 32) y posteriormente se mantuvieron a diferentes condiciones de almacenamiento.



**Figura 21. Colgado de los salamis durante 24 h a temperatura ambiente (25°C)**

El empleo de BAL en salamis tiene como finalidad el desarrollo de ciertas características sensoriales. En este trabajo, se elaboraron diferentes lotes de embutidos, éstos fueron colgados a temperatura ambiente (25°C) durante 24 horas. Se almacenaron bajo diferentes condiciones de Temperatura-Humedad Relativa durante el proceso de fermentación-

maduración, para el caso del **lote 1**, se utilizó refrigeración comercial (Enfriador vertical Nieto Mod. REB804)  $10^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  a una HR de 70% (Bello y Durán, 1992) (Figura 33), para el **lote 2**, tanto refrigeración comercial, como cámara climática (Binder Mod. KBF240)  $10^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  y una HR de 90%, en el caso de los salamis del **lote 3** se utilizó cámara climática a  $10^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  y una HR de 90% y por último el **lote 4** también en cámara climática a  $10^{\circ}\text{C} \pm 1$  pero a una HR de 70% (Figura 34).

### **Lotes elaborados:**

#### **Lote 1**

##### **Carne de res CRCG**

RLs  
RLPa  
RLLb  
RLCs  
RLCPa  
RLCPa



Salamis ( $10^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  y 70% de HR) (refrigerador comercial)

#### **Lote 2**

##### **Carne de res CRFG**

RLCs  
RLCPa



Salamis a condiciones  $10^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$  y 70% HR (refrigerador) y  $10^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  y 90% HR (cámara climática)

#### **Lote 3**

##### **Carne de res CRCG**

RLCs  
RLCPa



Salamis a condiciones  $10^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  y 90% HR (cámara climática)

#### **Lote 4**

##### **Carne de res CRCP**

RLCs  
RLCPa



Salamis a condiciones  $10^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  y 70% HR (cámara climática)



Figura 22. Salamis en refrigerador comercial



Figura 23. Salamis en cámara climática

Los salamis fueron almacenados bajo las condiciones antes mencionadas durante 10 días. Y en ese lapso se realizaron diferentes análisis en los días 1, 5 y 10.

### 2.3. Análisis realizados

#### 2.3.1. Medición de la actividad de agua ( $a_w$ )

La  $a_w$  se realizó empleando un instrumento de mesa de la marca: Decagon Devices, Inc. Modelo Aqua Lab (Figura 35) con un rango de 0 a 1 0.999.

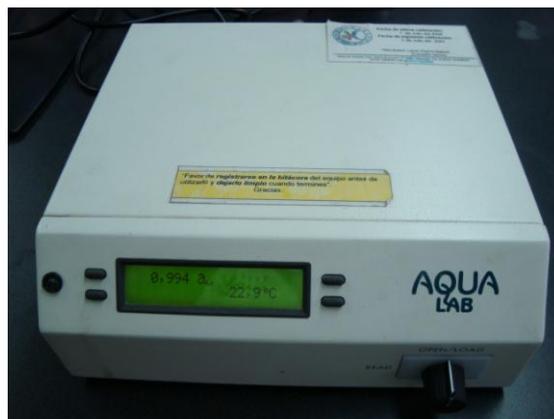


Figura 24. Aparato de medición  $P_{a_w}$  kit

### **2.3.1.1. Procedimiento**

Se colocaron 10g de muestra de salami contenidos en una copa de plástico, la cual fue puesta en la cámara de medición del aparato que se encuentra debajo del mismo. Enseguida se presionó el botón I para iniciar la medición, y después de aproximadamente 5 minutos aparece el valor de la  $a_w$  en el display del aparato.

Cada uno de los salamis fue analizado los días 1, 5 y 10 de fermentación-maduración y así lograr apreciar los cambios de  $a_w$  durante esta etapa.

### **2.3.2. Caracterización de lípidos mediante CG-EM**

Para el seguimiento de las reacciones de oxidación de los lípidos de los salamis elaborados bajo diferentes formulaciones, con y sin adición de cultivos iniciadores y condiciones de almacenamiento se realizaron las siguientes actividades:

- Extracción de grasas
- Transesterificación de las grasas
- Análisis por CG-EM

#### **2.3.2.1. Extracción de las grasas (Método de Soxhlet)**

Para la extracción de las grasas de los salamis se empleó un sistema de extracción con equipo soxhlet (matraces bola, parrillas eléctricas, refrigerantes, bombas para agua y soportes universal) (Figura 36). Se requirieron de 15 a 20 g de muestra de salami, la cual fue colocada en cartuchos para extracción. La muestra se puso a reflujo durante 5 horas con 200 ml de *n*-hexano como disolvente orgánico. La mezcla resultante (*n*-hexano-grasa) fue separada con ayuda de un rotavapor (Figura 37) (AOAC, 2000). La grasa obtenida fue almacenada en viales en refrigeración para su posterior tratamiento.



Figura 25. Sistema de extracción de la grasa de los salamis



Figura 26. Separación de la mezcla (*n*-hexano-grasa) en rotavapor

### 2.3.2.2. Transesterificación de los ácidos grasos

El proceso de transesterificación se emplea para modificar los lípidos y así lograr propiedades físicas, químicas y de estabilidad deseadas en las grasas y aceites en la industria alimentaria (Badui, 1999).

Durante la transesterificación los ácidos grasos se separan de la molécula de glicerol y el metanol (MeOH) se une a ellos formando ésteres metílicos (Biodisol.com).

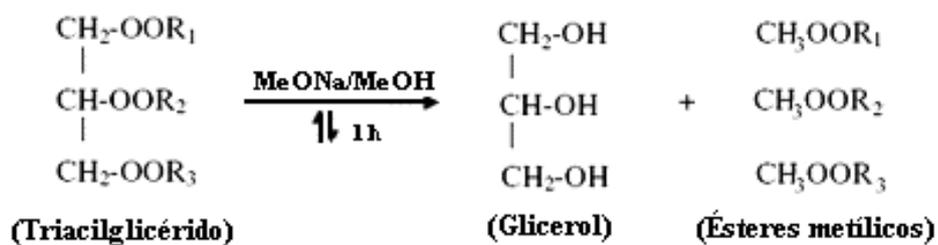


Figura 27. Reacción de transesterificación

La transesterificación se llevó a cabo durante una hora usando mantillas eléctricas, aparatos de reflujo y matraces bola de 50ml (Figura 39). Calentando la grasa a una temperatura de 55°C empleando 16ml de metóxido de sodio en metanol (MeONa 0.2N/MeOH) como catalizador (Badui, 1999; Doniz, 1994).



**Figura 28. Transesterificación**

Después de la reacción, se midió el pH inicial de la mezcla (Figura 40) y posteriormente se acidificó con  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2N hasta llegar a un pH de 3 (Figura 41), luego se añadió un volumen doble de solución saturada de NaCl.



**Figura 29. Ésteres a pH inicial**



**Figura 30. Ésteres a pH final**

Los ésteres metílicos obtenidos (Figura 42) se extraen usando 3 volúmenes de 10 ml de acetato de etilo (AcOEt) en un embudo de separación, hasta obtener la fase orgánica (Figura 43), ésta se decanta con sulfato de sodio anhidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ) y posteriormente, mediante una destilación a presión reducida en rotavapor, se recupera el disolvente (Doniz, 1994).



Figura 31 . Separación de la fase orgánica



Figura 32. Obtención de los ésteres de ácidos grasos

Los ésteres metílicos de los ácidos grasos obtenidos fueron guardados en viales a  $10^\circ\text{C}$  hasta su posterior análisis en el CG-EM.

### 2.3.2.3. Identificación y cuantificación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos mediante Cromatografía de gases acoplada a Espectrometría de masas (CG-EM)

Una vez obtenidos los ésteres metílicos de los ácidos grasos, cada muestra previamente disuelta en *n*-hexano (Figura 44) fue inyectada ( $1\ \mu\text{l}$ ) en la columna del CG-EM (Figura 45).



Figura 33. Dilución de los ésteres en *n*-hexano



Figura 34. Inyección en la columna del CG-EM

La separación e identificación de los diferentes ésteres metílicos se realizó en un equipo Cromatógrafo de gases acoplado a Espectrómetro de masas (CG-EM) de la marca Saturn Varian modelo 3400CX que cuenta con una columna de separación Saturn IV DB-5 de 30m de longitud y 0.25mm de diámetro interno (Figura 46). Este equipo cuenta con un Software el cual registra en su base de datos los cromatogramas de cada muestra analizada y los espectros de masas que resulten de cada componente.



**Figura 35. CG-EM**

Las condiciones de operación del equipo fueron:

- Temperatura de la columna (T1): 150°C
- Tiempo 1: 2 min
- Temperatura del inyector: 250°C
- Velocidad 10°C/min
- Temperatura de la columna (T2): 250°C
- Tiempo 2: 5 min
- Fase móvil: Helio
- Flujo del gas: 2 ml/min
- Tiempo total : 41.66 min

Vía la separación de los componentes de cada muestra en el CG-EM, se obtiene el cromatograma en el cual se visualizan los picos que representan a cada compuesto separado. La información proporcionada se limita únicamente al tiempo de retención en el cual fue separado cada compuesto. El equipo cuenta con una librería mediante la cual se hace la comparación de los picos cromatográficos obtenidos.

Cada uno de los compuestos identificados está representado en los cromatogramas correspondientes proporcionándonos el tiempo de retención.

Cuando se obtuvieron todos los cromatogramas de cada muestra y los espectros de masas de cada compuesto, además de su cuantificación, se calcularon los porcentajes de cada ácido graso para dar seguimiento a los cambios sufridos por los lípidos de los salamis durante el proceso de fermentación-maduración.

### 2.3.3. Análisis Estadístico

Se realizaron cuatro experimentos. En los experimentos 1, 2 y 4 se utilizó un diseño factorial  $2^2 \times 3$  completamente aleatorio sin réplica, el análisis de varianza se hizo suponiendo que la interacción de los tres factores es no significativa. El experimento 3 tuvo un diseño factorial  $2^3 \times 3$  completamente aleatorio, sin réplica, para hacer el análisis de varianza se supuso que la interacción de los cuatro factores es no significativa.

En las tablas 9-12 se muestran para cada experimento los factores y sus respectivos niveles.

El análisis estadístico de los resultados fue realizado usando el paquete estadístico *Statistica* versión 9 Statsoft™

**Tabla 2. Experimento 1. Diseño Factorial  $2^2 \times 3$**

Formulación	Inóculo	Tiempo	14:0	16:0	18:5	18:0	Aw
RL	Sin inóculo	Día 1	1.29	16.98	51.95	9.15	0.975
RL	<i>L. plantarum</i>	Día 1	0	8.7	22.92	6.08	0.975
RL	<i>P. acidilactici</i>	Día 1	0.77	11.27	41.57	8.64	0.975
RL	Sin inóculo	Día 5	1.1	21.02	58.63	7.05	0.958
RL	<i>L. plantarum</i>	Día 5	1.33	16.09	61.15	0	0.945
RL	<i>P. acidilactici</i>	Día 5	1.12	17.6	64.15	11.6	0.954
RL	Sin inóculo	Día 10	1.53	19.2	55.72	13.43	0.939
RL	<i>L. plantarum</i>	Día 10	1.43	20.77	55.19	13.64	0.921
RL	<i>P. acidilactici</i>	Día 10	1.69	18.27	52.62	0	0.925
RLC	Sin inóculo	Día 1	0	3.6	28.6	2.43	0.973
RLC	<i>L. plantarum</i>	Día 1	0	7.84	60.81	1.46	0.973
RLC	<i>P. acidilactici</i>	Día 1	2.15	17.39	38.75	5.17	0.973
RLC	Sin inóculo	Día 5	1.26	15.39	69.4	2.89	0.948
RLC	<i>L. plantarum</i>	Día 5	0.25	18.71	63.8	10.12	0.955
RLC	<i>P. acidilactici</i>	Día 5	0	3.48	52.88	0	0.948
RLC	Sin inóculo	Día 10	1.34	17.21	60.62	0	0.942
RLC	<i>L. plantarum</i>	Día 10	1.45	17.56	54.57	0	0.937
RLC	<i>P. acidilactici</i>	Día 10	1.33	21.26	61.16	0	0.937

**Tabla 3. Experimento 2. Diseño Factorial 2<sup>2</sup>\*3**

Carne	Inóculo	Tiempo	14:0	16:0	18:5	18:0	Aw
CRCG	Sin inóculo	Día 1	0	3.6	28.6	2.43	0.973
CRCG	<i>P. acidilactici</i>	Día 1	2.15	17.39	38.75	5.17	0.973
CRCG	Sin inóculo	Día 5	1.26	15.39	69.4	2.89	0.948
CRCG	<i>P. acidilactici</i>	Día 5	0	3.48	52.88	0	0.948
CRCG	Sin inóculo	Día 10	1.34	17.21	60.62	0	0.942
CRCG	<i>P. acidilactici</i>	Día 10	1.33	21.26	61.16	0	0.937
CRFG	Sin inóculo	Día 1	1.2	22.5	61.73	8.89	0.88
CRFG	<i>P. acidilactici</i>	Día 1	1.17	19.77	63.76	0	0.88
CRFG	Sin inóculo	Día 5	1.51	20.14	63.1	0	0.87
CRFG	<i>P. acidilactici</i>	Día 5	1.4	23	62.88	9.33	0.86
CRFG	Sin inóculo	Día 10	1.3	21.48	60.65	8.71	0.87
CRFG	<i>P. acidilactici</i>	Día 10	1.47	25.29	59.17	0	0.86

**Tabla 4. Experimento 3. Diseño Factorial 2<sup>3</sup>\*3**

Carne	Inóculo	Tiempo	Almacenamiento	14:0	16:0	18:5	18:0	Aw
CRCG	Sin inóculo	Día 1	Refrigerador	0	3.6	28.6	2.43	0.973
CRCG	<i>P. acidilactici</i>	Día 1	Refrigerador	2.15	17.39	38.75	5.17	0.973
CRCG	Sin inóculo	Día 5	Refrigerador	1.26	15.39	69.4	2.89	0.948
CRCG	<i>P. acidilactici</i>	Día 5	Refrigerador	0	3.48	52.88	0	0.948
CRCG	Sin inóculo	Día 10	Refrigerador	1.34	17.21	60.62	0	0.942
CRCG	<i>P. acidilactici</i>	Día 10	Refrigerador	1.33	21.26	61.16	0	0.937
CRFG	Sin inóculo	Día 1	Refrigerador	1.2	22.5	61.73	8.89	0.88
CRFG	<i>P. acidilactici</i>	Día 1	Refrigerador	1.17	19.77	63.76	0	0.88
CRFG	Sin inóculo	Día 5	Refrigerador	1.51	20.14	63.1	0	0.87
CRFG	<i>P. acidilactici</i>	Día 5	Refrigerador	1.4	23	62.88	9.33	0.86
CRFG	Sin inóculo	Día 10	Refrigerador	1.3	21.48	60.65	8.71	0.87
CRFG	<i>P. acidilactici</i>	Día 10	Refrigerador	1.47	25.29	59.17	0	0.86
CRCG	Sin inóculo	Día 1	Cámara climática	1.31	19.08	51.33	9.29	0.88
CRCG	<i>P. acidilactici</i>	Día 1	Cámara climática	1.39	18.3	61.81	9.12	0.88
CRCG	Sin inóculo	Día 5	Cámara climática	1.34	23.05	64.1	0	0.86
CRCG	<i>P. acidilactici</i>	Día 5	Cámara climática	1.27	21.92	65.48	0	0.87
CRCG	Sin inóculo	Día 10	Cámara climática	1.23	24.95	60.88	0	0.86
CRCG	<i>P. acidilactici</i>	Día 10	Cámara climática	1.32	21.68	63.81	0	0.86
CRFG	Sin inóculo	Día 1	Cámara climática	1.2	22.5	61.73	8.89	0.88
CRFG	<i>P. acidilactici</i>	Día 1	Cámara climática	1.17	19.77	63.76	0	0.88
CRFG	Sin inóculo	Día 5	Cámara climática	1.46	24.19	61.07	0	0.86
CRFG	<i>P. acidilactici</i>	Día 5	Cámara climática	2.38	25.5	46.29	0	0.86
CRFG	Sin inóculo	Día 10	Cámara climática	1.39	23.25	60.21	0	0.86
CRFG	<i>P. acidilactici</i>	Día 10	Cámara climática	1.57	18.9	62.98	0	0.86

**Tabla 5. Experimento 4. Diseño Factorial 2<sup>2</sup>\*3**

Carne	Inóculo	Tiempo	14:0	16:0	18:5	18:0	Aw
CRCG	Sin inóculo	Día 1	1.31	19.08	51.33	9.29	0.88
CRCG	<i>P. acidilactici</i>	Día 1	1.39	18.3	61.81	9.12	0.88
CRCG	Sin inóculo	Día 5	1.34	23.05	64.1	0	0.86
CRCG	<i>P. acidilactici</i>	Día 5	1.27	21.92	65.48	0	0.87
CRCG	Sin inóculo	Día 10	1.23	24.95	60.88	0	0.86
CRCG	<i>P. acidilactici</i>	Día 10	1.32	21.68	63.81	0	0.86
CRCP	Sin inóculo	Día 1	1.02	13.9	65.26	8.99	0.96
CRCP	<i>P. acidilactici</i>	Día 1	1.11	14.94	65.77	8.46	0.962
CRCP	Sin inóculo	Día 5	1.14	27.58	59.6	8.85	0.942
CRCP	<i>P. acidilactici</i>	Día 5	1.13	14.17	76.68	0	0.93
CRCP	Sin inóculo	Día 10	1.14	24.17	61.46	1.23	0.942
CRCP	<i>P. acidilactici</i>	Día 10	0.51	65.12	29.66	4.34	0.916

# **CAPÍTULO 3. RESULTADOS Y** **DISCUSIÓN**

### 3.1. Actividad de agua ( $a_w$ )

Castellano *et. al* (2008) mencionan que factores intrínsecos y extrínsecos que regulan el crecimiento microbiano determinarán el tipo y el número de bacterias presentes en la carne. Los factores intrínsecos son principalmente químicos (concentración y disponibilidad de nutrientes, pH, potencial redox,  $a_w$ , estructura de la carne), mientras que los extrínsecos involucran condiciones de almacenamiento y transformaciones de materias primas. Este último, cuyos principales parámetros son la temperatura y la disponibilidad de oxígeno, a menudo son manipulados para extender la vida útil de los productos cárnicos.

Las características que se desarrollan en carne y productos cárnicos son el resultado de los factores mencionados.

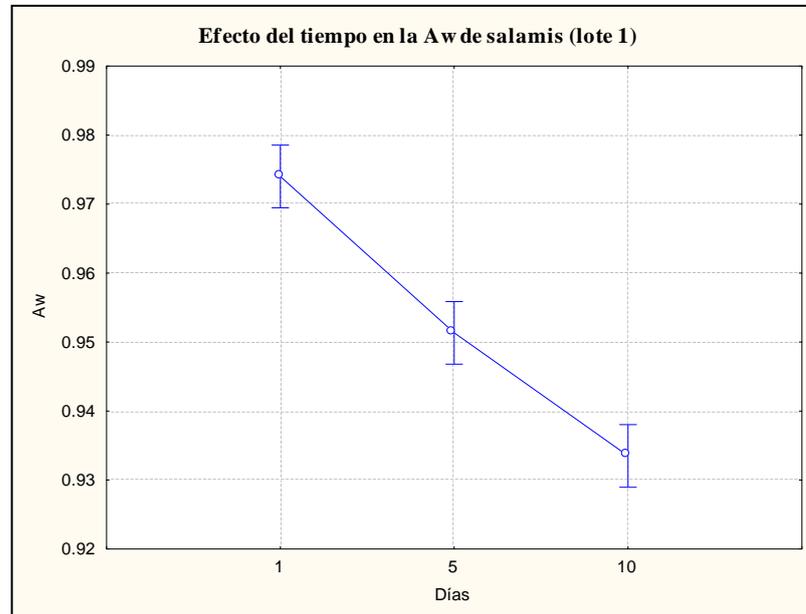
Los salamis se caracterizan por su bajo valor de humedad y de  $a_w$ , este último es uno de los factores más relevantes para la multiplicación microbiana y consecuentemente la estabilidad del producto. Muchas reacciones químicas y enzimáticas se favorecen con  $a_w$  elevada (Dalla, 2008).

A pesar de que los salamis llegan a presentar valores de  $a_w$  por debajo de 0.8 estos desarrollan características sensoriales como **olor, color, textura y sabor** durante la etapa de maduración debido a diversas reacciones químicas y enzimáticas. La deshidratación que ocurre durante la maduración de los salamis ocasiona la reducción de humedad y consecuentemente de  $a_w$ , además de un aumento del contenido de proteínas y lípidos (Dalla, 2008).

El aroma característico principalmente determinado por la **oxidación de los lípidos**, es favorecida por la **lipólisis** donde se da la liberación de ácidos grasos por la acción de las lipasas, las cuales pueden ser endógenas (propias de los tejidos animales) y/o exógenas (generadas por microorganismos lipolíticos) (Fennema, 1993; Badui, 1999; Prandl, 1994), además de reacciones **oxidativas**, donde compuestos tales como aldehídos, ácidos carboxílicos e hidrocarburos son producidos a partir de hidroperóxidos. Las altas temperaturas aceleran la velocidad de estas reacciones especialmente por encima de 60°C (Badui, 1999).

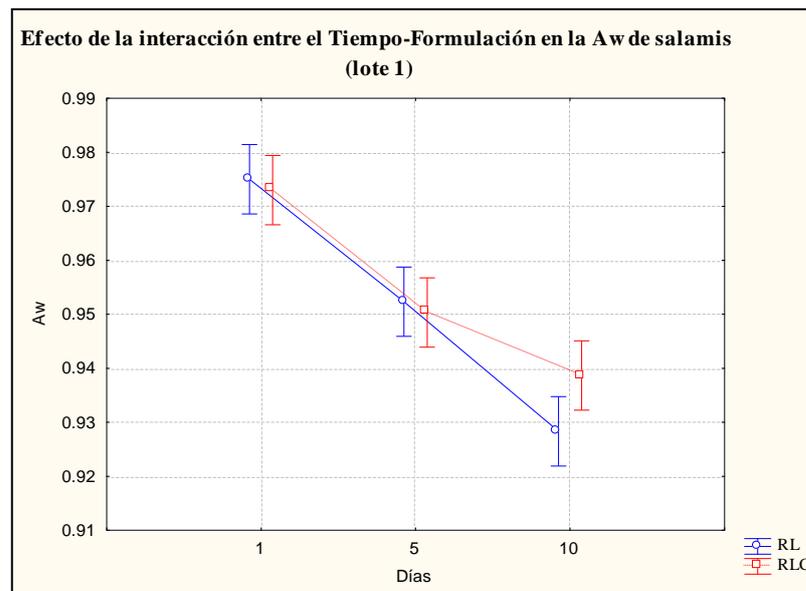
Los resultados de  $a_w$  correspondientes al lote 1(**CRCG**) se presentan en la tabla 35 (anexo A), en ella se muestran los valores de  $a_w$  de cada una de las muestras de salami.

Para este lote se encontró que el tiempo tiene un efecto altamente significativo  $P=0.000164$  (tabla 13) en los cambios en  $a_w$  de los salamis, a pesar de que son dos formulaciones distintas la tendencia es similar. La figura 47 muestra el efecto que tuvo el tiempo en los cambios en  $a_w$ .



**Figura 1. Efecto del tiempo en los cambios en  $a_w$  de salamis (lote 1) RL y RLC sin inóculo, y adicionados de *L. plantarum* o *P. acidilactici***

Como se muestra en la figura 48 la interacción entre el Tiempo-Formulación mostró cierta tendencia de efecto en los cambios en  $a_w$  en los salamis del lote 1, sin embargo no se considera efecto significativo.



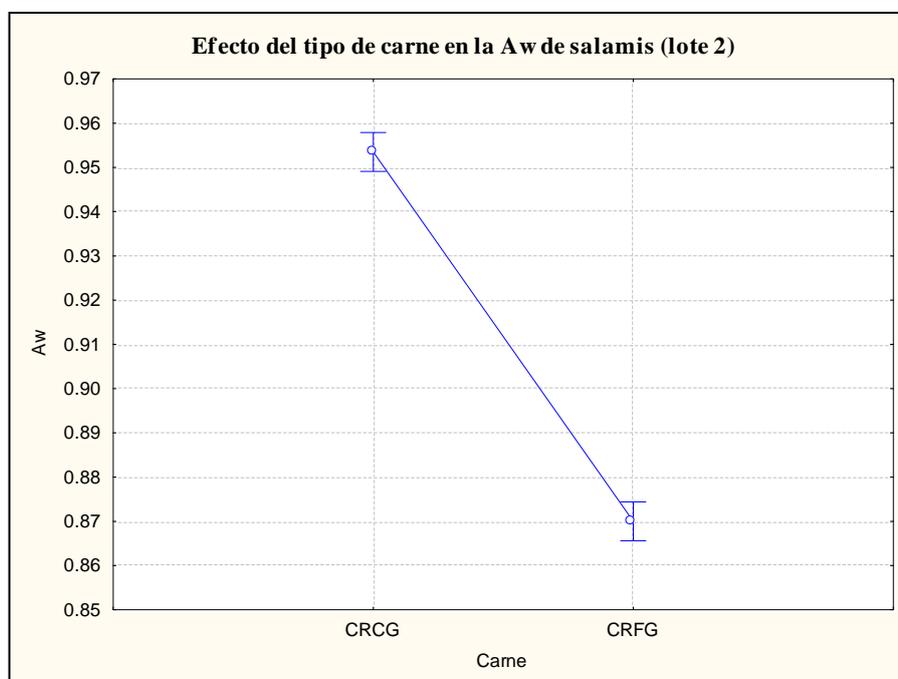
**Figura 2. Efecto de la interacción entre el Tiempo-Formulación en los cambios en  $a_w$  de salamis (lote 1) RL y RLC sin inóculo, y adicionados de *L. plantarum* o *P. acidilactici***

Cabe señalar que para este lote 1 la no adición de inóculo y el tipo de inóculo no influyeron en los cambios en  $a_w$ .

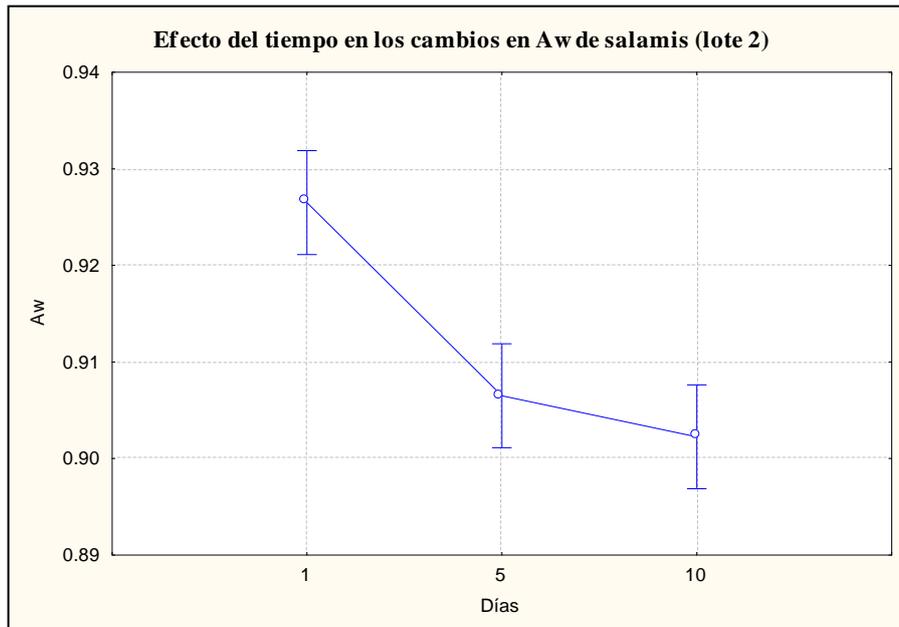
**Tabla 1. Prueba de significancia para la  $a_w$  del Experimento 1**

Efecto	Suma de cuadrados (SC)	Grados de libertad (GL)	Cuadrado medio (CM)	Prueba estadística (F)	Valor p
Formulación	0.00002	1	0.00002	1	0.326311
Inóculo	0.00008	2	0.00004	2	0.203590
Días	0.00494	2	0.00247	154	0.000164
Formulación*Inóculo	0.00009	2	0.00005	3	0.168759
Inóculo*Días	0.00008	4	0.00002	1	0.408279
Formulación*Días	0.00015	2	0.00008	5	0.088130
Error	0.00006	4	0.00002		

Para el caso del lote 2 se encontró que tanto el Tipo de carne y el Tiempo fueron efectos significativos  $P= 0.000299$  y  $P= 0.009232$  respectivamente (tabla 14) en los cambios en  $a_w$ . Como se mencionó en la metodología, se hizo una comparación entre los tipos de carne empleadas para la elaboración de los salamis CRFG (lote 2) CRCG (lote1) y ver si existía algún efecto, las figuras 49 y 50 muestran los efectos tanto del tipo de carne y el tiempo. En la tabla 36 (anexo A) se presentan los valores de  $a_w$  para el lote 2.

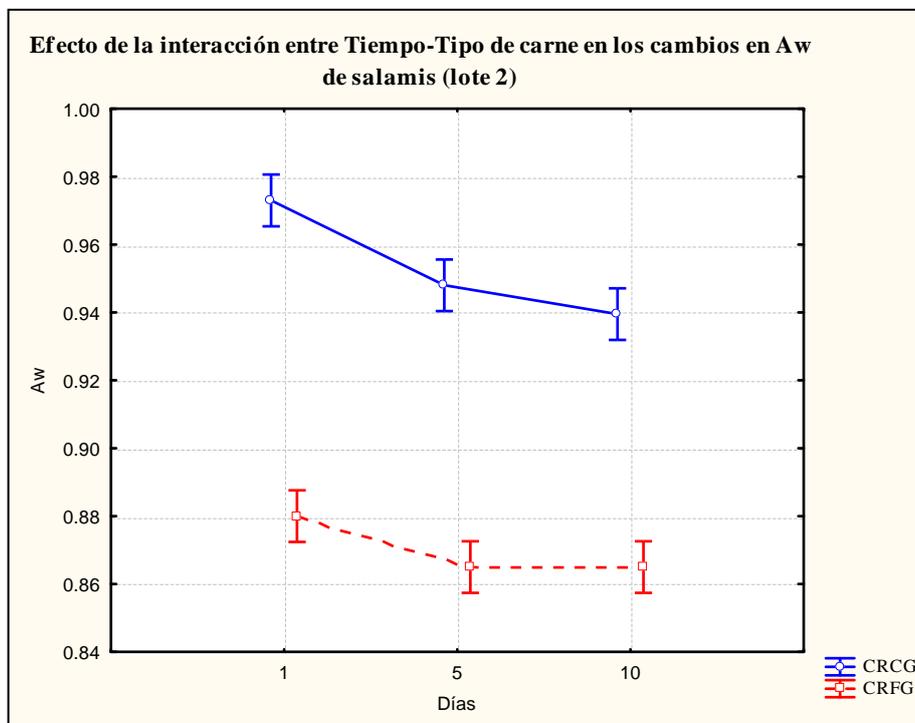


**Figura 3. Efecto del Tipo de Carne en los cambios en  $a_w$  de salamis CRFG (lote 2) comparando con CRCG (lote1) adicionados o no de *P. acidilactici***



**Figura 4. Efecto del Tiempo en los cambios en  $a_w$  de salamis CRFG (lote 2) comparando con CRCG (lote1) adicionados o no de *P. acidilactici***

La figura 51 muestra la interacción entre el Tiempo y el Tipo de Carne en donde se aprecian los cambios en  $a_w$ , sin embargo tal interacción de dichos factores no se considera significativa.



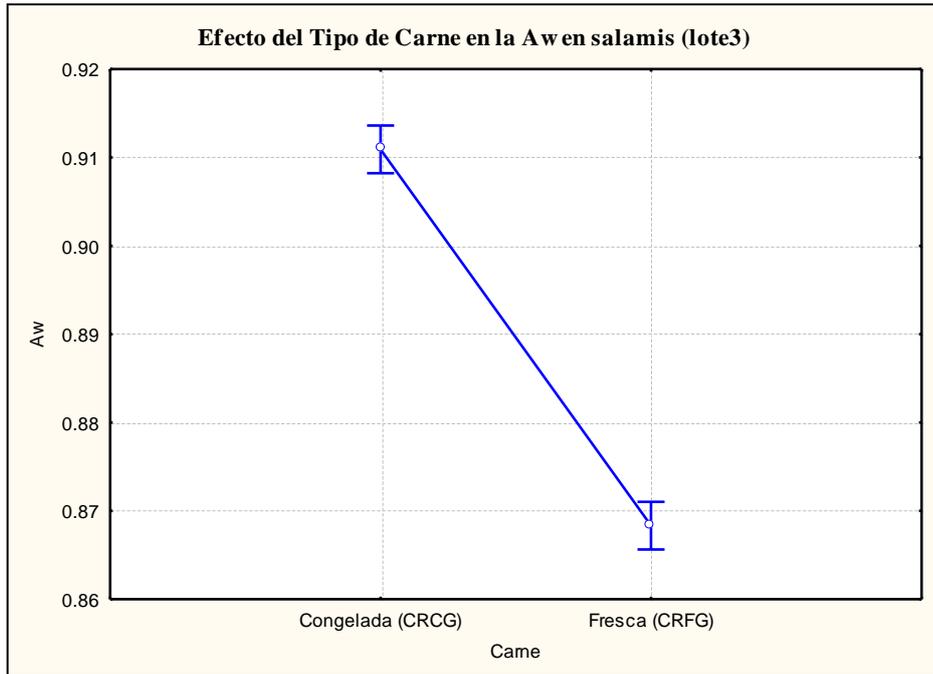
**Figura 5. Efecto de la interacción entre el Tiempo-Tipo de carne en los cambios en  $a_w$  de salamis CRFG (lote 2) comparando con CRCG (lote1) adicionados o no de *P. acidilactici***

**Tabla 2. Prueba de significancia para la  $a_w$  del Experimento 2**

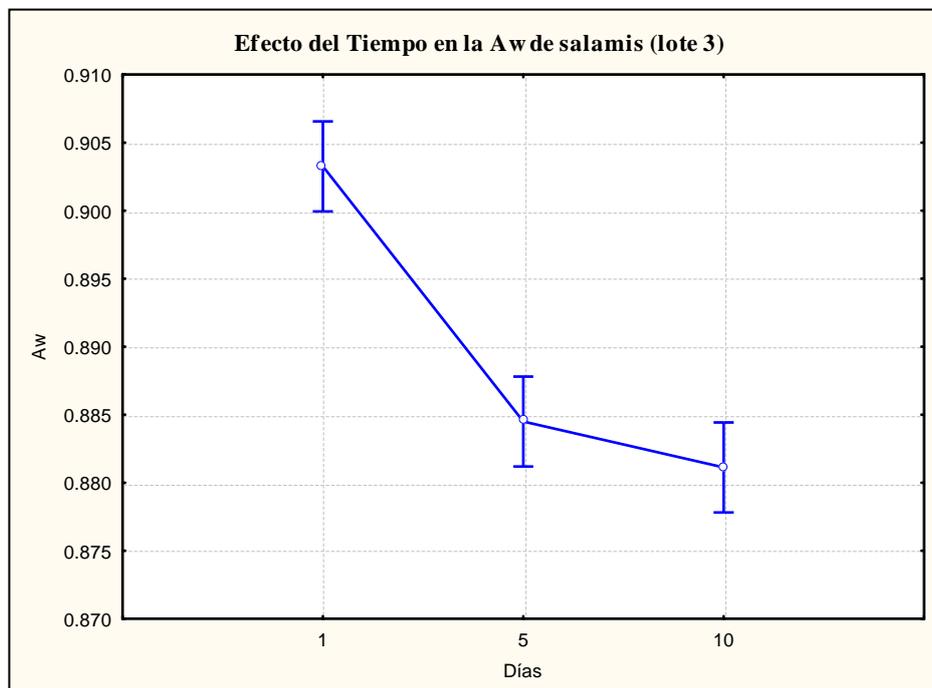
<b>Efecto</b>	<b>Suma de cuadrados (SC)</b>	<b>Grados de libertad (GL)</b>	<b>Cuadrado medio (CM)</b>	<b>Prueba estadística (F)</b>	<b>Valor p</b>
Carne	0.020917	1	0.020917	3347	0.000299
Inóculo	0.000052	1	0.000052	8	0.101973
Días	0.001342	2	0.000671	107	0.009232
Carne*Inóculo	0.000019	1	0.000019	3	0.225403
Inóculo*Días	0.000029	2	0.000015	2	0.300000
Carne*Días	0.000172	2	0.000086	14	0.067935
<i>Error</i>	<i>0.000012</i>	<i>2</i>	<i>0.000006</i>		

Los valores de  $a_w$  para el 3er lote elaborado (**CRCG**) se presentan en la tabla 37 (Anexo A). Para el caso de este lote se analizaron los datos tomando en cuenta el Tipo de carne, el Tiempo, el Tipo de almacenamiento y la adición o no de inóculo de los lotes 2 y 3 y así poder hacer la comparación como se indicó en la metodología; el Tipo de Carne presenta un valor  $P= 0.000000$ , el Tiempo (días)  $P= 0.000004$  y el tipo de almacenamiento  $P= 0.000000$  efectos altamente significativos en los cambios en  $a_w$ , incluso la interacción entre el Tipo de carne y el Tipo de almacenamiento mostraron efecto significativo  $P= 0.000000$  (tabla 15).

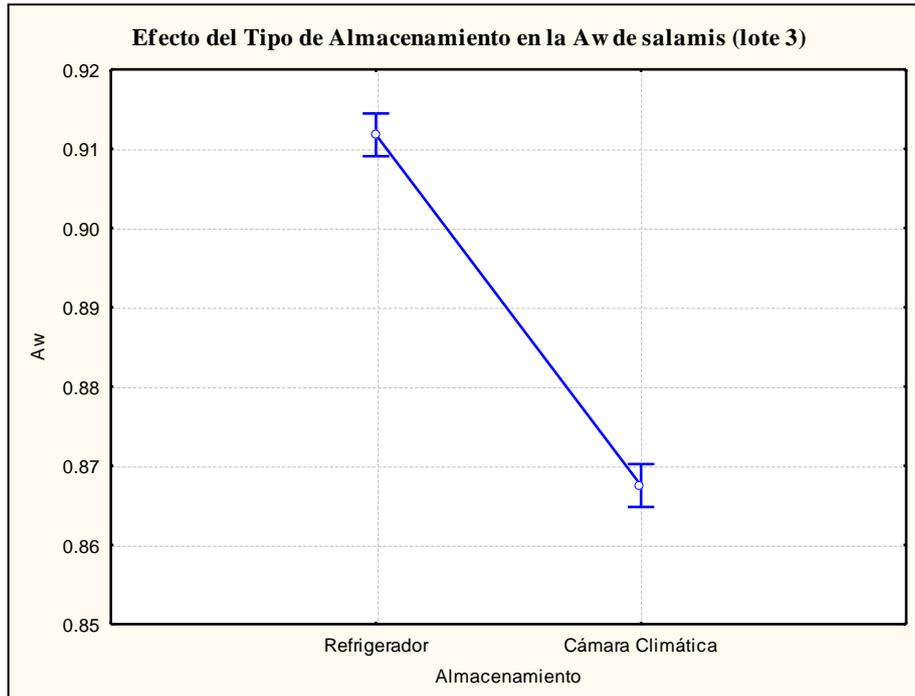
La figura 52 muestra el efecto significativo del Tipo de Carne en los cambios en  $a_w$ , en la figura 53 se aprecia el efecto del Tiempo, para el caso de Tipo de almacenamiento se presenta la figura 54 y el efecto de la interacción entre el Tipo de Almacenamiento y Tipo de carne se muestra en la figura 55.



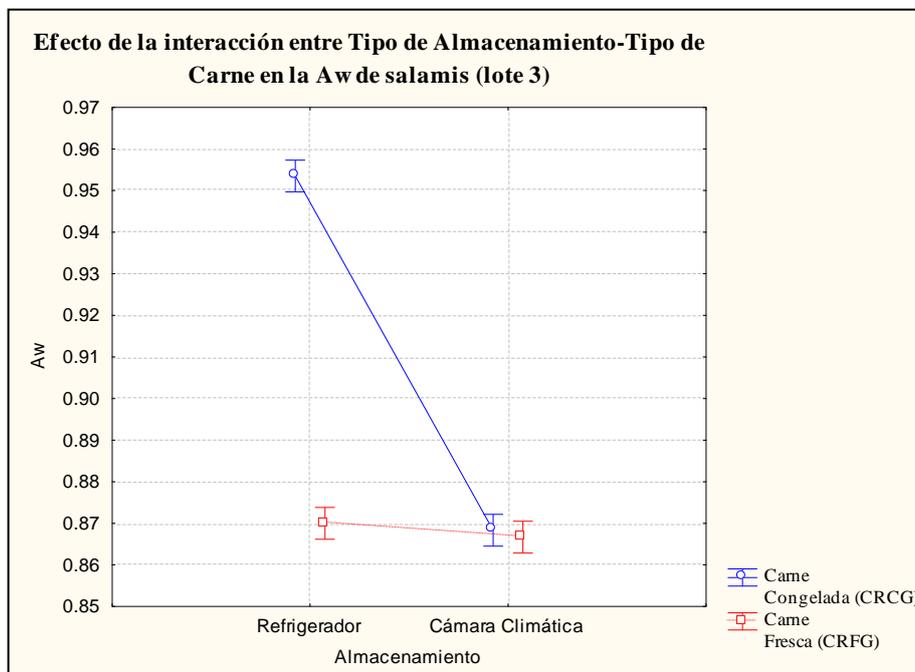
**Figura 6. Efecto del Tipo de Carne en los cambios en  $a_w$  de salamis (lote 3) adicionados o no de *P. acidilactici***



**Figura 7. Efecto del Tiempo en los cambios en  $a_w$  de salamis (lote 3) adicionados o no de *P. acidilactici***



**Figura 8. Efecto del Tipo de Almacenamiento en los cambios en  $a_w$  de salamis (lote 3) adicionados o no de *P. acidilactici***



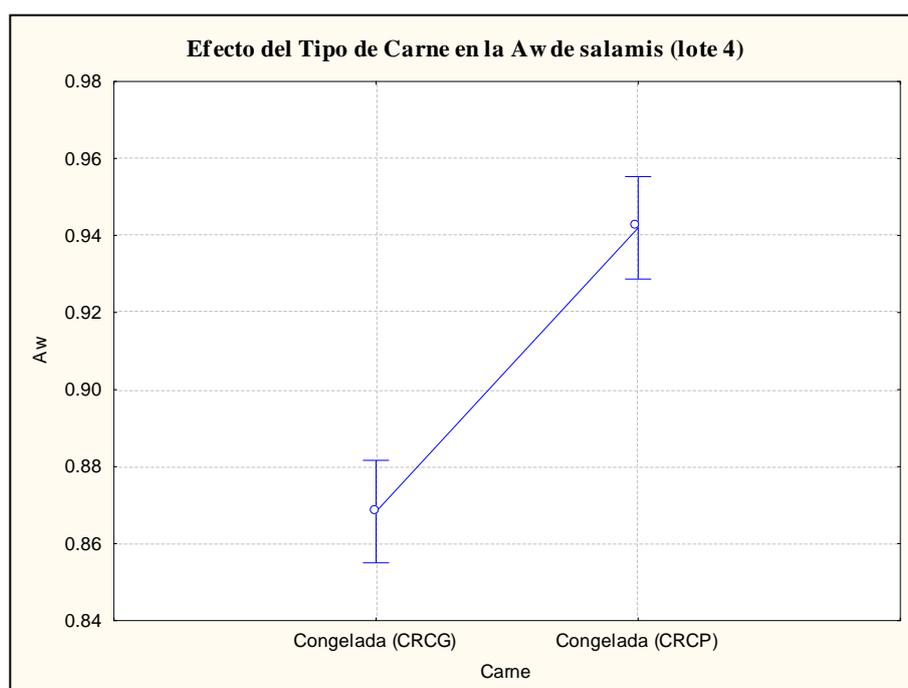
**Figura 9. Efecto de la interacción entre el Tipo de Almacenamiento y el Tipo de carne en los cambios en  $a_w$  de salamis (lote 3) adicionados o no de *P. acidilactici***

**Tabla 3. Prueba de significancia para la  $a_w$  del Experimento 3**

Efecto	Suma de cuadrados (SC)	Grados de libertad (GL)	Cuadrado medio (CM)	Prueba estadística (F)	Valor p
Carne	0.01088	1	0.01088	636	0.000000
Inóculo	0.00001	1	0.00001	1	0.477872
Días	0.00227	2	0.00114	66	0.000004
Almacenamiento	0.01175	1	0.01175	687	0.000000
Carne*Inóculo	0.00003	1	0.00003	2	0.248397
Carne*Días	0.00009	2	0.00005	3	0.122280
Carne*Almacenamiento	0.01005	1	0.01005	588	0.000000
Inóculo*Días	0.00002	2	0.00001	1	0.596060
Inóculo*Almacenamiento	0.00005	1	0.00005	3	0.118088
Días*Almacenamiento	0.00002	2	0.00001	1	0.603891
Error	0.00015	9	0.00002		

Los valores de  $a_w$  del 4° lote de salamis (**CRCP**) se presentan en la tabla 38 (Anexo A), a diferencia de los lotes anteriores, este fue elaborado con carne obtenida de animales alimentados únicamente en pastoreo. En metodología se muestra la forma de análisis para este lote donde fue necesario hacer una comparación con el lote 3 (**CRCG**).

Para este lote 4, el Tipo de Carne (Figura 56) tuvo un efecto altamente significativo  $P=0.003503$  en los cambios en  $a_w$ , y aunque el Tiempo muestra cierta tendencia a ser efecto en los cambios en  $a_w$ , no se puede considerar como efecto significativo (tabla 16).



**Figura 10. Efecto del Tipo de Carne en los cambios en  $a_w$  de salamis (lote 4) adicionados o no de *P. acidilactici***

De los 4 lotes analizados, en ninguno de los casos se pudo observar efecto de la no adición o la adición de *L. plantarum* y/o *P. acidilactici* en los cambios en  $a_w$  de salamis.

**Tabla 4. Prueba de significancia para la  $a_w$  del Experimento 4**

<b>Efecto</b>	<b>Suma de cuadrados (SC)</b>	<b>Grados de libertad (GL)</b>	<b>Cuadrado medio (CM)</b>	<b>Prueba estadística (F)</b>	<b>Valor p</b>
Carne	0.016280	1	0.016280	284.0	0.003503
Inóculo	0.000056	1	0.000056	1.0	0.426036
Días	0.001483	2	0.000741	12.9	0.071786
Carne*Inóculo	0.000176	1	0.000176	3.1	0.221568
Inóculo*Días	0.000115	2	0.000057	1.0	0.500000
Carne*Días	0.000083	2	0.000041	0.7	0.581081
Error	0.000115	2	0.000057		

### **3.2. Identificación y cuantificación de los ésteres metílicos de los ácidos grasos de los salamis**

Para poder realizar la identificación y cuantificación de los AG se empleó el acoplamiento de la **CG-EM** y se pudo elucidar la estructura química de los componentes de una mezcla mediante su espectro de masas.

Cada muestra analizada es **la forma esterificada de los ácidos grasos** (Figuras 68-71, Anexo D). El área bajo la curva del pico indica la concentración de cada uno de los compuestos.

Los cromatogramas obtenidos presentan de 4 a 5 picos. El primer pico no es considerado para el análisis ya que representa el disolvente (Hexano) en el cual se mezcló la muestra para su posterior inyección en la columna cromatográfica. Se obtuvieron picos con diferentes áreas pues la concentración de los compuestos hallados es diferente.

Una vez que los compuestos son separados y eluidos a través de la columna cromatográfica, estos pasan al espectrómetro de masas el cual cuenta con una cámara de ionización en donde y mediante impacto electrónico se realiza una ionización (fragmentación) de la molécula formándose el **ion molecular ( $M^+$ )** que equivale al peso molecular de la estructura (éster de ácido graso) y esto es representado en un **espectro de masas** que se representa en las Figuras 58-61.

Los espectros de masas obtenidos para este tipo de compuestos (ésteres de ácidos grasos) tienen una particularidad en cuanto a los picos formados a partir de la ionización. Cada pico representa una parte de la molécula ionizada o puede corresponder a otro compuesto que no es de interés para el análisis, el pico más alto o **pico base** del espectro de masas es un fragmento de relación **M/Z 74** y es **característico de un residuo de éster metílico**, esto indica que el proceso de **transesterificación** de los AG se llevó adecuadamente.

Cuando este pico es el más alto en el espectro de masas se le conoce como pico base y se aprecia con mayor altura porque la abundancia relativa que registra el equipo para cierto compuesto orgánico es muy grande. En algunos casos el 74 no es visible dentro del espectro de masas, esto no significa que la transesterificación no se haya llevado a cabo o que cierto compuesto no esté presente, simplemente la abundancia relativa que registra el CG-EM es muy baja. Esta abundancia relativa será diferente en cada compuesto hallado.

El tiempo de retención es el tiempo característico de cada compuesto en su interacción con la fase estacionaria de la columna éste tiempo de retención y el área bajo la curva los proporciona el cromatógrafo de gases (CG) y al final del análisis, con ellos se puede realizar la cuantificación de cada uno de los ésteres de AG encontrados. El espectrómetro de masas (EM) proporciona únicamente el ion molecular y los fragmentos característicos de la molécula.

Lo que se hizo fue:

1. Realizar la sumatoria de las áreas de cada pico ( $\Sigma$  áreas)
2. Se multiplica cada una de las áreas de cada pico por 100 y el resultado se divide entre la  $\Sigma$  áreas para obtener el % de cada área individual
3. Para poder identificar a que éster de AG le corresponde cada tiempo de retención se analizan uno por uno los espectros de masas donde se ve el tiempo de retención y el peso molecular del compuesto y así poder determinar la concentración de cada AG

En la Tabla 17 se presenta la hoja de cálculo empleada para realizar el análisis de los ésteres de AG, en ella aparecen cada uno de los datos necesarios para hacer la cuantificación de los compuestos.

**Tabla 5. Ejemplo de la hoja de excel empleada para la cuantificación de los AG de salamis**

<b>M43</b>				
No	Tiempo de retención	Área del pico	% de cada área individual	% de ésteres metílicos
1	1.49			
2	1.53			
3	1.63			
4	1.66			
5	4.41	157,670,720	1.02	1.02
6	6.33	1,102,698,258	7.16	7.16
7	6.48	1,435,020,021	9.32	
8	6.54	706,879,936	4.59	13.90
9	8.51	1,390,473,861	9.03	
10	8.58	535,611,686	3.48	
11	8.79	1,440,944,349	9.35	
12	8.9	804,349,578	5.22	
13	8.98	914,310,344	5.94	
14	9.15	1,960,479,136	12.73	
15	9.18	596,373,532	3.87	
16	9.23	882,669,049	5.73	
17	9.31	1,527,787,787	9.92	65.26
18	9.48	1,384,406,373	8.99	8.99
19	9.54	32,210,421	0.21	0.21
20	10.95	47,542,015	0.31	0.31
21	11.08	360,488,179	2.34	2.34
22	11.63	125,254,227	0.81	0.81
<b>Total</b>		<b>15,405,169,472</b>	<b>100.00</b>	<b>100.00</b>

Los cromatogramas muestran de 4 a 5 picos lo que indica que de la muestra inyectada en la columna se obtuvo la separación de 4 compuestos los cuales son identificados y cuantificados con ayuda de los espectros de masas de cada muestra (anexo D, figuras 70-73)

Las cromatogramas (anexo C, figuras 64-69) presentan los cromatogramas de los ésteres de AG de salamis con *P. acidilactici* del lote 4 correspondientes al día 10.

Resulta innecesario esquematizar los 46 cromatogramas y los 184 espectros de masas pues todos los cromatogramas presentan el mismo número de picos es decir, el mismo número de AG y de igual forma en el caso de los espectros de masas. Las concentraciones de cada uno de los AG son presentados en el anexo B (tablas 39-46).

Wood *et al.*, (2008) citan la composición de ácidos grasos (g/100 g de ácido graso) de tejido adiposo y músculo (*longissimus*) de cortes de lomo de cerdo y res donde son identificados los siguientes AG:

- Mirístico (14:0)
- Palmítico (16:0)

- Palmitoleico (16:1cis)
- Esteárico (18:0)
- Oleico (18:1cis-9)
- Linoleico (18:2Ω-6)
- Linolénico (18:3Ω-3)
- Araquidónico (20:4Ω-6)
- Eicosapentanoico (20:5Ω-3)

**En este trabajo** fueron identificados tres de ellos, el *ácido mirístico*, el *ácido palmítico* y el *ácido esteárico* que son Ácidos Grasos Saturados (AGS). Esto no quiere decir que los que se citan en la literatura no estén presentes en las materias primas empleadas para la elaboración de los salamis, sino que probablemente se encuentren en concentraciones tan bajas que el CG-EM no puede detectarlos y por consecuencia no los cuantifica. Sin embargo, en el análisis de CG-EM del presente trabajo se encontró el ácido 5-octadecenoico que es un Ácido Graso Insaturado (AGI) hallado en el lardo empleado como materia prima para la elaboración de los salamis.

En un trabajo realizado por Doniz (1994) en el cual se evalúan AG por CG-EM en diversos salamis comerciales se hallaron los siguientes AG:

- ✓ Ác. Mirístico
- ✓ Ác. Palmítico
- ✓ Ác.2,4,6-TMD
- ✓ Ác. Linoleico
- ✓ Ác. Oleico
- ✓ Ác.5-octadecenoico
- ✓ Ác. Esteárico

**En el presente proyecto**, luego de analizar mediante CG-EM los salamis se obtuvieron los espectros de masas que representan los ésteres de AG hallados:

**Tabla 6. Identificación de los ésteres metílicos de AG en salamis**

Ésteres metílicos de AG	P.M. (g/mol)	Ácido Graso
Ácido mirístico	242	AGS
Ácido palmítico	270	AGS
Ácido 5-octadecenoico	296	AGI
Ácido esteárico	298	AGS

Se pudieron detectar 4 de los AG citados por Doníz, (1994).

**Cabe mencionar que el ácido 5-octadecenoico (AGI) comparado con los otros tres AGS se encuentra en altas concentraciones en cualquiera de las etapas de maduración de los salamis. Su concentración superó el 50% de AG detectados durante el análisis en CG-EM.** Éste es un ácido que está presente en el aceite de semillas de girasol y en la grasa de cerdo (Corominas, 1973).

Esto sin duda es un hallazgo importante pues a pesar de no ser un producto comercial, los salamis aquí elaborados cuentan con la presencia de AGI, los cuales, se ha comprobado que la ingesta de este tipo de ácidos grasos tiene ciertos beneficios para la salud.

El análisis realizado para el experimento 1 (lote 1) nos dice que la Formulación, el Tiempo y el Tipo de Inóculo no influyen en los cambios que presentan los ácidos grasos de los salamis, si bien éstos llegan a aumentar o disminuir dependiendo el AG no se puede asegurar que exista un efecto directo en dichos cambios. Esto quiere decir que no importa que los salamis hayan sido elaborados con RL o RLC, tampoco la adición o no de inóculos influye.

A pesar de que se muestran cambios en la concentración de AG (tabla 39, anexo B) conforme al tiempo, estadísticamente no se puede demostrar dicho efecto (tablas 19-22).

**Tabla 7. Prueba de significancia para el Ác. Mirístico del Experimento 1**

<b>Efecto</b>	<b>Suma de cuadrados (SC)</b>	<b>Grados de libertad (GL)</b>	<b>Cuadrado medio (CM)</b>	<b>Prueba estadística (F)</b>	<b>Valor p</b>
Formulación	0.34169	1	0.34169	0.61814	0.475702
Inóculo	0.62751	2	0.31376	0.56760	0.606742
Días	1.96001	2	0.98001	1.77289	0.281003
Formulación*Inóculo	0.13764	2	0.06882	0.12450	0.886227
Inóculo*Días	1.91369	4	0.47842	0.86550	0.553982
Formulación*Días	0.40008	2	0.20004	0.36188	0.717040
Error	2.21109	4	0.55277		

**Tabla 8. Prueba de significancia para el Ác. Palmítico del Experimento 1**

<b>Efecto</b>	<b>Suma de cuadrados (SC)</b>	<b>Grados de libertad (GL)</b>	<b>Cuadrado medio (CM)</b>	<b>Prueba estadística (F)</b>	<b>Valor p</b>
Formulación	41.892	1	41.892	1.1773	0.338921
Inóculo	1.729	2	0.865	0.0243	0.976134
Días	196.510	2	98.255	2.7614	0.176440
Formulación*Inóculo	36.142	2	18.071	0.5079	0.635990
Inóculo*Días	109.804	4	27.451	0.7715	0.596209
Formulación*Días	18.817	2	9.409	0.2644	0.780089
<i>Error</i>	142.328	4	35.582		

**Tabla 9. Prueba de significancia para el Ác. 5-octadecenoico del Experimento 1**

<b>Efecto</b>	<b>Suma de cuadrados (SC)</b>	<b>Grados de libertad (GL)</b>	<b>Cuadrado medio (CM)</b>	<b>Prueba estadística (F)</b>	<b>Valor p</b>
Formulación	39.58	1	39.58	0.1807	0.692643
Inóculo	15.87	2	7.93	0.0362	0.964739
Días	1428.54	2	714.27	3.2613	0.144500
Formulación*Inóculo	240.99	2	120.49	0.5502	0.615063
Inóculo*Días	30.97	4	7.74	0.0354	0.996582
Formulación*Días	11.48	2	5.74	0.0262	0.974297
<i>Error</i>	876.05	4	219.01		

**Tabla 10. Prueba de significancia para el Ác. Esteárico del Experimento 1**

<b>Efecto</b>	<b>Suma de cuadrados (SC)</b>	<b>Grados de libertad (GL)</b>	<b>Cuadrado medio (CM)</b>	<b>Prueba estadística (F)</b>	<b>Valor p</b>
Formulación	125.4528	1	125.4528	3.06556	0.154858
Inóculo	7.7237	2	3.8618	0.09437	0.911915
Días	3.1678	2	1.5839	0.03870	0.962391
Formulación*Inóculo	21.9373	2	10.9687	0.26803	0.777612
Inóculo*Días	64.2837	4	16.0709	0.39271	0.806311
Formulación*Días	38.5356	2	19.2678	0.47083	0.655202
<i>Error</i>	163.6934	4	40.9233		

Para el experimento 2 sucede algo similar, ni el Tipo de Carne empleado para la elaboración de los salamis, ni el Tiempo, ni la adición o no de *P. acidilactici* tienen efecto en los cambios que presentan los AG de los salamis. La tabla 40 (anexo B) muestra los valores de cada muestra analizada y se pueden observar los cambios en cada uno de los AG, sin embargo en la prueba de significancia (tablas 23-26) no se puede comprobar efecto significativo de ninguno de los factores analizados.

**Tabla 11. Prueba de significancia para el Ác. Mirístico del Experimento 2**

<b>Efecto</b>	<b>Suma de cuadrados (SC)</b>	<b>Grados de libertad (GL)</b>	<b>Cuadrado medio (CM)</b>	<b>Prueba estadística (F)</b>	<b>Valor p</b>
Carne	0.32341	1	0.32341	0.44103	0.574944
Inóculo	0.06901	1	0.06901	0.09411	0.788014
Días	0.21515	2	0.10758	0.14670	0.872069
Carne*Inóculo	0.06021	1	0.06021	0.08211	0.801421
Inóculo*Días	1.53022	2	0.76511	1.04337	0.489389
Carne*Días	0.37182	2	0.18591	0.25352	0.797754
<i>Error</i>	1.46662	2	0.73331		

**Tabla 12. Prueba de significancia para el Ác. Palmítico del Experimento 2**

<b>Efecto</b>	<b>Suma de cuadrados (SC)</b>	<b>Grados de libertad (GL)</b>	<b>Cuadrado medio (CM)</b>	<b>Prueba estadística (F)</b>	<b>Valor p</b>
Carne	241.652	1	241.652	3.94694	0.185327
Inóculo	8.118	1	8.118	0.13259	0.750651
Días	85.360	2	42.680	0.69710	0.589242
Carne*Inóculo	0.330	1	0.330	0.00539	0.948156
Inóculo*Días	58.383	2	29.192	0.47679	0.677143
Carne*Días	36.038	2	18.019	0.29431	0.772612
<i>Error</i>	122.450	2	61.225		

**Tabla 13. Prueba de significancia para el Ác. 5-octadecenoico del Experimento 2**

<b>Efecto</b>	<b>Suma de cuadrados (SC)</b>	<b>Grados de libertad (GL)</b>	<b>Cuadrado medio (CM)</b>	<b>Prueba estadística (F)</b>	<b>Valor p</b>
Carne	298.80	1	298.80	7.3994	0.112746
Inóculo	2.52	1	2.52	0.0624	0.826024
Días	457.77	2	228.89	5.6680	0.149970
Carne*Inóculo	3.16	1	3.16	0.0783	0.805893
Inóculo*Días	104.85	2	52.42	1.2982	0.435130
Carne*Días	550.65	2	275.32	6.8180	0.127911
<i>Error</i>	80.76	2	40.38		

**Tabla 14. Prueba de significancia para el Ác. Esteárico del Experimento 2**

<b>Efecto</b>	<b>Suma de cuadrados (SC)</b>	<b>Grados de libertad (GL)</b>	<b>Cuadrado medio (CM)</b>	<b>Prueba estadística (F)</b>	<b>Valor p</b>
Carne	22.5228	1	22.5228	0.532342	0.541506
Inóculo	5.9080	1	5.9080	0.139640	0.744533
Días	7.5901	2	3.7951	0.089699	0.917685
Carne*Inóculo	5.4945	1	5.4945	0.129867	0.753070
Inóculo*Días	32.8820	2	16.4410	0.388594	0.720153
Carne*Días	7.2277	2	3.6138	0.085415	0.921306
<i>Error</i>	84.6178	2	42.3089		

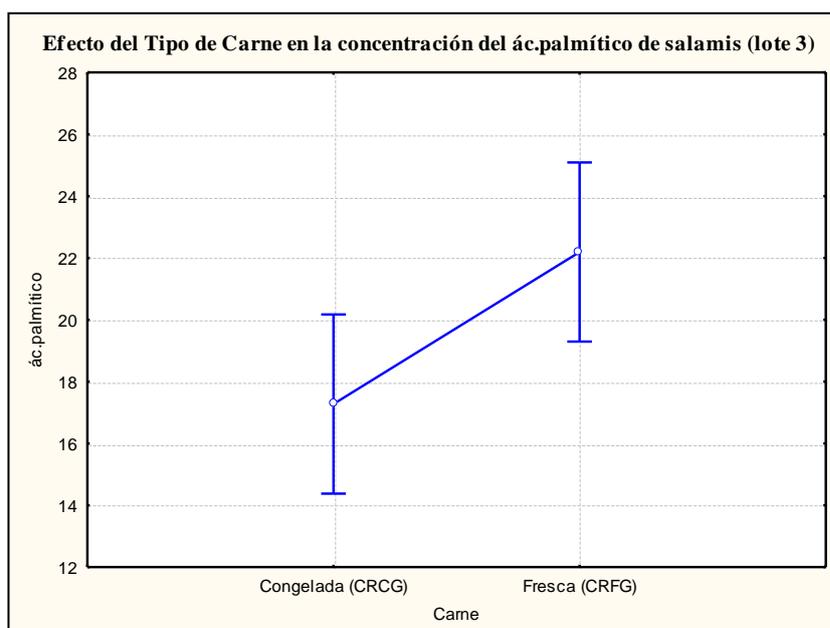
Caso contrario a los experimentos 1 y 2, en el experimento 3 se presentan algunos efectos significativos para los ácidos palmítico, 5-octadecenoico y esteárico.

**Tabla 15. Prueba de significancia para el Ác. Mirístico del Experimento 3**

Efecto	Suma de cuadrados (SC)	Grados de libertad (GL)	Cuadrado medio (CM)	Prueba estadística (F)	Valor p
Carne	0.44827	1	0.44827	1.3537	0.274558
Inóculo	0.18027	1	0.18027	0.5444	0.479426
Días	0.12581	2	0.06290	0.1900	0.830228
Almacenamiento	0.35042	1	0.35042	1.0582	0.330484
Carne*Inóculo	0.00060	1	0.00060	0.0018	0.966977
Carne*Días	0.62256	2	0.31128	0.9400	0.425860
Carne*Almacenamiento	0.01815	1	0.01815	0.0548	0.820137
Inóculo*Días	0.46526	2	0.23263	0.7025	0.520606
Inóculo*Almacenamiento	0.00282	1	0.00282	0.0085	0.928539
Días*Almacenamiento	0.33781	2	0.16890	0.5100	0.616834
Error	2.98038	9	0.33115		

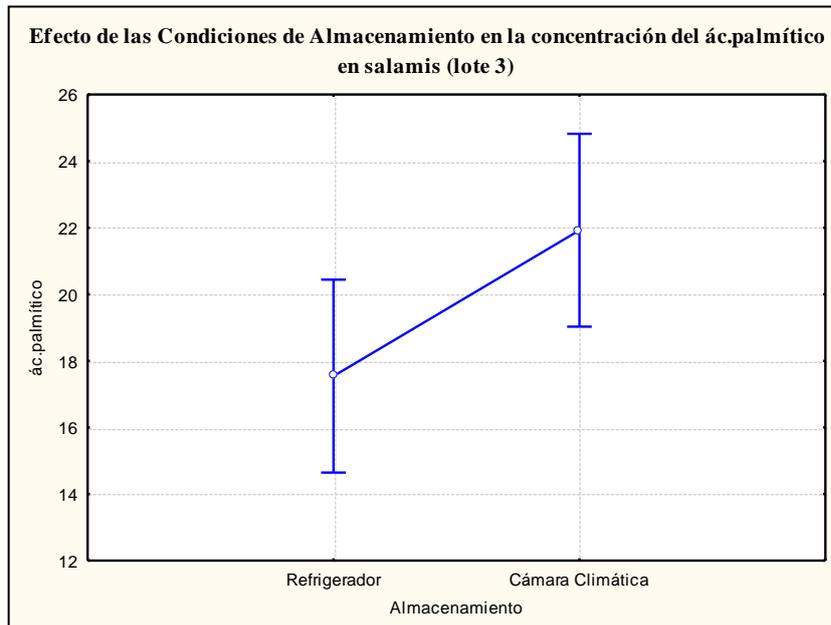
Haciendo el análisis para el ácido Palmítico se tienen efectos altamente significativos del Tipo de carne con un valor  $P= 0.023864$ , el Tipo de Almacenamiento presenta un valor  $P= 0.038676$  y la interacción entre el Tipo de Carne y el Tipo de almacenamiento presenta un valor  $P= 0.051726$  el cual puede considerarse como efecto significativo (tabla 28).

Las figuras 57, 58 y 59 muestran dichos efectos en los cambios que presenta el ácido Palmítico de los salamis.



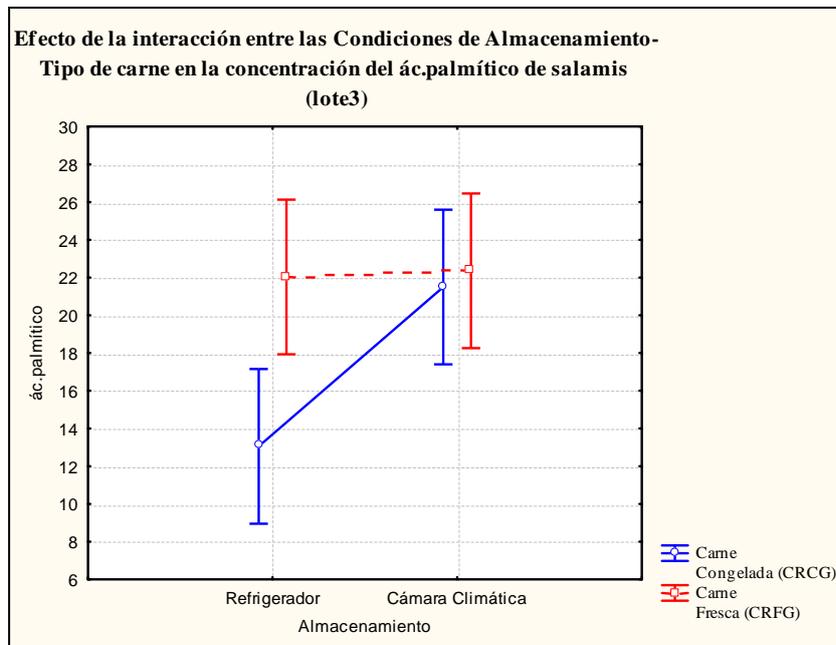
**Figura 11. Efecto del Tipo de Carne en la concentración del ácido palmítico de salamis (lote 3) adicionados o no de *P. acidilactici*.**

La figura 57 muestra el efecto que tiene el Tipo de Carne en la concentración del ácido Palmítico de los salamis, donde es claro que existe un mayor porcentaje en la carne fresca (CRFG).



**Figura 12. Efecto del Tipo de Almacenamiento en la concentración del ácido palmítico de salamis (lote 3) adicionados o no de *P. acidilactici***

De igual forma, se observa un porcentaje mayor de ácido Palmítico en los salamis almacenados en Cámara Climática que en Refrigerador.



**Figura 13. Efecto de la interacción entre las condiciones de almacenamiento y el Tipo de Carne en la concentración del ácido palmítico de salamis (lote 3) adicionados o no de *P. acidilactici***

La figura 59 muestra que en el caso de la carne empleada para la elaboración de los salamis (CRCG) existe una mayor concentración de ácido palmítico en condiciones de Cámara Climática que en Refrigerador. Para el caso de la carne (CRFG) la concentración del ácido en los salamis se mostró similar en tanto en Cámara Climática como en Refrigerador, además los salamis de carne fresca presentaron un porcentaje ligeramente mayor a la carne congelada.

**Tabla 16. Prueba de significancia para el Ác. Palmítico del Experimento 3**

<b>Efecto</b>	<b>Suma de cuadrados (SC)</b>	<b>Grados de libertad (GL)</b>	<b>Cuadrado medio (CM)</b>	<b>Prueba estadística (F)</b>	<b>Valor p</b>
Carne	144.943	1	144.943	7.3625	0.023864
Inóculo	0.049	1	0.049	0.0025	0.961458
Días	60.758	2	30.379	1.5431	0.265325
Almacenamiento	115.194	1	115.194	5.8514	0.038676
Carne*Inóculo	0.277	1	0.277	0.0141	0.908125
Carne*Días	47.542	2	23.771	1.2075	0.343132
Carne*Almacenamiento	98.902	1	98.902	5.0238	0.051726
Inóculo*Días	16.919	2	8.459	0.4297	0.663385
Inóculo*Almacenamiento	18.061	1	18.061	0.9174	0.363168
Días*Almacenamiento	53.204	2	26.602	1.3513	0.306780
<i>Error</i>	<i>177.179</i>	<i>9</i>	<i>19.687</i>		

Para el caso del ácido 5-octadecenoico de los salamis también del lote 3, se presentan efectos significativos en el Tiempo de maduración de los embutidos con un valor  $P= 0.055426$ , además existe efecto altamente significativo en la interacción entre el Tipo de Carne y el Tiempo de maduración donde  $P= 0.007587$  y la interacción entre el Tipo de Carne y el Tipo de Almacenamiento presenta un valor  $P= 0.030514$  (tabla 29).

Las figuras 60, 61 y 62 muestran dichos efectos.

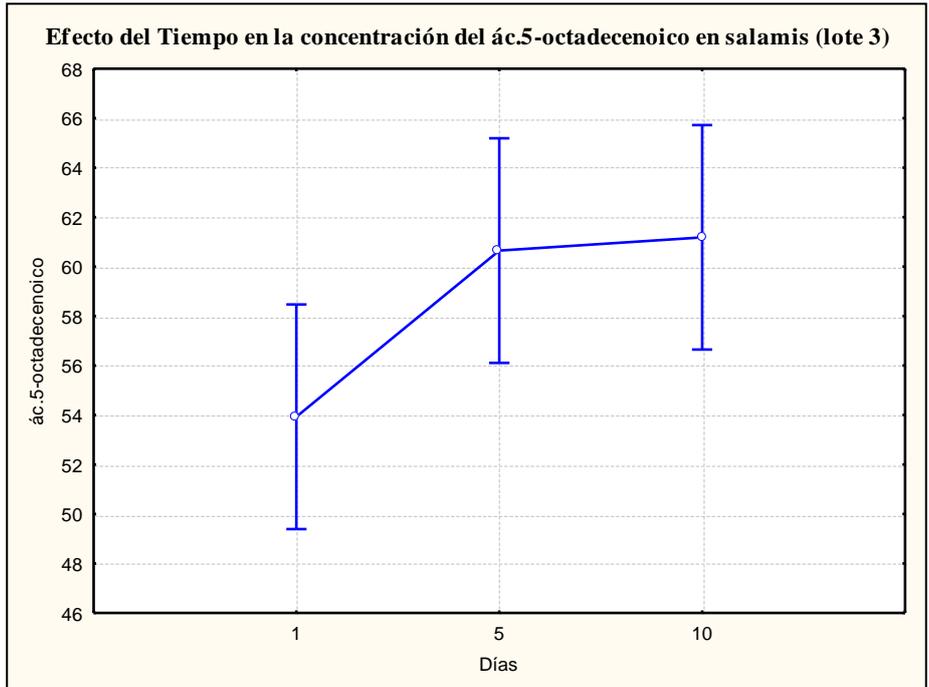


Figura 14. Efecto del Tiempo en la concentración del ácido 5-octadecenoico de salamis (lote 3) adicionados o no de *P. acidilactici*

La figura 60 muestra que existe una mayor concentración de ácido 5 octadecenoico en el último día de maduración.

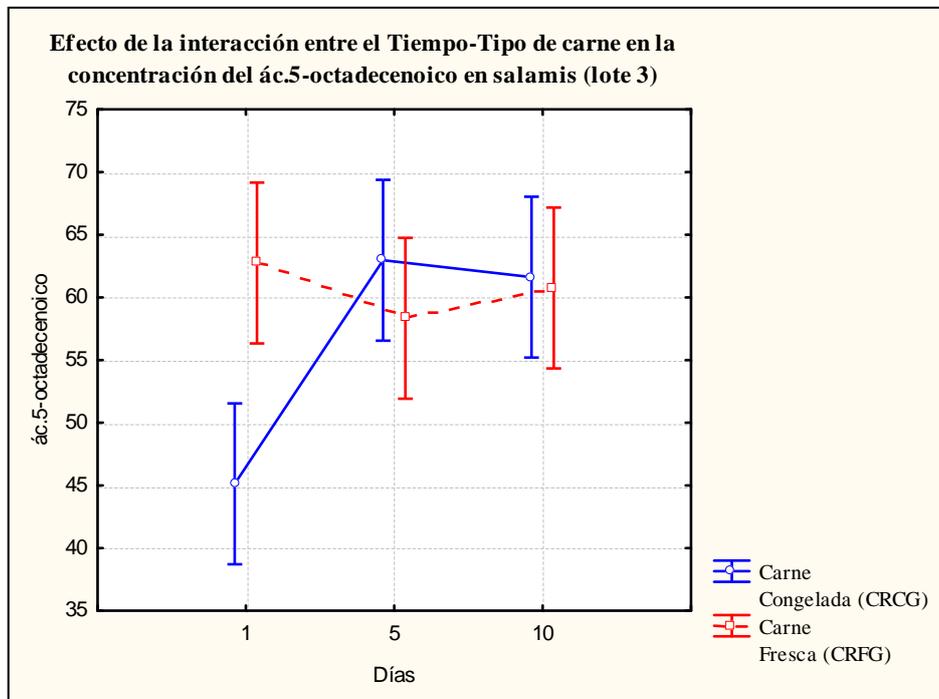
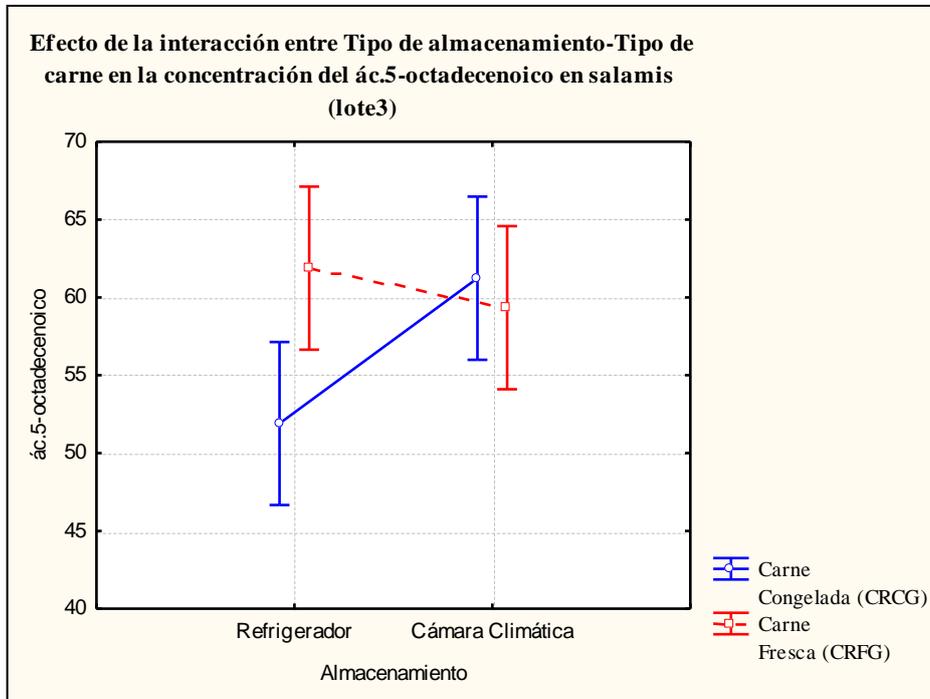


Figura 15. Efecto de la interacción entre el Tiempo de maduración y el Tipo de Carne del ácido 5-octadecenoico de salamis (lote 3) adicionados o no de *P. acidilactici*

La figura 61 muestra que para el caso de los salamis elaborados con CRCG hay un aumento en la concentración del ác. 5-octadecenoico conforme pasa el Tiempo, sin embargo para el caso de los salamis elaborados con CRFG la concentración del ácido disminuye conforme pasan los días de maduración.



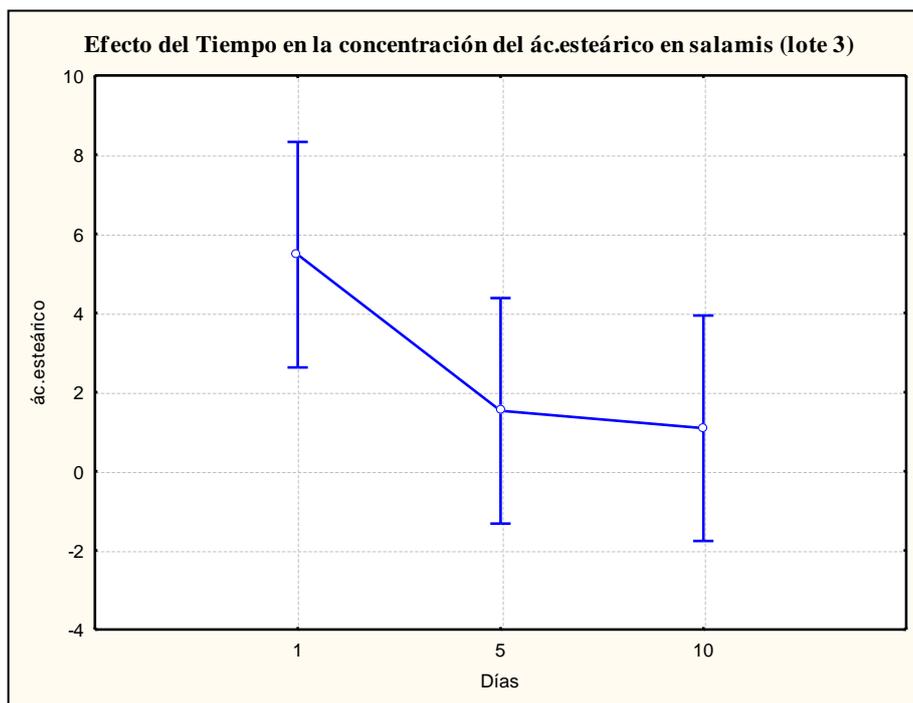
**Figura 16. Efecto de la interacción entre el Tipo de Almacenamiento y el Tipo de Carne del ác. 5-octadecenoico de salamis (lote 3) adicionados o no de *P. acidilactici***

La figura 62 representa el efecto de los factores antes mencionados en la concentración del ác. 5 octadecenoico de salamis correspondientes al lote 3, en esta gráfica se muestra que para los salamis elaborados con CRCG existe una mayor concentración de ácido en condiciones de Cámara Climática que en Refrigerador. Caso contrario de los salamis elaborados con CRFG donde la mayor concentración del ácido se presenta en Refrigerador y no en Cámara Climática.

**Tabla 17. Prueba de significancia para el Ác. 5-octadecenoico del Experimento 3**

<b>Efecto</b>	<b>Suma de cuadrados (SC)</b>	<b>Grados de libertad (GL)</b>	<b>Cuadrado medio (CM)</b>	<b>Prueba estadística (F)</b>	<b>Valor p</b>
Carne	98.05	1	98.05	3.046	0.114890
Inóculo	0.02	1	0.02	0.001	0.980736
Días	261.27	2	130.63	4.058	0.055426
Almacenamiento	69.19	1	69.19	2.149	0.176666
Carne*Inóculo	14.43	1	14.43	0.448	0.519948
Carne*Días	567.42	2	283.71	8.814	0.007587
Carne*Almacenamiento	211.52	1	211.52	6.571	0.030514
Inóculo*Días	192.56	2	96.28	2.991	0.100924
Inóculo*Almacenamiento	4.43	1	4.43	0.138	0.719267
Días*Almacenamiento	213.85	2	106.92	3.322	0.083099
<i>Error</i>	289.70	9	32.19		

Para el ác. esteárico de los salamis del lote 3, el factor Tiempo muestra cierta tendencia de ser un efecto en la concentración del ácido, sin embargo el análisis no comprueba que pueda llegar a ser un efecto significativo (tabla 30).



**Figura 17.Efecto del Tiempo en la concentración del ác. Esteárico de salamis (lote 3) adicionados o no de *P. acidilactici***

La figura 63 muestra la tendencia del tiempo en la concentración de dicho ácido. Se ve claramente como disminuye la concentración conforme pasan los días de maduración, a

pesar de eso no se puede asegurar que sea un efecto significativo en los cambios que presenta dicho ácido.

**Tabla 18. Prueba de significancia para el Ác. Esteárico del Experimento 3**

<b>Efecto</b>	<b>Suma de cuadrados (SC)</b>	<b>Grados de libertad (GL)</b>	<b>Cuadrado medio (CM)</b>	<b>Prueba estadística (F)</b>	<b>Valor p</b>
Carne	1.9953	1	1.9953	0.15723	0.700954
Inóculo	12.7313	1	12.7313	1.00326	0.342690
Días	93.3163	2	46.6582	3.67681	0.068050
Almacenamiento	4.2673	1	4.2673	0.33627	0.576215
Carne*Inóculo	11.8161	1	11.8161	0.93114	0.359777
Carne*Días	21.1386	2	10.5693	0.83289	0.465719
Carne*Almacenamiento	28.0801	1	28.0801	2.21280	0.171044
Inóculo*Días	30.8540	2	15.4270	1.21569	0.340915
Inóculo*Almacenamiento	0.0171	1	0.0171	0.00134	0.971546
Días*Almacenamiento	38.4888	2	19.2444	1.51652	0.270647
<i>Error</i>	<i>114.2087</i>	<i>9</i>	<i>12.6899</i>		

Después del análisis realizado en el experimento 4, no se observaron efectos del Tipo de Carne, ni del Tiempo, ni de la adición o no de *P. acidilactici* en la concentración de AG en salamis. Esto significa que al emplear CRCP o CRCG para la elaboración de salamis la concentración de los AG según sea el caso, serán similares con y sin la adición de cultivos iniciadores. Aunque existan cambios en las concentraciones de los AG conforme al tiempo (tabla 42, anexo B) este efecto no puede ser demostrado (tablas 31-34).

**Tabla 19. Prueba de significancia para el Ác. Mirístico del Experimento 4**

<b>Efecto</b>	<b>Suma de cuadrados (SC)</b>	<b>Grados de libertad (GL)</b>	<b>Cuadrado medio (CM)</b>	<b>Prueba estadística (F)</b>	<b>Valor p</b>
Carne	0.27301	1	0.27301	5.7284	0.139061
Inóculo	0.01688	1	0.01688	0.3541	0.612170
Días	0.07182	2	0.03591	0.7535	0.570303
Carne*Inóculo	0.03521	1	0.03521	0.7388	0.480631
Inóculo*Días	0.06485	2	0.03243	0.6804	0.595109
Carne*Días	0.03962	2	0.01981	0.4156	0.706398
<i>Error</i>	<i>0.09532</i>	<i>2</i>	<i>0.04766</i>		

**Tabla 20. Prueba de significancia para el Ác. Palmítico del Experimento 4**

<b>Efecto</b>	<b>Suma de cuadrados (SC)</b>	<b>Grados de libertad (GL)</b>	<b>Cuadrado medio (CM)</b>	<b>Prueba estadística (F)</b>	<b>Valor p</b>
Carne	79.568	1	79.568	0.36803	0.605773
Inóculo	45.630	1	45.630	0.21105	0.691044
Días	641.582	2	320.791	1.48376	0.402615
Carne*Inóculo	94.978	1	94.978	0.43931	0.575625
Inóculo*Días	362.185	2	181.093	0.83761	0.544184
Carne*Días	396.226	2	198.113	0.91634	0.521828
<i>Error</i>	<i>432.402</i>	<i>2</i>	<i>216.201</i>		

**Tabla 21. Prueba de significancia para el Ác. 5-octadecenoico del Experimento 4**

<b>Efecto</b>	<b>Suma de cuadrados (SC)</b>	<b>Grados de libertad (GL)</b>	<b>Cuadrado medio (CM)</b>	<b>Prueba estadística (F)</b>	<b>Valor p</b>
Carne	6.72	1	6.72	0.0423	0.856128
Inóculo	0.03	1	0.03	0.0002	0.990610
Días	314.98	2	157.49	0.9907	0.502333
Carne*Inóculo	70.08	1	70.08	0.4409	0.575006
Inóculo*Días	323.73	2	161.86	1.0182	0.495483
Carne*Días	366.25	2	183.13	1.1520	0.464689
<i>Error</i>	<i>317.93</i>	<i>2</i>	<i>158.97</i>		

**Tabla 22. Prueba de significancia para el Ác. Esteárico del Experimento 4**

<b>Efecto</b>	<b>Suma de cuadrados (SC)</b>	<b>Grados de libertad (GL)</b>	<b>Cuadrado medio (CM)</b>	<b>Prueba estadística (F)</b>	<b>Valor p</b>
Carne	15.0976	1	15.0976	1.59508	0.333903
Inóculo	3.4561	1	3.4561	0.36514	0.607080
Días	138.1486	2	69.0743	7.29778	0.120514
Carne*Inóculo	3.1008	1	3.1008	0.32761	0.624836
Inóculo*Días	18.6650	2	9.3325	0.98599	0.503527
Carne*Días	12.4696	2	6.2348	0.65871	0.602876
<i>Error</i>	<i>18.9302</i>	<i>2</i>	<i>9.4651</i>		

Begoña (2007), dice que los lípidos son precursores de muchos compuestos aromáticos derivados de los fenómenos hidrolíticos y oxidativos durante la maduración de algunos productos cárnicos. Asimismo cierto grado de oxidación lipídica contribuye a la formación del aroma y sabor típico de los embutidos. El problema se encuentra en la formación de compuestos volátiles que a determinadas concentraciones proporcionan un aroma y sabor a rancio.

Los ácidos grasos de cadena corta (más volátiles) intervienen directamente en el aroma de los productos cárnicos madurados. Los AGI influyen en el sabor de los productos a través de los compuestos que se forman a partir de ellos, vía reacciones de oxidación. De igual forma, el enranciamiento debido a la lipólisis se aplica a los olores desagradables resultantes de la oxidación lipídica. Aunque una autooxidación de lípidos intensa, conduce a modificaciones desfavorables en los productos cárnicos crudos-curados, este proceso en niveles moderados conlleva a la aparición de compuestos de bajo peso molecular (fundamentalmente carbonilos: aldehídos, ácidos y cetonas) con un umbral de percepción muy bajo, por lo que pequeñas cantidades de los mismos suponen una gran aportación al aroma y sabor de los productos en los que se encuentran (Franco *et. al* 2004; Fennema, 1993).

La flora bacteriana propia de la carne desempeña un papel importante en la oxidación de los ácidos grasos libres. Se debe tener en cuenta la materia prima cárnica, las condiciones de almacenamiento (temperatura y humedad), tiempo de maduración del producto y la adición o no de cultivos iniciadores ya que puede haber interacción con el metabolismo de las BAL.

Se cree que la lipólisis desempeña un importante papel en la formación de aroma y que conduce a la liberación de ácidos grasos libres debido a la actividad de lipasas de origen bacteriano particularmente de *Staphylococcus*, aunque también los ácidos grasos de cadena corta contribuyen a la formación de olores característicos en embutidos madurados, mientras que los ácidos grasos de cadena larga pueden actuar como precursores de la lipólisis por la degradación oxidativa de los ácidos grasos (autooxidación) formando alcanos, alquenos, alcoholes, aldehídos y cetonas (Leroy *et. al* 2006).

En el desarrollo de las características propias de los productos cárnicos fermentados, la principal contribución de las BAL es la producción de grandes cantidades de ácido láctico. Además, el uso de cultivos iniciadores conduce a la reducción del tiempo de maduración de los embutidos y puede traer ventajas tecnológicas, resultando en un producto de buena calidad sanitaria, además de que las características sensoriales son mejores a las de un salami madurado por fermentación espontánea (sin cultivo iniciador) (Rivera, 2004; Leroy *et. al* 2006).

Al uso de BAL en la conservación de alimentos de forma natural ya sea mediante la producción de ácido láctico y/o producción de metabolitos antimicrobianos (bacteriocinas) se le denomina **Bioconservación**. Cultivos iniciadores como *P. acidilactici* se emplean en productos cárnicos madurados para extender su vida útil y/o inhibir microorganismos patógenos, además de que colaboran para mejorar las características sensoriales del producto final (Llorente, 1998; Leroy *et. al* 2006).

El objetivo principal de la bioconservación es la extensión de la vida de útil, así como mejorar la calidad sanitaria de los productos. Las BAL juegan un importante papel en la bioconservación porque su consumo no representa riesgo alguno (Castellano *et. al* 2008; Llorente, 1998)

Durante el almacenamiento de los productos cárnicos, al inicio del proceso de fermentación-maduración, se encuentra microbiota dominante propia de la materia prima. El efecto de bioconservación de las BAL es un efecto inhibitorio contra otros microorganismos patógenos y/o propios de la materia prima, esta es una competencia por los nutrientes para su reproducción (Castellano *et. al* 2008).

# **CONCLUSIONES**

1. El análisis realizado demuestra que la  $a_w$  de los salamis del 1er lote mantiene una tendencia similar en ambas formulaciones RL y RLC.
2. Pare el caso del lote 2, la prueba de significancia demuestra que el Tipo de Carne ( $P= 0.000299$ ) y el Tiempo de maduración ( $P= 0.009232$ ) son efectos altamente significativos y que son determinantes en los cambios en  $a_w$  de los salamis. Los salamis elaborados con CRCG presentaron valores de  $a_w$  más altos comparados con los salamis a base de CRFG.
3. El Tipo de Carne, el Tiempo de maduración y el Tipo de Almacenamiento durante la fermentación-maduración, determinan en forma altamente significativa los cambios que presenta la  $a_w$  de salamis del lote 3. La interacción entre el Tipo de Carne y Tipo de Almacenamiento muestran también efectos altamente significativos ( $P= 0.0000$ ). Cabe destacar que la  $a_w$  de los salamis es mayor en Refrigerador que en Cámara Climática.
4. Los salamis elaborados con CRCP presentaron una mayor  $a_w$  frente a los elaborados con CRCG, con esto se demuestra que el Tipo de Carne empleada para la elaboración de los embutidos tiene efecto altamente significativo ( $P= 0.003503$ ) en los cambios en  $a_w$ ).
5. En ninguno de los lotes elaborados se pudo demostrar que la no adición y la adición de *L. plantarum* y/o *P. acidilactici* tuvieran efecto alguno en los cambios en  $a_w$  de los salamis.
6. El patrón de ácidos grasos detectados mediante CG-EM, en todos los salamis, tiene la presencia de los AGS Mirístico, Palmítico, Esteárico y el AGI 5-octadecenoico.
7. A pesar de que los AG presentaron cambios conforme al tiempo no se pudo demostrar que éste factor tuviera efecto en la concentración de los ácidos.
8. El Tipo de carne, el Tipo de Almacenamiento y el Tipo de inóculo no mostraron efecto alguno en los cambios de los AG para el caso de los lotes 1, 2 y 4.

9. En el lote 3 se pudieron detectar efectos del Tipo de Carne empleada para la elaboración de los salamis, además del Tipo de Almacenamiento donde la concentración del ác. palmítico fue mayor en CRFG y en Cámara Climática.
10. En los cambios que presenta el ác. 5-octadecenoico de los salamis del lote 3 se puede demostrar que éste ácido aumenta conforme pasa el Tiempo de maduración, además de que existe interacción entre el Tiempo y el Tipo de Carne, pues la concentración del ácido es mayor en CRCG para el último día de maduración de los salamis. Así mismo, se presenta un mayor % de ácido en Cámara Climática para los salamis elaborados con CRCG, sin embargo, para los salamis de CRFG la concentración disminuyó conforme al tiempo.
11. Es importante resaltar que el ácido 5-octadecenoico (AGI) comparado con los otros AGS se encontró en altas concentraciones en todos y cada uno de los salamis analizados. Su concentración superó el 50% de AG detectados durante el análisis en CG-EM.
12. La adición de *L. plantarum* y/o *P. acidilactici* no demostraron tener efecto en los cambios en el patrón, ni en la concentración de AG de los salamis, ni de éstos respecto a los fermentados espontáneamente.

## LITERATURA CITADA

- AOAC. 2000. International Official Methods of Analysis. Vol. II 17<sup>th</sup> Ed. Method. 991.36. USA.
- Badui, D. S. 1999 “Química de los alimentos”. 3<sup>a</sup> Ed. Longman de México Editores, S.A. de C.V. México. pp 28-36, 213-222, 231-248.
- Begoña, A. M., 1999. Efecto de la raza y de la alimentación en los parámetros productivos de calidad de canal y de carne en añojos de razas charolés y serrana Soriana. Tesis de Doctorado. Universidad de Valladolid.
- Begoña, M., M. 2007. Mejora de la seguridad alimentaria en productos cárnicos listos para el consumo mediante la aplicación combinada de tecnologías de conservación emergentes. Tesis Doctoral. Universidad de Girona.
- Bello, H., H. y Duran, B., I. 1992. “Aplicación de *Pediococcus acidilactici* en la elaboración de un embutido tipo salami. Tesis. Ingeniería en Alimentos. FESC-UNAM. México.
- Calkins, C., R., Hodgen, J., M. 2007. A fresh look at meat flavor. *J. Animal Sci.* **77**: 63-80.
- Castellano, P., Belfiore, C., Fadda, S., Vignolo, G. 2008. A review of bacteriocinogenic lactic acid bacteria used as bioprotective cultures in fresh meat produced in Argentina. *Meat Science* **79**: 483–499.
- Cenci-Goga, B.T., Ranucci, D., Miraglia, D., Cioffi, A. 2008. Use of starter cultures of dairy origin in the production of *Salame nostrano*, and Italian dry-cured sausage. *Meat Science*. **78**: 381-390.
- Chacón, A. 2004. La suavidad de la carne: Implicaciones físicas y bioquímicas asociadas al manejo y proceso agroindustrial. *Agronomía Mesoamericana*. **15**: 225-243.
- Coretti, K. 1986. “Embutidos: Elaboración y defectos”. 1<sup>a</sup> Ed. Acribia. España. pp 9-45, 81-126.
- Corominas, A., A. 1973. “Los lípidos. Laboratorio y Clínica”. 1<sup>a</sup> Ed. Ediciones Toray, S. A. España. pp 5-33.

- Dabrio, B., M., V. 1973. “Cromatografía de gases II”. 1ª Ed. Alambra. España. pp 1-20, 122-169.
- Dalla, S., O., R., Coelho, F., A., Freitas, J., R., S., Dalla, F., H., S., Terra, N., N. 2008. Características de salamis fermentados producidos sin adición de cultivo iniciador. *Carnilac Industrial*. **23**(5):22-36.
- Demeyer, D., Hoozee, J., Mesdom, H. 1974. Specificity of lipolysis dry sausage ripening. *J. Food Sci.* **39**: 293-296.
- Doniz, R., M., E. 1994. “Evaluación de ácidos grasos por cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas en diversos salamis comerciales”. Tesis. Ingeniería en Alimentos. FESC-UNAM. México.
- Fennema, O. R. 1993. “Química de los Alimentos”. 2ª Ed. Acribia. España. pp 157-226.
- Flores, M., Gianelli, M., P., Pérez, J., Toldrá, F., 2007. Headspace concentration of selected dry-cured aroma compounds in model systems as affected by curing agents. *Food Chem.* **102**: 488-493.
- Forrest, J., C. 1979 “Fundamentos de Ciencia de la carne”. 1ª ed. Ed. Acribia. España. pp 21-68, 125-162, 197-223, 265-274.
- Frago, S., L., Fernández, R., M. 2000. Las bacterias lácticas como prebióticos y biopreservantes. *Alimentaria*. Abril: 89-98.
- Franco, I., Iglesias, S., Prieto, B., Carballo, J. 2004. Perfiles de ácidos grasos totales y libres en embutidos crudo-curados tradicionales de Galicia. *Grasas y aceites*. Facultad de Ciencias de Orense. Universidad de Vigo. **55**: 273-281.
- Gómez, P., J., De la Torre, B., M. 1989. Influencia de la tecnología en el valor nutritivo de los alimentos: Lípidos. *Alimentaria*. 11-18.
- Grandin, T. 1998. Manejo *antemortem* del ganado. *CarneTec*. Marzo/Abril 19-20.
- Gray, J., I. 1978. Measurement of lipid oxidation: A review. *JAOCS*. **55**: 539-546.
- Gray, J., I., Gomaa, E., A., Buckley, D., J. 1996. Oxidative quality and shelf life of meats. *Meat Science*. **43**: 111-123.
- Guerrero C. Z. 2006. “Diseño de una hoja de cálculo para el desarrollo de formulaciones cárnicas”. Tesis. Ingeniería en Alimentos. FESC-UNAM. México

- Gutiérrez, B., Ma., C., Droguet, M. 2002. La cromatografía de gases y la espectrometría de masas: identificación de compuestos causantes de mal olor. Universidad Politécnica de Catalunya. Boletín intexter. **122**: 35-41.
- Lawrie, R. 1998. “Ciencia de la Carne”. 3<sup>a</sup> Ed. Acribia. España. pp. 137-148.
- Leroy, F., Verluyten J., De Vuyst, L. 2006. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *International Journal of Food Microbiology* **106**: 270 – 285
- Llorente, B., A. 1997. Influencia del manejo de los animales antes del sacrificio en la calidad de la carne. *Lácteos y Cárnicos Mexicanos*. **12**(5): 12-15.
- Llorente, B., A. 1998. “Evaluación de la producción de bacteriocinas de *Pediococcus acidilactici* bajo diferentes condiciones de cultivo”. Tesis de Maestría en Ciencias (área microbiología). Universidad Nacional Autónoma de México.
- Martínez, M., A. 2007. Influencia de la nutrición sobre el contenido y tipo de ácidos grasos en la carne de los rumiantes. *Archivos de zootecnia*. **56**: 45-66.
- McMaster, M., McMaster, C. 1998. “CG-MS. A practical User’s guide”. 1<sup>st</sup> Ed. Wiley-VCH. USA. pp 1-68.
- Navarro, G., G., Bringas, A., L., Pacheco, A., R. 2004. Nueva herramienta para el estudio de la oxidación de los ácidos grasos, una de las causas fundamentales de la pérdida de calidad de los alimentos para la acuicultura. Memorias del VII Simposium internacional de nutrición acuícola. Hermosillo, Sonora, México. pp 480-503.
- Nielsen, S., S. 2007. Análisis de los alimentos. Manual de Laboratorio. 1<sup>a</sup> Ed. Acribia. España. pp 149-155.
- Niinivaara, F. P., Pirkko, A.; 1973 “El valor nutritivo de la carne”; 1<sup>a</sup> Ed. Acribia. España. pp 40-45, 88-101.
- Norma Oficial Mexicana NOM-009-Z00-1994, Proceso sanitario de la carne.
- Norma Oficial Mexicana NOM-213-SSA1-2002, Productos y servicios. Productos cárnicos procesados. Especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
- Olson, D., G., 1991. Principios de Química Cárnica. *Ciencia y Técnica Alimentaria*. 1-10.

- Paltrinieri, G. 1990. “Manuales para educación agropecuaria. Elaboración de productos cárnicos: Industrias rurales”. 2ª Ed. Trillas. México. pp 41-56.
- Pearson, D. “Técnicas de Laboratorio para el Análisis de Alimentos”. 3ª Ed. Acribia. España. 1998. pp. 132-143, 179-226.
- Prandl, O. 1994 “Tecnología e Higiene de la Carne”. 1ª Ed. Acribia. España. pp 101-140, 170-195.
- Rivera, Q., J. 2004. "Evaluación del efecto de bioconservación en salamis al adicionar *Pediococcus acidilactici* ATCC 8042 como cultivo iniciador". Tesis de Maestría. FESC-UNAM. México.
- Sawitzki, C., M., Fiorentini, A., Cunha, J., A., Bertol, T., M., 3, Sant’anna, E., S. 2008. *Lactobacillus plantarum* AJ2 isolated from naturally fermented sausage and its effects on the technological properties of Milano-type salami. *Ciênc. Technol. Aliment. Campinas*, **28(3)**: 709-717.
- Stiles, M. E. 1996. Biopreservation by lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*. **70**: 331-345.
- Schiffner, E. 1978. “Cultivos bacterianos en las industrias cárnicas”. 1ª Ed. Acribia. España. pp 12-126.
- Schiffner, E., Ooppel, K., Lörtzing, D. 1996. “Elaboración casera de carnes y embutidos”. 1ª Ed. Acribia. pp 83-179.
- *Statistica* versión 9 Statsoft™
- Wade, L., G. 1993. “Química Orgánica”. 2ª Ed. Prentice-Hall Hispanoamericana. S.A. México. pp. 987-988, 1011, 1027-1028.
- Waldir, E., Mojmír, R., Karel, M., Elena, Q., Erida E. 2007. Producción de ácido láctico por *Lactobacillus plantarum* L10 en cultivos batch y continuo Rev. Perú. Biol. **14(2)**: 271-275
- Wingrove, A., S. 1999. “Química orgánica”. 1ª Ed. Oxford. México. Pp 1106-1107, 1245-1248.
- Wood, J., D., Enser, M., Fisher, A., V., Nute, G., R., Sheard, P., R., Richardson, R., I., Hughes, S., I., Whittington, F., M. 2008. Fat deposition, fatty acid composition and meat quality: A review. *Meat Science*. **78**: 343-358.

- Yousef, A., E., Carlston, C. 2006. "Microbiología de los alimentos. Manual de Laboratorio". 1ª Ed. Acribia. España. pp 242-249.
- 2006. Embutido tradicional con tripas naturales. *Carnilac*. Alfa Editores Técnicos. Junio/Julio: 31-32.
- El proceso de transesterificación. <http://Biodisol.com/biodiesel> 03 de marzo del 2009.

## **Anexo A. Valores de $a_w$**

**Tabla 1. Datos de  $a_w$  de los salamis (lote 1) adicionados o no de cultivos iniciadores (*P. acidilactici* y *L. plantarum*.)**

Muestras	RLs	RLCs	RL Lb	RLC Lb	RL Pa	RLC Pa
Día 1	0.975 (22.3°C)	0.973 (22.4°C)	0.975 (22.3°C)	0.973 (22°C)	0.975 (22°C)	0.973 (22.3°C)
Día 5	0.958 (22°C)	0.948 (23.4°C)	0.945 (22.3°C)	0.955 (22.6°C)	0.954 (22.6°C)	0.948 (23.1°C)
Día 10	0.939 (22°C)	0.942 (21.7°C)	0.921 (22.8°C)	0.937 (22.4°C)	0.925 (22.3°C)	0.937 (22.2°C)

**Tabla 2. Datos de  $a_w$  de los salamis (lote 2) adicionados o no de cultivo iniciador (*Pediococcus acidilactici*)**

Muestras	RLC F Pa	RLC F	RLC F r	RLC F Pa r	RLC F Pa c	RLC F c
Día 1	0.88 (23.7° C)	0.88 (23.8° C)				
Día 5			0.87 (21°C)	0.86 (22.7°C)	0.86 (23.2°C)	0.86 (23.1°C)
Día 10			0.87 (23°C)	0.86 (23.2°C)	0.86 (23°C)	0.86 (22.3°C)

**Tabla 3. Datos de  $a_w$  de los salamis (lote 3) adicionados o no de cultivo iniciador (*Pediococcus acidilactici*)**

Muestras	RLC C	RLC C Pa	RLC C Pa c	RLC C c
Día 1	0.88 (24.2° C)	0.88 (24°C)		
Día 5			0.87 (23.5°C)	0.86 (23.6°C)
Día 10			0.86 (23°C)	0.86 (23.6°C)

**Tabla 4. Datos de  $a_w$  de los salamis (lote 4) adicionados o no de cultivo iniciador (*Pediococcus acidilactici*)**

Muestra	Salami con <i>Pediococcus acidilactici</i>	Salami sin <i>Pediococcus acidilactici</i>
Día 1	0.962 (20.2° C)	0.96 (20.2° C)
Día 5	0.93 (20.0° C)	0.942 (20.3° C)
Día 10	0.916 (20.5° C)	0.942 (20.2° C)

## **Anexo B. Concentración de Ácidos Grasos (%) de los Salamis**

**Tabla 5. Concentración de ácidos grasos (%) de salamis (lote 1) durante el periodo de fermentación-maduración adicionados o no de cultivos iniciadores (*P. acidilactici* y *L. plantarum*)**

Ácidos grasos	Periodo de fermentación-maduración (días)		
	1	5	10
<b>Ác. Mirístico</b>			
RLs	1.29	1.1	1.53
RL Lb	0	1.33	1.43
RL Pa	0.77	1.12	1.69
RLCs	0	1.26	1.34
RLC Lb	0	0.25	1.45
RLC Pa	2.15	0	1.33
<b>Ác. Palmítico</b>			
RLs	16.98	21.02	19.2
RL Lb	8.7	16.09	20.77
RL Pa	11.27	17.6	18.27
RLCs	3.6	15.39	17.21
RLC Lb	7.84	18.71	17.56
RLC Pa	17.39	3.48	21.26
<b>Ác. 5-octadecenoico</b>			
RLs	51.95	58.63	55.72
RL Lb	22.92	61.15	55.19
RL Pa	41.57	64.15	52.62
RLCs	28.6	69.4	60.62
RLC Lb	60.81	63.8	54.57
RLC Pa	38.75	52.88	61.16
<b>Ác. Esteárico</b>			
RLs	9.15	7.15	13.43
RL Lb	6.08	0	13.64
RL Pa	8.64	11.6	0
RLCs	2.43	2.89	0
RLC Lb	1.46	10.12	0
RLC Pa	5.17	0	0

**Tabla 6. Concentración de ácidos grasos (%) de salamis (lote 2) durante el periodo de fermentación-maduración adicionados o no de cultivo iniciador (*Pediococcus acidilactici*)**

Ácidos grasos	Periodo de fermentación-maduración (días)		
	1	5	10
Ác. Mirístico			
RLC F	1.2		
RLC F Pa	1.17		
RLC F r		1.51	1.3
RLC F Pa r		1.4	1.47
RLC F c		1.46	1.39
RLC F Pa c		2.38	1.57
Ác. Palmítico			
RLC F	22.5		
RLC F Pa	19.77		
RLC F r		20.14	21.48
RLC F Pa r		23	25.29
RLC F c		24.19	23.25
RLC F Pa c		25.5	18.9
Ác. 5-octadecenoico			
RLC F	61.73		
RLC F Pa	63.76		
RLC F r		63.1	60.65
RLC F Pa r		62.88	59.17
RLC F c		61.07	60.21
RLC F Pa c		46.29	62.98
Ác. Esteárico			
RLC F	8.89		
RLC F Pa	0		
RLC F r		0	8.71
RLC F Pa r		9.33	0
RLC F c		0	0
RLC F Pa c		0	0

**Tabla 7. Concentración de ácidos grasos (%) de salamis (lote 3) durante el periodo de fermentación-maduración adicionados o no de cultivo iniciador (*Pediococcus acidilactici*)**

Ácidos grasos	Periodo de fermentación-maduración (días)		
	1	5	10
Ác. Mirístico			
RLC C	1.31		
RLC C Pa	1.39		
RLC C c		1.34	1.23
RLC C Pa c		1.27	1.32
Ác. Palmítico			
RLC C	19.08		
RLC C Pa	18.3		
RLC C c		23.05	24.95
RLC C Pa c		21.92	21.68
Ác. 5-octadecenoico			
RLC C	51.33		
RLC C Pa	61.81		
RLC C c		64.1	60.88
RLC C Pa c		65.48	63.81
Ác. Esteárico			
RLC C	9.29		
RLC C Pa	9.12		
RLC C c		0	0
RLC C Pa c		0	0

**Tabla 8. Concentración de ácidos grasos (%) de salamis (lote 4) durante el periodo de fermentación-maduración adicionados o no de cultivo iniciador (*Pediococcus acidilactici*)**

Ácidos grasos	Periodo de fermentación-maduración (días)		
	1	5	10
Ác. Mirístico			
Salami c/Pa	1.11	1.13	0.51
Salami s/Pa	1.02	1.14	1.14
Ác. Palmítico			
Salami c/Pa	14.94	14.17	65.12
Salami s/Pa	13.9	27.58	24.17
Ác.5-octadecenoico			
Salami c/Pa	65.77	76.68	29.66
Salami s/Pa	65.26	59.6	61.46
Ác. Esteárico			
Salami c/Pa	8.46	0	4.34
Salami s/Pa	8.99	8.85	1.23

**Tabla 9. Concentración de AGS, AGI y AG totales (%) de salamis (lote 1) durante el periodo de fermentación-maduración adicionados o no de cultivos iniciadores de (*P. acidilactici* y *L. plantarum*)**

Ácidos grasos	Periodo de fermentación-maduración (días)		
	1	5	10
AGS			
RLs	27.42	29.27	34.16
RL Lb	14.78	17.42	35.84
RL Pa	20.68	30.32	19.96
RLCs	6.03	19.54	18.55
RLC Lb	9.3	29.08	19.01
RLC Pa	24.71	3.48	22.59
AGI			
RLs	51.95	58.63	55.72
RL Lb	22.92	61.15	55.19
RL Pa	41.57	64.15	52.62
RLCs	28.6	69.4	60.62
RLC Lb	60.81	63.8	54.57
RLC Pa	38.75	52.88	61.16
AG totales			
RLs	79.37	87.9	89.88
RL Lb	37.7	78.57	91.03
RL Pa	62.25	94.47	72.58
RLCs	34.63	88.94	79.17
RLC Lb	70.11	92.88	73.58
RLC Pa	63.46	56.36	83.75

**Tabla 10. Concentración de AGS, AGI y AG totales (%) de salamis (lote 2) durante el periodo de fermentación-maduración adicionados o no de cultivo iniciador (*P. acidilactici*)**

Ácidos grasos	Periodo de fermentación-maduración (días)		
	1	5	10
AGS			
RLC F	32.59		
RLC F Pa	20.94		
RLC F r		21.65	31.49
RLC F Pa r		33.73	26.76
RLC F c		25.65	24.64
RLC F Pa c		23.19	20.47
AGI			
RLC F	61.73		
RLC F Pa	63.76		
RLC F r		63.1	60.65
RLC F Pa r		62.88	59.17
RLC F c		61.07	60.21
RLC F Pa c		65.48	62.98
AG totales			
RLC F	94.32		
RLC F Pa	84.74		
RLC F r		84.75	92.14
RLC F Pa r		96.61	85.93
RLC F c		86.72	84.85
RLC F Pa c		88.67	83.45

**Tabla 11. Concentración de AGS, AGI y AG totales (%) de salamis (lote 3) durante el periodo de fermentación-maduración adicionados o no de cultivo iniciador (*P. acidilactici*)**

Ácidos grasos	Periodo de fermentación-maduración (días)		
	1	5	10
AGS			
RLC C	29.68		
RLC C Pa	28.81		
RLC C c		24.39	26.18
RLC C Pa c		23.19	23
AGI			
RLC C	51.33		
RLC C Pa	61.81		
RLC C c		64.1	60.88
RLC C Pa c		65.48	63.81
AG totales			
RLC C	81.01		
RLC C Pa	90.62		
RLC C c		88.49	87.06
RLC C Pa c		88.67	86.81

**Tabla 12. Concentración de AGS, AGI y AG totales (%) de salamis (lote 4) durante el periodo de fermentación-maduración adicionados o no de cultivo iniciador (*P. acidilactici*)**

Ácidos grasos	Periodo de fermentación-maduración (días)		
	1	5	10
AGS			
Salami c/Pa	24.51	15.3	69.67
Salami s/Pa	23.91	37.57	26.54
AGI			
Salami c/Pa	65.77	76.68	29.66
Salami s/Pa	65.26	59.6	61.46
AG totales			
Salami c/Pa	90.28	91.98	99.3
Salami s/Pa	89.17	95.17	88

## **Anexo C. Cromatogramas**

Chromatogram Plot  
Comment: HEXANO  
Retention: 41.59

C:\SATURN\DATA\M42  
Range: 1 to 2496  
Masses: 50-299

Date: 05/13/09 15:11:39  
100% = 220062088

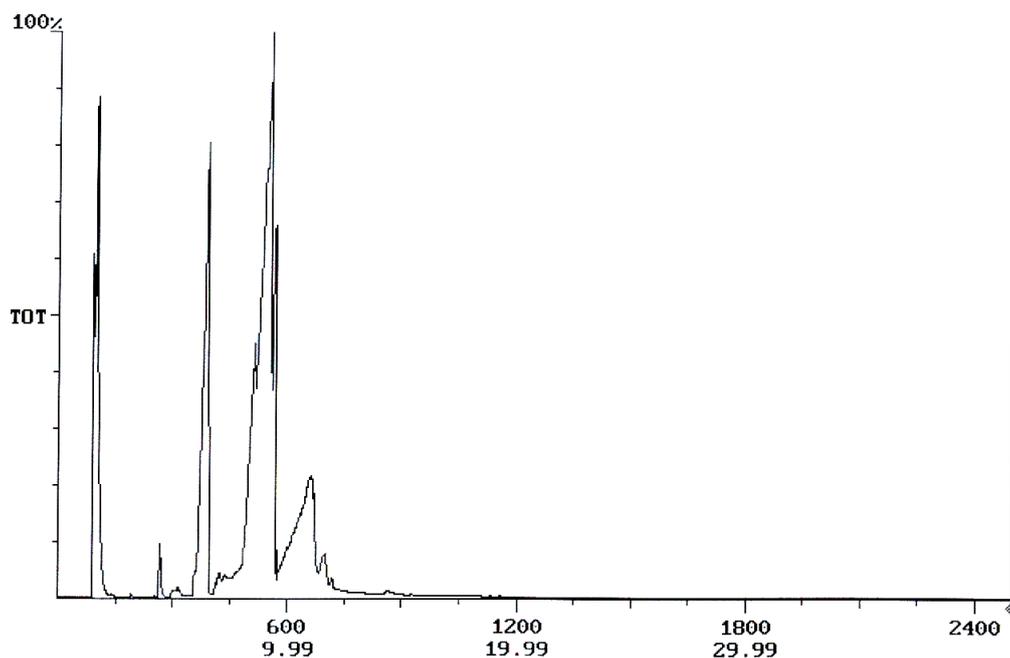


Figura 1. Cromatograma de Salami c/*Pediococcus acidilactici* día 1

Chromatogram Plot  
Comment: HEXANO  
Retention: 41.59

C:\SATURN\DATA\M43  
Range: 1 to 2496  
Masses: 50-299

Date: 05/13/09 15:58:48  
100% = 370405908

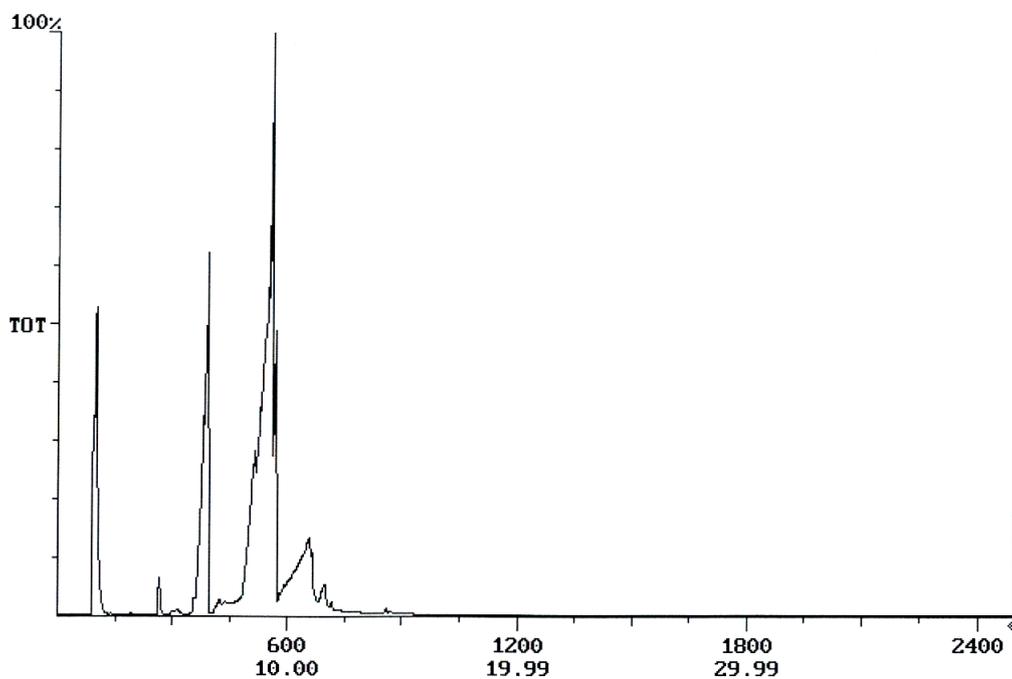


Figura 2. Cromatograma de Salami s/*Pediococcus acidilactici* día 1

Chromatogram Plot  
Comment: HEXANO  
Retention: 41.59

C:\SATURN\DATA\M44  
Range: 1 to 2496  
Masses: 50-299

Date: 05/13/09 16:44:26  
100% = 537500815

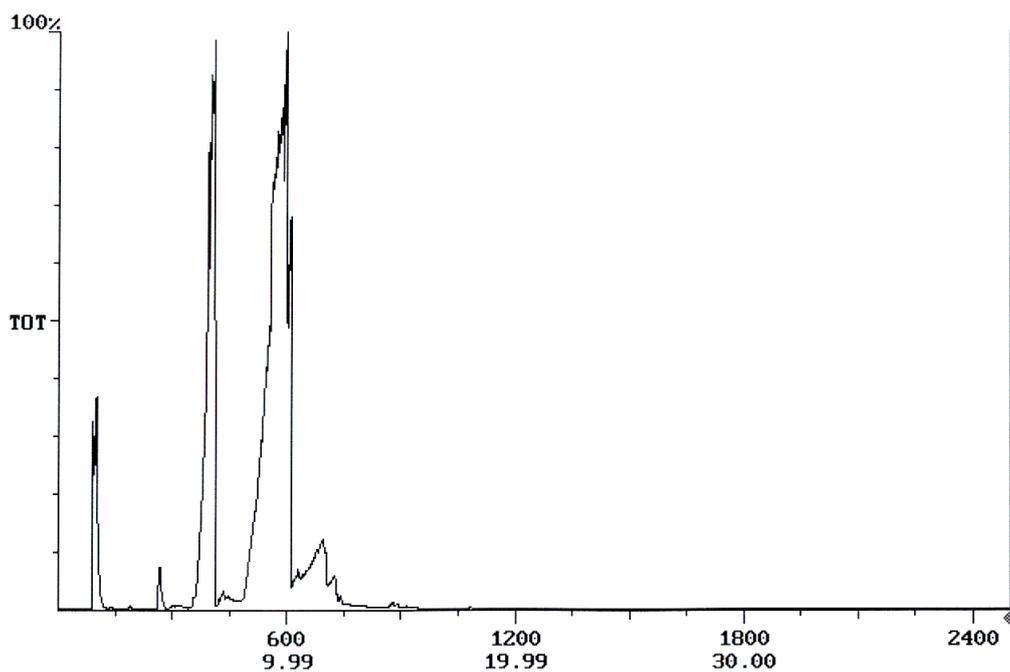


Figura 3. Cromatograma de Salami c/*Pediococcus acidilactici* día 5

Chromatogram Plot  
Comment: HEXANO  
Retention: 41.58

C:\SATURN\DATA\M45  
Range: 1 to 2495  
Masses: 50-299

Date: 05/13/09 17:30:07  
RIC: 154395  
100% = 395710850

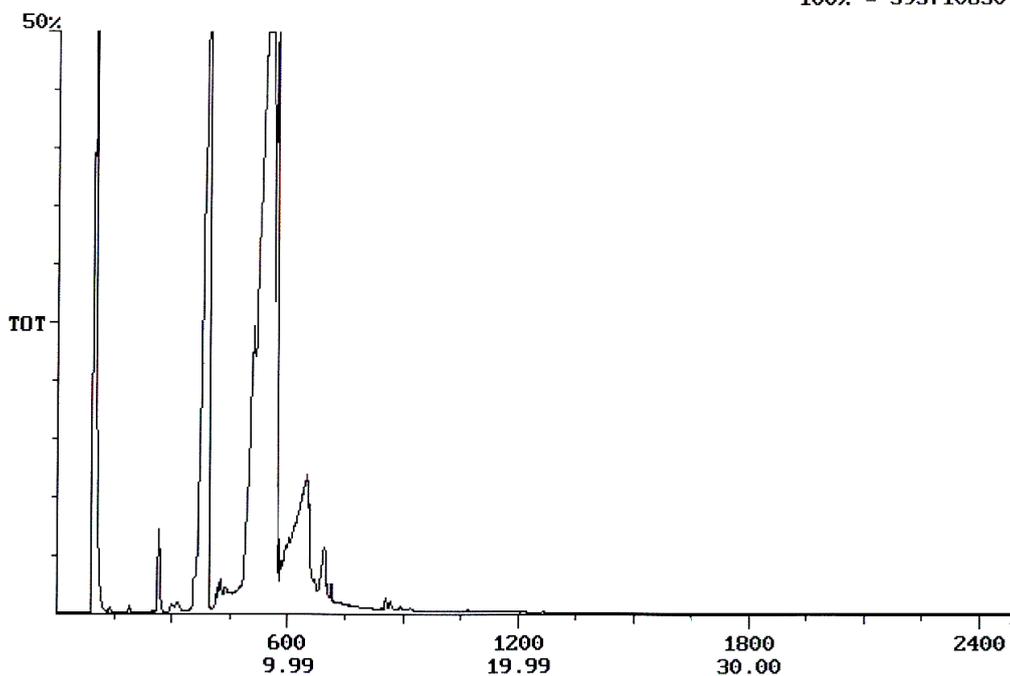


Figura 4. Cromatograma de Salami s/*Pediococcus acidilactici* día 5

Chromatogram Plot  
Comment: HEXANO  
Retention: 41.59

C:\SATURN\DATAM46  
Range: 1 to 2496  
Masses: 50-299

Date: 05/14/09 12:21:32  
100% = 206884197

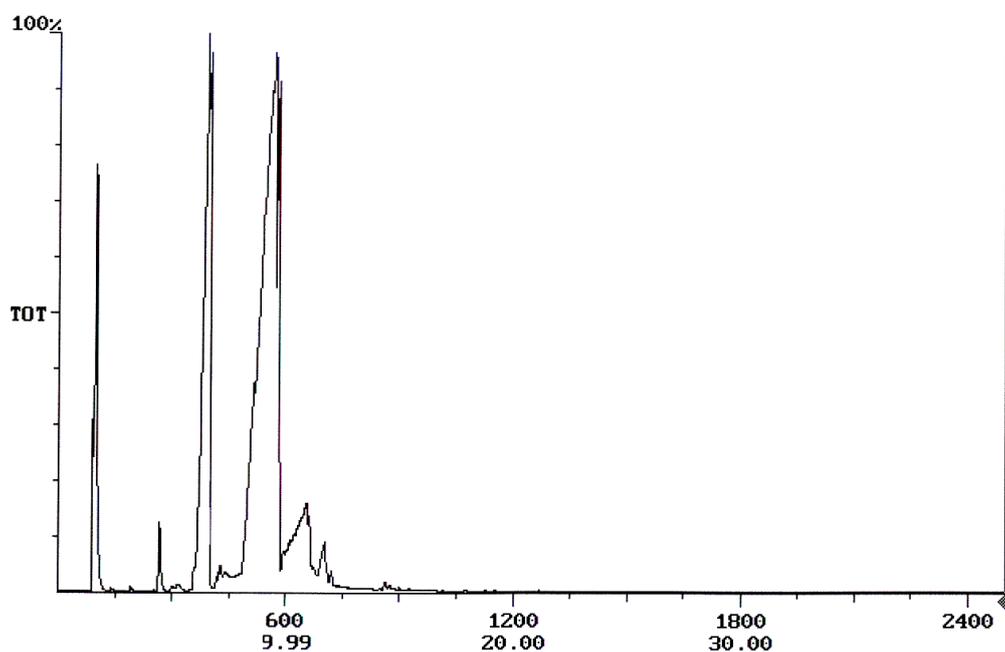


Figura 5. Cromatograma de Salami c/*Pediococcus acidilactici* día 10

Chromatogram Plot  
Comment: HEXANO  
Retention: 41.60

C:\SATURN\DATAM47  
Range: 1 to 2496  
Masses: 50-299

Date: 05/14/09 13:07:59  
RIC: 75566  
100% = 192782273

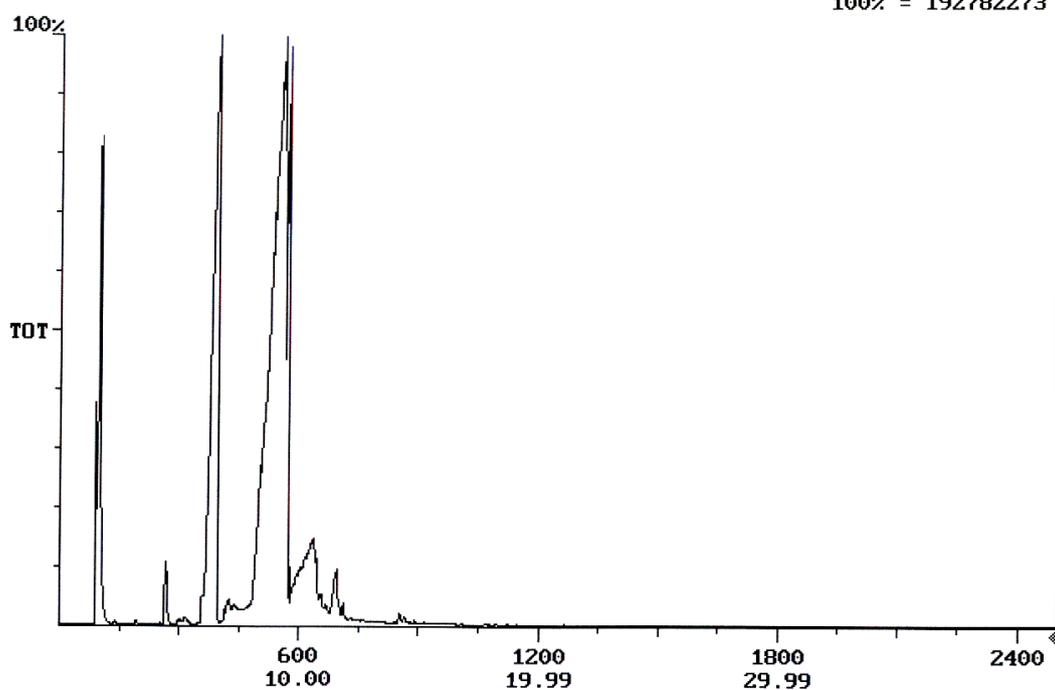


Figura 6. Cromatograma de Salami s/*Pediococcus acidilactici* día 10

**Anexo D. Espectros de Masa de los  
Esteres de AG correspondientes al  
lote 4**

Spectrum Plot  
Comment: HEXANO

C:\SATURN\DATA\M46

Date: 05/14/09 12:21:32

Scan: 274    Seq: 1    Group: 0    Retention: 4.56    RIC: 3845111    Masses: 50-257

# Pks: 142    Base Pk: 74    Int: 515701    100.00% = 515701

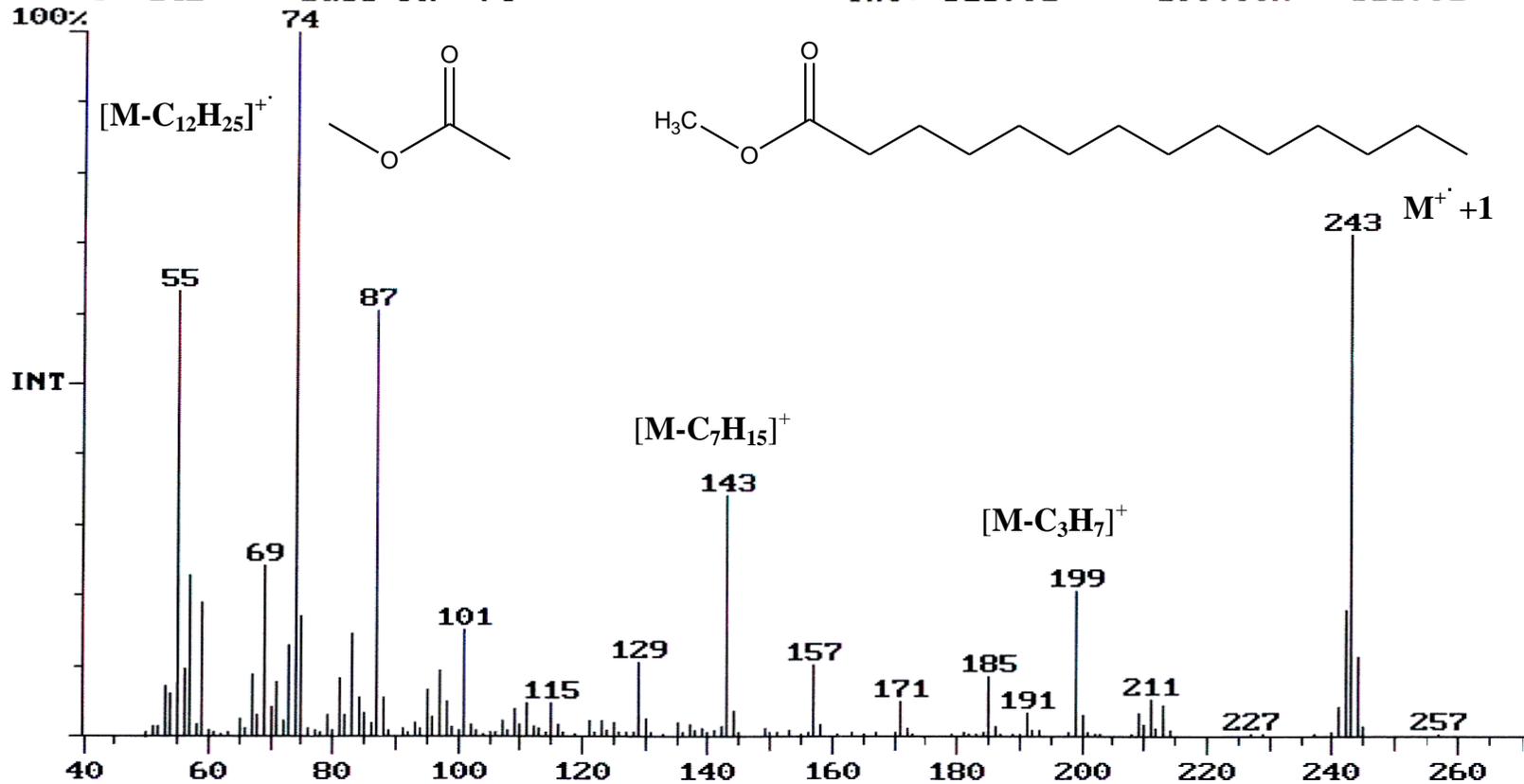


Figura 70. Espectro de masas del Ester metílico del Ác. Mirístico

Spectrum Plot  
Comment: HEXANO

C:\SATURN\DATA\M46

Date: 05/14/09 12:21:32

Scan: 401 Seg: 1 Group: 0 Retention: 6.68 RIC: 5279674 Masses: 50-299  
# Pks: 216 Base Pk: 74 Int: 515819 100.00% = 515819

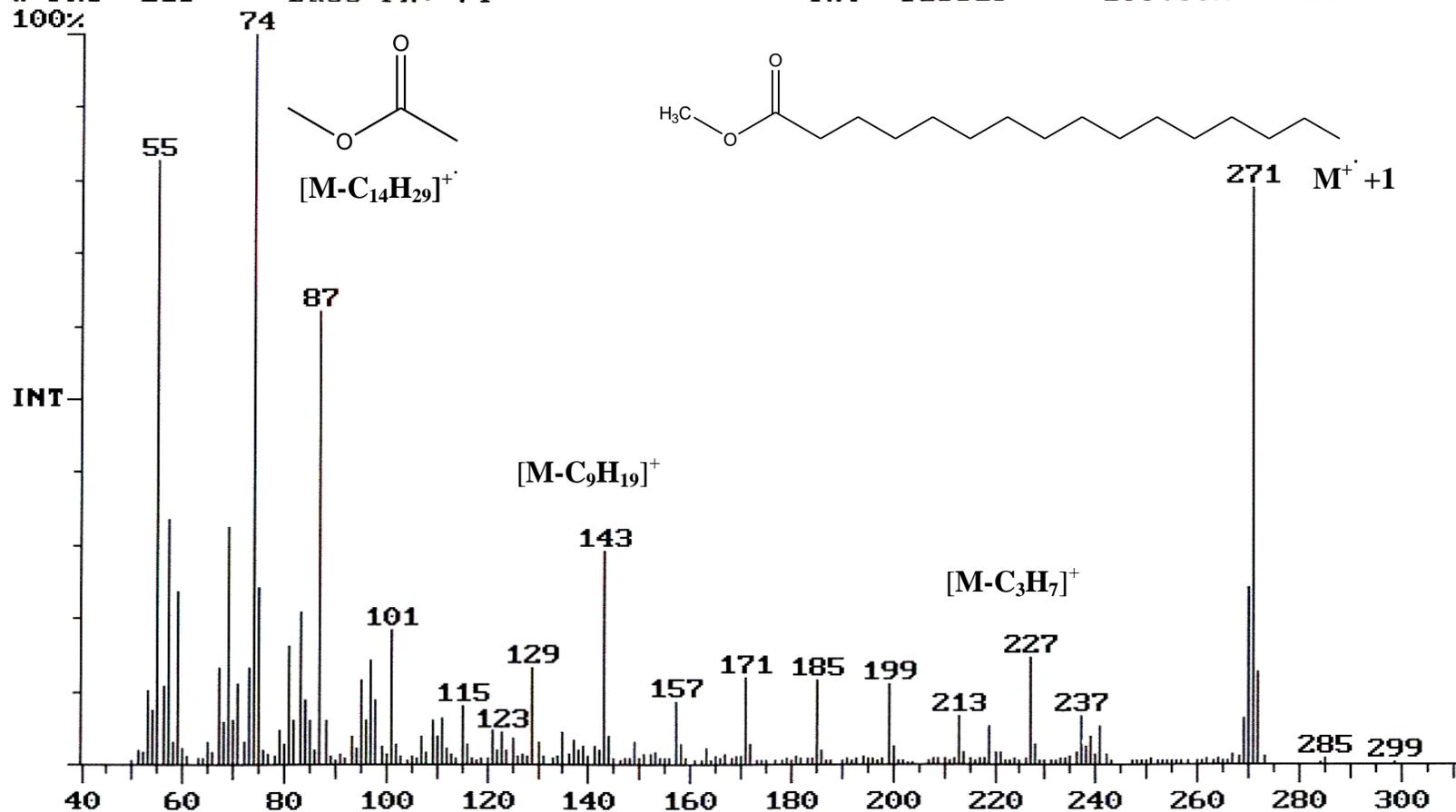


Figura 71. Espectro de masas del Ester metílico del Ác. Palmítico

Spectrum Plot  
Comment: HEXANO

C:\SATURN\DATA\M46

Date: 05/14/09 12:21:32

Scan: 526    Seg: 1    Group: 0    Retention: 8.76    RIC: 91868038    Masses: 50-300  
# Pks: 251    Base Pk: 297    Int: 3435182    100.00% = 3435182

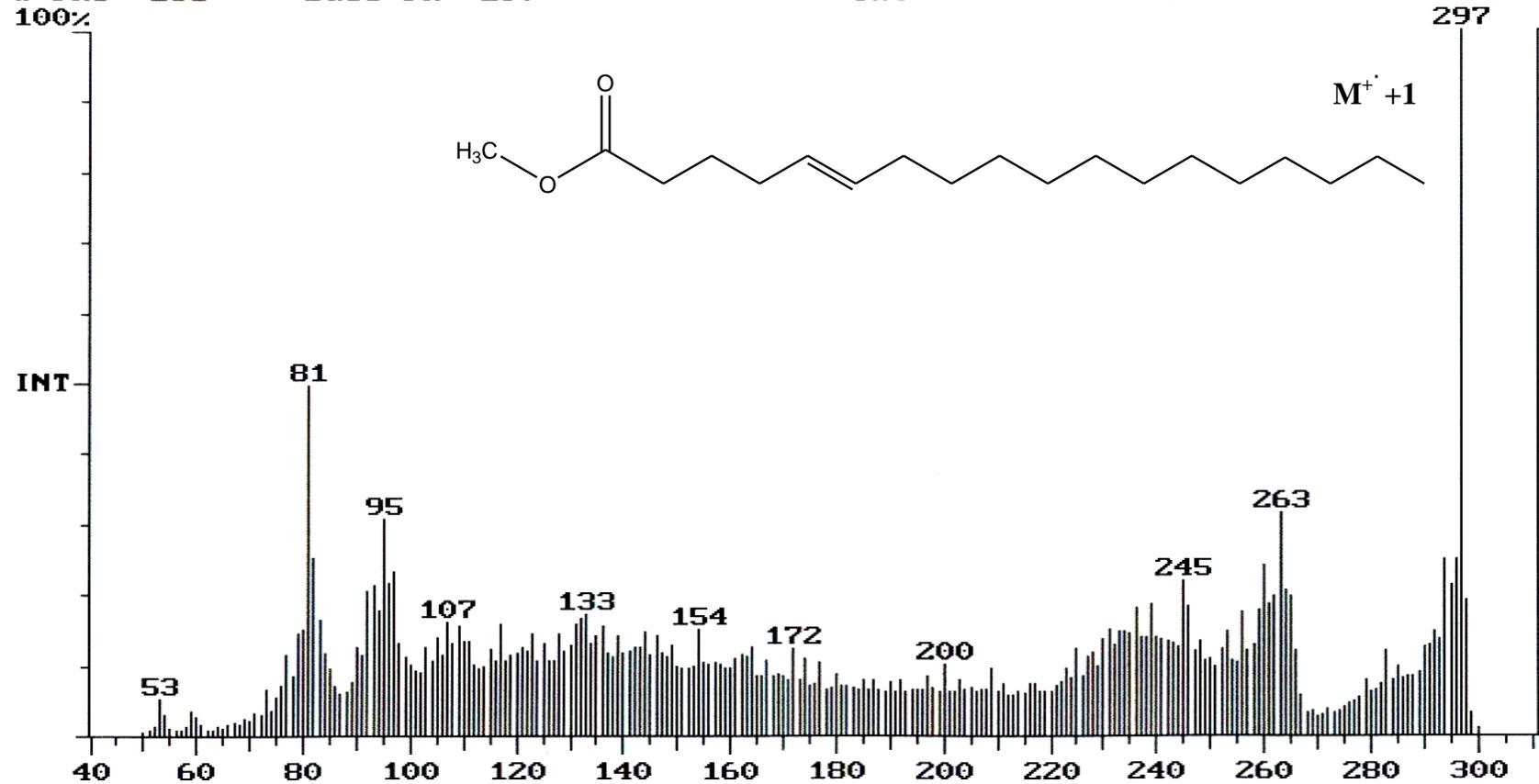


Figura 72. Espectro de masas del Ester metílico del Ác. 5-octadecenoico

Spectrum Plot  
Comment: HEXANO  
Scan: 576    Seq: 1    Group: 0    Retention: 9.59    RIC: 150587736    Masses: 50-300  
# Pks: 251    Base Pk: 299    Int: 7812723    100.00% = 7812723

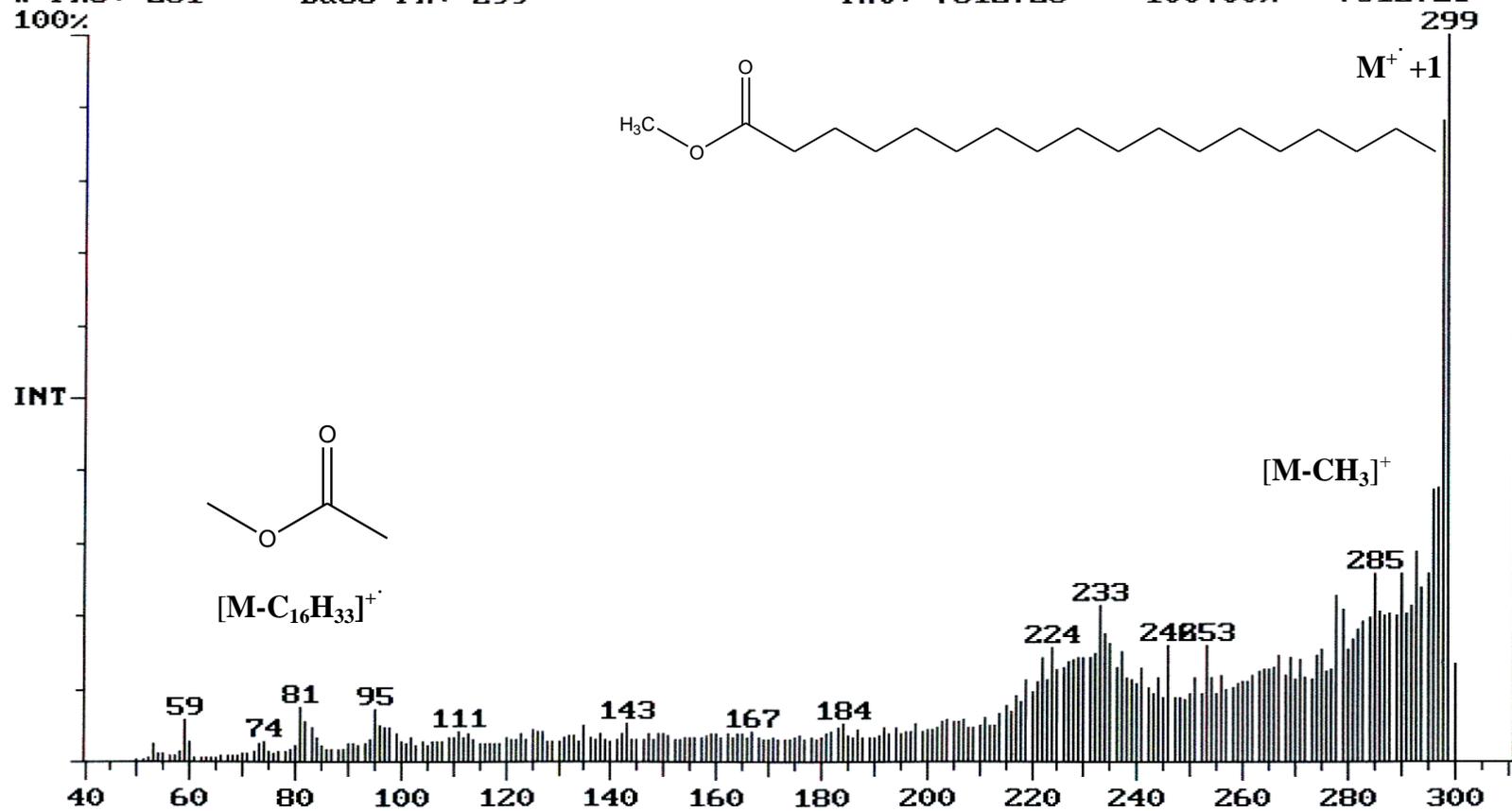


Figura 73. Espectro de masas del Ester metílico del Ác. Esteárico