

UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA



CENTRO DE POSTGRADOS

MAESTRÍA EN AGROINDUSTRIA

MENCIÓN SISTEMAS AGROINDUSTRIALES

Proyecto de Innovación previo a la obtención del título de:

MAGÍSTER EN AGROINDUSTRIA

TEMA: EVALUACIÓN DE POLIFENOLES DE LA ALMENDRA DE *Theobroma cacao* L. COMO ANTIOXIDANTE NATURAL EN CHORIZO FRESCO.

AUTOR: Ing. Luis Antonio Silva Daquilema

DIRECTOR: Dr.C. Manuel Pérez Quintana, PhD.

CO-DIRECTOR DEL PROYECTO: Dr. C. Luis Ramón Bravo Sánchez, PhD.

PUYO – ECUADOR

2019

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Luis Antonio Silva Daquilema** con cédula de identidad **0603951245**, declaro ante las autoridades educativas de la Universidad Estatal Amazónica, que el contenido del Proyecto de Innovación titulado: **“EVALUACIÓN DE POLIFENOLES DE LA ALMENDRA DE *Theobroma cacao* L. COMO ANTIOXIDANTE NATURAL EN CHORIZO FRESCO”**, es absolutamente original, auténtico y personal.

En tal virtud y según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente, certifico libremente que los criterios y opiniones que constan en el Proyecto de Innovación son de exclusiva responsabilidad de mi autoría; y que los resultados expuestos pertenecen a la Universidad Estatal Amazónica.

Ing. Luis Antonio Silva Daquilema

C.I. 0603951245

AUTOR



UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA
CENTRO DE POSTGRADOS
AVAL DEL DIRECTOR

Quien suscribe **Dr. C. MANUEL PÉREZ QUINTANA, PhD**, director del trabajo de titulación y **Dr. C. LUIS RAMÓN BRAVO SÁNCHEZ, PhD**, co-director del trabajo de titulación, modalidad Proyecto de innovación titulado: **“EVALUACIÓN DE POLIFENOLES DE LA ALMENDRA DE *Theobroma cacao* L. COMO ANTIOXIDANTE NATURAL EN CHORIZO FRESCO”**, a cargo del Ing. Luis Antonio Silva Daquilema, egresado de la primera cohorte de la Maestría en Agroindustria Mención Sistemas Agroindustriales de la Universidad Estatal Amazónica.

Certificamos haber acompañado el proceso de elaboración del proyecto de innovación y considero cumple los lineamientos y orientaciones establecidas en la normativa vigente de la institución por lo que se encuentra listo para ser sustentado.

Por lo antes expuesto, se avala el presente proyecto de innovación para que sea presentado ante el Centro de Postgrados, como forma de titulación como Magister en Agroindustria, Mención Sistemas Agroindustriales y que dicha instancia considere el mismo a fin de que se tramite lo que corresponda.

Atentamente,

Dr. Manuel Pérez Quintana, PhD.

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Luis Ramón Bravo Sánchez, PhD.

CO-DIRECTOR DE TESIS

CERTIFICADO DE APROBACIÓN POR EL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

**EL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN DEL PROYECTO DE
INNOVACIÓN CERTIFICA QUE:**

El presente trabajo: “**EVALUACIÓN DE POLIFENOLES DE LA ALMENDRA DE
Theobroma cacao L. COMO ANTIOXIDANTE NATURAL EN CHORIZO FRESCO**”,
bajo la responsabilidad del egresado Ing. Luis Antonio Silva Daquilema, ha sido
meticulosamente revisado, autorizando su presentación:

MIEMBROS DEL TRIBUNAL

.....
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL
Dr. C. YASIEL ARTEAGA

.....
MIEMBRO DEL TRIBUNAL
Dr. C. REINIER ABREU

.....
MIEMBRO DEL TRIBUNAL
Msc. MÓNICA PAULINA ECHEVERRÍA

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Estatal Amazónica, por acobijarnos durante el transcurso de la maestría y brindar los recursos teóricos – prácticos necesarios para un buen desarrollo formativo profesional y humano.

A todos los docentes que nos han brindado sus experiencias y conocimientos. De manera especial quiero agradecer al Dr. Manuel Pérez Quintana, por su motivación y dedicación que han permitido cumplir con esta investigación y al Dr. Luis Bravo quien ha sido un pilar fundamental para lograrlo.

A mis familiares por su apoyo incondicional, especialmente a mis padres quienes me han apoyado siempre para una superación basado en la humildad.

Para mis compañeros que confiaron en mí y demás personas que me han colaborado y acompañado para culminar los estudios y el proyecto.

DEDICATORIA

“El presente trabajo de titulación va dedicado a mis padres Luis Silva y Martha Daquilema, por su apoyo sin límites, por haberme inculcado a la superación con principios y valores, ustedes son los pilares de mi vida.

A mi ahijado y sobrino Juanpi que es la persona que más quiero, a mi hermana Paola por su ejemplo de transparencia y trabajo y a mi amada esposa Mary quien me brindó la seguridad para poder lograr este objetivo”.

RESUMEN EJECUTIVO

Se evaluó un extracto polifenólico hidroalcohólico de la almendra de *Theobroma cacao* L. como antioxidante natural en chorizo fresco. El propósito de la investigación fue formular el producto incorporando 2, 4 y 6% del extracto para mejorar el tiempo de conservación. Se determinó el porcentaje adecuado mediante pruebas bromatológicas, microbiológicas, sensoriales, evaluación de la actividad polifenólica y antioxidante en función del tiempo por diferentes métodos (Folin-Ciocalteu y FRAP respectivamente), los efectos fueron comparados junto a un tratamiento testigo. Los resultados determinaron que el 4% de adición de polifenoles brinda mejores características bromatológicas y físico-químicas. El análisis microbiológico para recuento de aerobios mesófilos, coliformes totales y presencia de *E. coli*; en el caso de bacterias aerobias mesófilas existe un decrecimiento en el transcurso del tiempo (30 días) en todos los tratamientos. La evaluación de actividad polifenólica señala que todas las dosis incorporadas al producto tienen tendencia a subir niveles de polifenoles totales. Al incorporar 6% de polifenoles existe incremento de la actividad polifenólica y por ende actividad antioxidante. La evaluación de actividad antioxidante por el método FRAP, determinó que en el producto con la incorporación de 2%, 4% y 6% existe importante actividad antioxidante. Esta evaluación se corrobora con la valoración sensorial al observar que el producto con el 4% presenta mejores características organolépticas (olor y apariencia). En la evaluación sensorial, la formulación de chorizo fresco con el 4% de polifenoles de la almendra de *Theobroma cacao* L., presenta las mejores cualidades organolépticas. En el análisis bromatológico, la proteína presenta una mayor concentración en los tratamientos con el 2 y 6% de polifenoles incorporados.

Palabras clave: *Theobroma cacao* L., polifenoles, actividad polifenólica, actividad antioxidante, chorizo fresco.

ABSTRACT

A hydroalcoholic polyphenolic extract of the *Theobroma cacao* L. almond is evaluated as a natural antioxidant in fresh sausage. The purpose of this research was to formulate the fresh sausage with the incorporation of 2,4 and 6% of the extract to improve the conservation time. The appropriate percentage was determined through bromatological, microbiological and sensory tests, as well as with the evaluation of antioxidant activity, as a function of time, by different methods (Folin-Ciocalteu, FRAP). The results determined that the 4% addition of polyphenols provides better bromatological and physico-chemical characteristics. In the microbiological analysis for mesophilic aerobic counts, total coliforms and presence of *E. coli*; in the case of aerobic mesophilic bacteria there is a decrease in the course of time in all treatments. The evaluation of polyphenolic activity indicates that all polyphenols doses incorporated into the product have a tendency to raise the total polyphenols levels in fresh chorizo. By incorporating 6% polyphenols there is an increase in polyphenolic activity and therefore antioxidant activity. The evaluation of antioxidant activity by the FRAP method, determined that the final product incorporating 2%, 4% and 6% exists important antioxidant activity. This evaluation is corroborated with the sensory evaluation when it is seen that the product with 4% presents better organoleptic characteristics (smell and appearance). In the sensorial evaluation, the fresh sausage formulation with the addition of 4% polyphenols from the *Theobroma cacao* L. almond presents the best organoleptic qualities, with greater acceptability of the product in consumers.

Key words: *Theobroma cacao* L., polyphenols, polyphenolic activity, antioxidant activity, fresh sausage.

TABLA DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	6
2.1. PRODUCTOS CÁRNICOS. EMBUTIDOS.....	6
2.1.1. Definición.....	6
2.1.2. Clasificación de los productos cárnicos.....	7
2.2. CHORIZO	10
2.2.1. Materias primas	11
2.2.2. Proceso de elaboración de chorizo	15
2.2.3. Composición bromatológica	16
2.3. CACAO (<i>Theobroma cacao</i> L.)	17
2.3.1. Origen	17
2.3.2. Propiedades físico-químicas del cacao.....	17
2.4. POLIFENOLES.....	19
2.5. ANTIOXIDANTES	20
CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS	22
3.1. LOCALIZACIÓN	22
3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN	22

3.3. MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN.....	22
3.4. TRATAMIENTO DE DATOS.....	23
3.4.1. Identificación de variables.....	23
3.4.2. Muestreo.....	23
3.4.3. Análisis microbiológico.....	24
3.4.4. Determinación de compuestos polifenólicos.....	26
3.4.5. Determinación de la actividad antioxidante.....	27
3.4.6. Análisis bromatológico.....	28
3.4.7. Análisis sensorial.....	32
3.4.8. Herramienta estadística.....	33
3.5. RECURSOS MATERIALES.....	33
3.5.1. Materias primas.....	33
3.5.2. Equipos y materiales empleados en la elaboración del producto.....	34
3.5.3. Formulación del chorizo fresco.....	34
3.5.4. Procedimiento.....	35
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	37
4.1. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	37
4.2. ACTIVIDAD POLIFENÓLICA.....	39

4.3. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	40
4.4. ANÁLISIS BROMATOLÓGICO	41
4.5. ANÁLISIS SENSORIAL.....	42
CONCLUSIONES	44
RECOMENDACIONES.....	45
BIBLIOGRAFÍA	46
ANEXOS	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de diferentes carnes (100g).....	12
Tabla 2. Requisitos bromatológicos para los productos cárnicos crudos	16
Tabla 3. Materias primas y su origen.....	33
Tabla 4. Formulación en la elaboración de chorizo fresco	35
Tabla 5. Recuento microbiológico del chorizo en el día 1 y después de 30 días.	37
Tabla 6. Resultados de la actividad polifenólica por el método Folin – Ciocalteu (mg eq. ácido gálico.kg ⁻¹).	39
Tabla 7. Actividad antioxidante por el método de FRAP (mg eq. TROLOX.kg ⁻¹).	41
Tabla 8. Análisis bromatológico	42
Tabla 9. Resultados de la evaluación sensorial	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Productos cárnicos elaborados o semielaborados.....	7
Figura 2. Producto cárnico crudo. Chorizo	10
Figura 3. Proceso de elaboración de chorizo	15
Figura 4. Núcleo estructural de los principales grupos de flavonoides. Se señalan ejemplos de algunos compuestos que son característicos de cada grupo.....	19
Figura 5. Diagrama de flujo para la elaboración de chorizo fresco con polifenoles de <i>Theobroma cacao</i> L. como antioxidante natural.	36
Figura 6. Presencia de colonias de Coliformes totales en chorizo con extracto hidroalcohólico de cacao.....	39

ÍNDICE DE ANEXOS

<i>Anexo 1. Proceso de elaboración del chorizo</i>	<i>53</i>
--	-----------

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

Durante años se han desarrollado diversas estrategias para prevenir el deterioro oxidativo en productos de origen cárnico mediante el empleo de antioxidantes. La mayoría de estas estrategias se han centrado en limitar el acceso del oxígeno a los componentes de la carne susceptibles de sufrir fenómenos de oxidación como lípidos y proteínas. Al mismo tiempo se han desarrollado nuevos métodos de almacenamiento como el envasado al vacío o el envasado en atmósfera modificada con el fin de prevenir la aparición de fenómenos de oxidación en el producto final (Armenteros *et al.*, 2012).

Las industrias cárnicas emplean técnicas para evitar problemas de oxidación, el empaclado al vacío, envases con atmósfera modificada, tratamientos térmicos y empleo de antioxidantes naturales y artificiales prolongan el deterioro de las materias primas (Farías *et al.*, 2013). Los antioxidantes son sustancias que se adicionan a los alimentos de origen cárnico para evitar el “enranciamiento”, problema que origina decoloración, sabor desagradable y produce elementos nocivos para la salud (Valenzuela *et al.*, 2016).

Los polifenoles son sustancias propias de las plantas y tienen por objeto protegerlas del ataque de microorganismos, atraer insectos polinizadores etc. (Castillo *et al.*, 2015). Es decir, son sustancias que ayudan a las plantas en su relación con el medioambiente que les rodea.

Los polifenoles son compuestos provenientes del metabolismo secundario de las plantas y se encuentran naturalmente en alimentos y bebidas de origen vegetal. Desde el punto de vista químico se caracterizan por la presencia de uno o más anillos tipo benceno. Ellos se relacionan directamente con algunas características de los alimentos como son el sabor, color, la palatabilidad y el valor nutricional. Entre estos compuestos se encuentran los ácidos fenólicos y flavonoides como el ácido cumárico y la quercetina y los taninos, entre los cuales el más activo biológicamente es la epicatequina. Estos fenoles con peso molecular relativamente alto tienen un poder antioxidante 20 veces más fuerte que la vitamina E (Weisburger, 2001).

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es un árbol originario de México cuyo fruto contiene 30 ó 40 granos o semillas. Weisburger (2001) menciona que los productos del grano del cacao son ricos en antioxidantes específicos, con la estructura básica de las catequinas y epicatequinas; polifenoles similares a los encontrados en los vegetales y el té.

Hernández y González (2002) afirman que las catequinas y procianidinas aisladas del cacao tienen fuertes propiedades antioxidantes *in vitro*, como lo demuestra al comparar las catequinas del chocolate con las del té, con respecto a las cuales muestran un efecto antioxidante 4 veces mayor. La incorporación de estas sustancias en carnes y productos cárnicos permite reducir fenómenos oxidativos de lípidos y proteínas, su acción es proteger de la peroxidación a los ácidos grasos poliinsaturados de los fosfolípidos de la membrana celular y también inhibir la peroxidación de las lipoproteínas de baja densidad (Mesut *et al.*, 2015).

La mayoría de los alimentos que se consumen, principalmente frescos, han sido manipulados o transformados antes de llegar a la mesa, por lo que en general, si no se les aplica un sistema adecuado de conservación, la vida útil puede ser muy limitada. En este contexto, la carne ha de ser considerada como uno de los alimentos más perecederos. Las medidas de conservación han de aplicar junto tras el sacrificio del animal del cual proviene, con el objetivo de retrasar o prevenir ciertos cambios que degraden las características de calidad. Los modos de alteración son múltiples y pueden ser físicos, químicos o microbiológicos (Sánchez *et al.*, 2008).

La carne, en términos de calidad está estrechamente ligada a la conservación de su vida útil. Habitualmente se considera que la vida útil el tiempo durante el cual el producto permanece en su estado “aceptable”. Las exigencias actuales de vida útil de productos cárnicos deben exceder las 5 semanas; entendiéndose por vida útil el máximo tiempo de almacenamiento antes de que la carne pierda su calidad nutricional, sensorial y de seguridad alimenticia al nivel de ser rechazada por los consumidores (Masana *et al.*, 2007).

Una de las principales causas de pérdida de la calidad de la carne es la oxidación de los lípidos llamados también como proceso de enranciamiento y los cambios asociados a ella. Laguerre, Lecomte y Villeneuve (2007) argumentan que la oxidación de los lípidos es considerada como

un proceso complejo, en el que los ácidos grasos insaturados reaccionan con el oxígeno molecular vía un mecanismo de radicales libres, que forma hidroperóxidos, generalmente llamados peróxidos o productos primarios de la oxidación. Un radical libre es una especie química (molécula o átomo) que presenta al menos un electrón no apareado. La mayoría de los radicales libres son en extremo reactivos y tienden a asociarse “apareando” el electrón libre.

El enranciamiento de carnes y principalmente de grasas es ocasionado por el contacto prolongado de estas materias primas con el oxígeno. La grasa es un componente muy dinámico, se puede alterar mediante reacciones de oxidación, lo que repercute en las propiedades nutricionales y sensoriales (Aberle, 2002).

Las almendras de *Theobroma cacao* L., albergan un alto contenido de polifenoles y su empleo como antioxidante natural permite prolongar la vida de anaquel de productos cárnicos como el chorizo fresco, es una alternativa de aprovechamiento del cacao, un nuevo ingreso para los productores y una fuente importante para la elaboración de productos alimenticios funcionales.

Sustancias antioxidantes pueden ser utilizadas para minimizar el deterioro de los productos cárnicos y mejorar la vida útil de los mismos. Comúnmente se usan antioxidantes sintéticos (hidroxitoluenobutilado (BHT) y hidroxianisolbutilado (BHA). Para este propósito, sin embargo, la utilización de estos es limitada porque han sido asociados con problemas de toxicidad y efectos negativos sobre la salud, y además, los consumidores exigen cada vez más productos naturales o libres de aditivos (Valencia *et al.*, 2008). De esta manera nace la necesidad de buscar alternativas de productos antioxidantes naturales, que cumplan la misma función y sean menos perjudiciales para la salud, los polifenoles de *Theobroma cacao* L., previenen el deterioro oxidativo de la carne y grasa, materias primas en la elaboración del chorizo fresco e incorporan componentes antioxidantes, enriqueciendo nutricionalmente al producto como un alimento funcional.

Un alimento funcional es todo aquel alimento semejante en apariencia física al alimento convencional, consumido como parte de la dieta diaria, que, además de sus funciones nutricionales básicas, es capaz de producir efectos metabólicos o fisiológicos benéficos, útiles en el mantenimiento de una buena salud física y mental y puede ser considerado funcional si

contiene un componente (sea nutriente o no) con un efecto selectivo de una o varias funciones del organismo, cuyos efectos positivos justifican que sea visto como funcional (fisiológico) o incluso saludable como lo asegura Restrepo (2008).

Basado en estos antecedentes se formuló chorizo fresco incorporando antioxidantes de almendras de *Theobroma cacao* L., para mejorar el tiempo de conservación. Se determinó, en primera instancia, el porcentaje adecuado que brinde el mayor tiempo de conservación en percha, se evaluó la calidad mediante pruebas bromatológicas, microbiológicas, sensoriales y la actividad antioxidante en función del tiempo.

1.1. PROBLEMA CIENTÍFICO

¿Qué porcentaje de polifenoles de la almendra de *Theobroma cacao* L., permiten conservar eficazmente el chorizo fresco?

1.2. HIPÓTESIS

El empleo de antioxidantes de *Theobroma cacao* L. permite una mejor conservación del chorizo fresco.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo general

Formular chorizo fresco incorporando antioxidantes de almendras de *Theobroma cacao* L. para mejorar el tiempo de conservación.

1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar el porcentaje adecuado de polifenoles de la almendra de *Theobroma cacao* L. en la elaboración de chorizo fresco.
- Evaluar la calidad del chorizo mediante pruebas bromatológicas, microbiológicas y sensoriales.
- Evaluar la actividad polifenólica y antioxidante del producto en función del tiempo.

CAPÍTULO II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1. PRODUCTOS CÁRNICOS. EMBUTIDOS

2.1.1. Definición

El Instituto Ecuatoriano de Normalización INEN (2013) define a los alimentos cárnicos como producto elaborado a base de carne, grasa vísceras u otros subproductos de origen animal comestibles, con adición o no de sustancias permitidas, especias o ambas, sometido a procesos tecnológicos adecuados. Se considera que el producto cárnico está terminado cuando ha concluido todas las etapas de procesamiento y está listo para la venta.

Para el Codex Alimentarius (2000) los productos cárnicos son aquellos que contengan carne de mamíferos y/o aves de corral y/o caza destinada al consumo humano. Generalmente los productos cárnicos denominados también embutidos son alimentos que contienen carne de abasto, proveniente de animales libres de enfermedades y aptos para el consumo.

Müller y Ardoíno (2016) indica que lo que caracteriza a los embutidos es precisamente lo que su nombre indica: las materias primas se "embuten", es decir, se introducen en tripas naturales o artificiales, y después se someten a diferentes tratamientos tecnológicos: cocción, fermentación o curado. A pesar de su gran variedad, los embutidos tienen en común que son productos cárnicos preparados esencialmente con carne más o menos magra de diferentes especies animales, sobre todo cerdo, pero también vacuno o aves, a la que, además, suele añadirse una buena proporción de grasa de cerdo, fundamentalmente panceta. En algunos casos, también se añaden otras partes de los animales como la lengua, la sangre y otros despojos o vísceras. En función del tipo de producto, también se le añaden otros ingredientes como sal, azúcares, pimienta, pimentón u otras especias y, en mucha menor proporción, pueden contener almidones, proteínas de soja o de leche y aditivos autorizados.

2.1.2. Clasificación de los productos cárnicos.

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura FAO (2014) manifiesta que a lo largo del tiempo se han ido desarrollando en todo el mundo una enorme variedad de productos cárnicos elaborados o semielaborados con diferentes características gustativas. En algunas regiones existen cientos de productos cárnicos distintos, como se muestra en la figura 1, con nombres y sabores diferentes.



Figura 1. Productos cárnicos elaborados o semielaborados

Pese a la diversidad de formas y sabores, muchos de estos productos usan tecnologías de elaboración similares. Estos productos pueden clasificarse como sigue:

- a. **Productos cárnicos procesados crudos:** Estos productos consisten en carne cruda y tejido adiposo a los que se añaden especias, sal común y, a veces, aglutinantes. En los productos a bajo costo se añaden diluyentes o relleno para aumentar el volumen. Los productos se comercializan como productos cárnicos crudos, si bien para resultar apetitosos han de someterse a fritura o cocción antes de su consumo. Si las mezclas de carne fresca se embuten en tripas, el producto se conoce como salchicha. Si es habitual otra distribución, los productos se conocen como “hamburguesa” o como “kebab”. Algunos productos crudos típicos son: longaniza, bratwurst, embutido para el desayuno, hamburguesa o suflaki (FAO, 2014).
- b. **Productos cárnicos curados:** En estos productos se usan las partes del músculo. Pueden subdividirse en carnes curadas crudas y carnes curadas cocidas. El proceso de curado es similar para ambos tipos. La carne se trata aplicando pequeñas cantidades de sal bien por vía seca, bien inyectando la carne y/o sumergiéndola en una solución salina. Las carnes curadas crudas son productos sometidos a curación, secado, fermentación y maduración sin tratamiento térmico posterior. Generalmente, se consumen crudos. Productos típicos de este grupo son el jamón serrano o el jamón de Parma. Las carnes curadas cocidas se someten siempre a tratamiento térmico después de un breve proceso de curación a fin de obtener la palatabilidad deseada. Productos típicos de este grupo es el jamón de York o el jamón tipo Virginia (FAO, 2014).
- c. **Productos cárnicos crudos-cocidos:** En este grupo de productos, la carne del músculo, la grasa y otros ingredientes no cárnicos se elaboran primero mediante triturado, picado y mezclado. Se obtiene así una masa viscosa, que se distribuye en salchichas o en forma de barras y se somete después a tratamiento térmico, lo que da como resultado la coagulación de las proteínas, una textura firme y elástica, palatabilidad y un cierto grado de estabilidad bacteriana. Las salchichas suelen someterse a un proceso de cocción o a un baño de vapor y, cuando están embutidas en tripas permeables, también a un proceso de ahumado en caliente. Las barras generalmente se hornean. Productos típicos de este grupo son la mortadela, los perritos

calientes, las salchichas de Frankfurt, las salchichas de Viena y las albóndigas o pasteles de carne (FAO, 2014).

- d. **Productos cárnicos precocinados-cocinados:** Estos productos pueden contener mezclas de recortes de músculo de calidad inferior, tejidos adiposos, carne de la cabeza y piel del animal, hígado y otras partes comestibles. En general, el proceso de fabricación comprende dos fases de tratamiento térmico. La primera fase consiste en el precocinado de los materiales cárnicos crudos y la segunda en la cocción de la mezcla resultante final. Los productos cárnicos precocinados-cocinados son los que hacen uso de la mayor variedad de carnes, subproductos animales e ingredientes no cárnicos. Productos típicos de este grupo son los patés de hígado, las morcillas y carne tipo “cornedbeef” (FAO, 2014).

- e. **Embutidos crudos-fermentados:** Los embutidos crudos-fermentados consisten en una masa de carnes magras y tejidos adiposos mezclada con sal de curado, azúcares, especias y otros ingredientes no cárnicos, que suele embutirse en tripas. Su sabor, textura y color característicos se deben a la fermentación unida a la reducción de la humedad. Los productos finales no se someten a tratamiento térmico y se distribuyen y consumen crudos. Productos típicos de este grupo son el chorizo y las salchichas de verano tipo salami (FAO, 2014).

- f. **Productos cárnicos secos:** Estos productos son el resultado de la simple deshidratación de carne magra. Su elaboración se basa en la experiencia de que la carne no se deteriora fácilmente cuando una parte sustancial del fluido tisular evapora. Las piezas de carne magra se cortan en su mayor parte dándoles una forma uniforme determinada, lo que permite una deshidratación gradual e idéntica de todas las partidas. La carne seca tiene una vida útil significativamente más larga que la carne fresca. El valor nutricional del contenido en proteínas permanece inalterado. Productos típicos de este grupo son las tiras de carne como el jerky o el “biltong”, el charqui o la pastirma (FAO, 2014).

2.2. CHORIZO

Se entiende por chorizo la mezcla de carnes picadas o troceadas de cerdo o de cerdo y vacuno y tocino y/o grasa de cerdo, adicionada de sal, pimentón y otras especias condimentos y aditivos autorizados, amasada y embutida en tripas naturales, por lo general es un producto cárnico crudo (figura 2), pero puede tener procesos de maduración-deseccación, con o sin ahumado, que se caracteriza por su coloración roja (con excepción de los denominados chorizos blancos) y por su olor y sabor característico (Moreno, 2015).



Figura 2. Producto cárnico crudo. Chorizo

FAO (2017) señala que existen diferentes clases y técnicas de elaboración dependiendo de los gustos de cada país, sin embargo, los condimentos comunes son la sal, el ajo, especias y chiles. En términos generales se les puede clasificar en cuatro categorías: de primera o especial hechos con lomo o jamón puros; de segunda o categoría industrial, que contienen 50% de lomo o jamón de cerdo y 50% de carne de ternera; la tercera, elaborada con un 75% de carne de vacuno y 25% de cerdo; de cuarta o tipo económico, que lleva carne de vacuno, otros tipos de carne o sustitutos de carne, adicionadas con grasa de cerdo. En algunos países el chorizo se vende en forma cruda requiriéndose una etapa de freído antes de su consumo. No obstante, en el procedimiento tradicional el chorizo es desecado y ahumado, proceso en que la actividad acuosa se disminuye hasta un punto en que se impide el crecimiento microbiano

(0.60 - 0.75). Durante el desecado ocurre la maduración del producto, que es un fenómeno bioquímico y microbiano muy complejo, donde se presentan tres fenómenos importantes: el enrojecimiento, el aumento de consistencia y la aromatización.

2.2.1. Materias primas

- a. **Carne.** -la carne fresca es el músculo proveniente del faenamiento de animales de abasto, aptos para la alimentación humana, sacrificados recientemente sin haber sufrido ningún tratamiento destinado a prolongar su conservación salvo la refrigeración. En términos generales la carne tiene una composición química de aproximadamente 75 % de agua un 18 % de proteína, un 3.5 % de sustancias no proteínicas solubles y un 3 % de grasas, sin embargo, es preciso tener en cuenta que la carne es un reflejo post - mortem de un complicado sistema biológico constituido fundamentalmente por tejidos muscular y que este último se haya diferenciado de acuerdo a la función que desempeña en el organismo (Mateos, 2001).

El Codex Alimentarius (2000) define la carne como “todas las partes de un animal que han sido dictaminadas como inocuas y aptas para el consumo humano o se destinan para este fin”. Sin embargo, normalmente se denomina carne al músculo esquelético de los animales de sangre caliente, producidos principalmente por las técnicas ganaderas modernas y en parte por la caza. Además del músculo son productos cárnicos: la sangre, grasa, vísceras, huesos, etc., de los animales, que se utilizan para elaborar varios tipos de alimentos y algunos productos industriales como la gelatina.

En relación a la composición química de la carne, Hernández (2010) señala que se compone de agua, proteínas y aminoácidos, minerales, grasas y ácidos grasos, vitaminas y otros componentes bioactivos, así como pequeñas cantidades de hidratos de carbono. La composición química de la carne varía según distintos factores, tales como, especie, raza, alimentación, edad, sexo y zona anatómica. La composición de la carne magra es

relativamente constante en una amplia diversidad de animales. En la tabla 1 se indica la composición química de diferentes carnes, vísceras y cortes.

Tabla 1. Composición química de diferentes carnes (100g).

CARNES	CALORÍAS (Kcal)	HUMEDAD (g)	PROTEÍNA (g)	GRASA (g)	GS (g)	GMI (g)	GPI (g)	COLESTEROL (mg)
Carne de vacuno	174	65	23,6	5,7	2,1	2,4	0,2	69
Carne de cordero	258	58	25,5	16,5	6,9	7,0	1,2	93
Carne de cerdo	293	53	25,1	20,7	7,5	9,5	2,3	93
Carne de pollo	176	67	27,3	6,7	1,8	2,4	1,5	83

*GS: Grasa saturada; GMI: Grasa Monoinsaturada; GPI: Grasa Poliinsaturada

Fuente: Porciones de intercambio y Composición Química de los Alimentos de la Pirámide Alimenticia Chilena, INTA. 2000.

- b. **Grasa de cerdo.**-La grasa puede entrar a formar parte de la masa del embutido bien infiltrada en los magros musculares, o bien añadida en forma de tocino. Se trata de un componente esencial de los embutidos, ya que les aporta determinadas características que influyen de forma positiva en su calidad sensorial (Cabrera,2013).

Es importante la elección del tipo de grasa, ya que una grasa demasiado blanda contiene demasiados ácidos grasos insaturados que aceleran el enranciamiento y con ello la presentación de alteraciones de sabor y color, motivando, además, una menor capacidad de conservación.

- c. **Hielo.**-El hielo es un elemento clave en la elaboración de productos cárnicos al permitir controlar la temperatura del proceso e influir en la correcta mezcla o emulsión, es recomendable trabajar con la mitad de hielo y la otra parte de agua. Jaramillo (2018) señala que la combinación de hielo – agua permite una transferencia de calor, los cristales formados de hielo comienzan a formarse durante el punto de enfriamiento del producto. El punto de congelación del producto es determinado por el contenido de grasa, la cantidad de agua agregada y la cantidad de solutos iónicos agregados (sal, nitritos, etc.), factores claves para la elaboración de productos cárnicos. El agua dentro

de los productos cárnicos reside dentro de las células musculares y también afuera de ellas. El agua contenida dentro de las células tiende a quedarse en forma líquida, excepto cuando el producto es enfriado muy rápidamente bajo condiciones criogénicas.

- d. **Sal.**-La sal es un componente crucial en la elaboración de productos cárnicos. La adición influye en el desarrollo de las características sensoriales. El cloruro de sodio (sal) tiene un efecto de solubilización de las proteínas de la carne debido al aumento de la fuerza iónica y por consiguiente su posterior gelificación y ligazón de las partículas que componen el embutido, por ello influye en gran medida en la textura final del producto (Ruusunen y Puolanne, 2005).

- e. **Sal cura.** -Denominados como nitrios y nitrados, sustancias responsables del color rojo de los embutidos. A partir del nitrato por sucesivas reducciones llega al óxido nitroso que por reacción con la mioglobina forma la nitrosomioglobina, pigmento rojo del curado. Las reacciones que transcurren no se conocen perfectamente en su totalidad. El uso de nitritos y nitratos viene desde hace algunos años, se debe prevenir dejar residuos de nitrito sin reaccionar y ajustar la dosis al mínimo necesarios. Para evitar problemas de exceso en su incorporación se suele suministrar mezclando con sal, denominándose el producto “sal curante o sal de cura”; así las dosis a usar son mayores y el grado de error es menor (Vidal, 2009).

- f. **Fosfatos.**-Para Arango y Restrepo (2002) existen muchas formas de las cuales los fosfatos pueden afectar a los productos cárnicos específicamente a la estructura y características de las proteínas. Algunas son indirectas, mediante cambios inducidos por los fosfatos sobre el medio en el cual se encuentran las proteínas; por ejemplo, cambios en el pH.

Knipe (2007) señala que los fosfatos son ingredientes diferentes a otros que se añaden convencionalmente a productos cárnicos. Existen 11 fosfatos diferentes, que se han aprobado para utilizarse en productos cárnicos y cada uno es diferente en algo respecto

a sus propiedades funcionales en la carne. La acción de los fosfatos en carne se puede explicar de diferentes maneras. La adición de fosfatos parece ser principalmente responsable de la solubilidad de proteínas miofibrilares en músculos post-rigor. La adición de fosfatos alcalinos ha demostrado tener el mayor efecto en el porcentaje relativo de las proteínas miofibrilares en el exudado de jamones masajeados. Los fosfatos alcalinos ayudan a la solubilidad de proteínas aún sin sal; sin embargo, la sal y el masajeado mejoran dicha solubilidad. Además, los fosfatos alcalinos reducen significativamente las pérdidas en el cocido cuando se añaden a jamones masajeados.

- g. **Antioxidantes.**-Zamora (2007) menciona que el consumo de alimentos con ácido ascórbico disminuye el riesgo de desarrollar algunos tipos de cánceres: gástrico, y colorrectal. Kobus *et al.* (2014) aseguran que un antioxidante es cualquier molécula capaz de prevenir o retardar la oxidación, entregando uno o más de sus electrones para estabilizar algún componente biológico desapareado por efecto del ataque de radicales libres. El enfoque actual en la industria de los alimentos y la carne es adicionar antioxidantes a éstos, principalmente de origen natural al producto final. Por lo tanto, existe una creciente demanda de antioxidantes naturales, incluso algunos de ellos pueden tener un efecto más potente que los antioxidantes artificiales. Los antioxidantes naturales comprenden a las vitaminas antioxidantes (C y E), los compuestos pro-vitamina A, como carotenos y criptoxantina, otros carotenoides como luteína, licopeno y zeaxantina, y varios compuestos fenólicos (flavonoides y no flavonoides)
- h. **Especias y condimentos.**-La adición de determinados condimentos y especias da lugar a la mayor característica distintiva de los embutidos crudos o curados. Así, por ejemplo el salchichón se caracteriza por la presencia de pimienta y el chorizo por el pimentón. Gimferrer (2007) argumenta que normalmente los condimentos se emplean de varias especias que se pueden adicionar enteras o no. Normalmente no se añade más de 1% de especia. Además de impartir aromas y sabores especiales al embutido, ciertas especias como la pimienta negra, el pimentón, el tomillo o el romero y condimentos como el ajo, tienen propiedades antioxidantes.

2.2.2. Proceso de elaboración de chorizo

El chorizo según INEN (2010) es un producto cárnico elaborado con carne de animales de abasto, solas o en mezcla, con ingredientes y aditivos de uso permitido y embutidos en tripas naturales o artificiales de uso permitido, puede ser fresco (crudo), cocido, madurado, ahumado o no. El proceso consiste en preparar las carnes, moler y pesar los ingredientes. Se realiza el mezclado para luego ser embutido, finalmente se lo puede comercializar crudo o pasar a otra etapa de ahumado como se muestra en la figura 3.

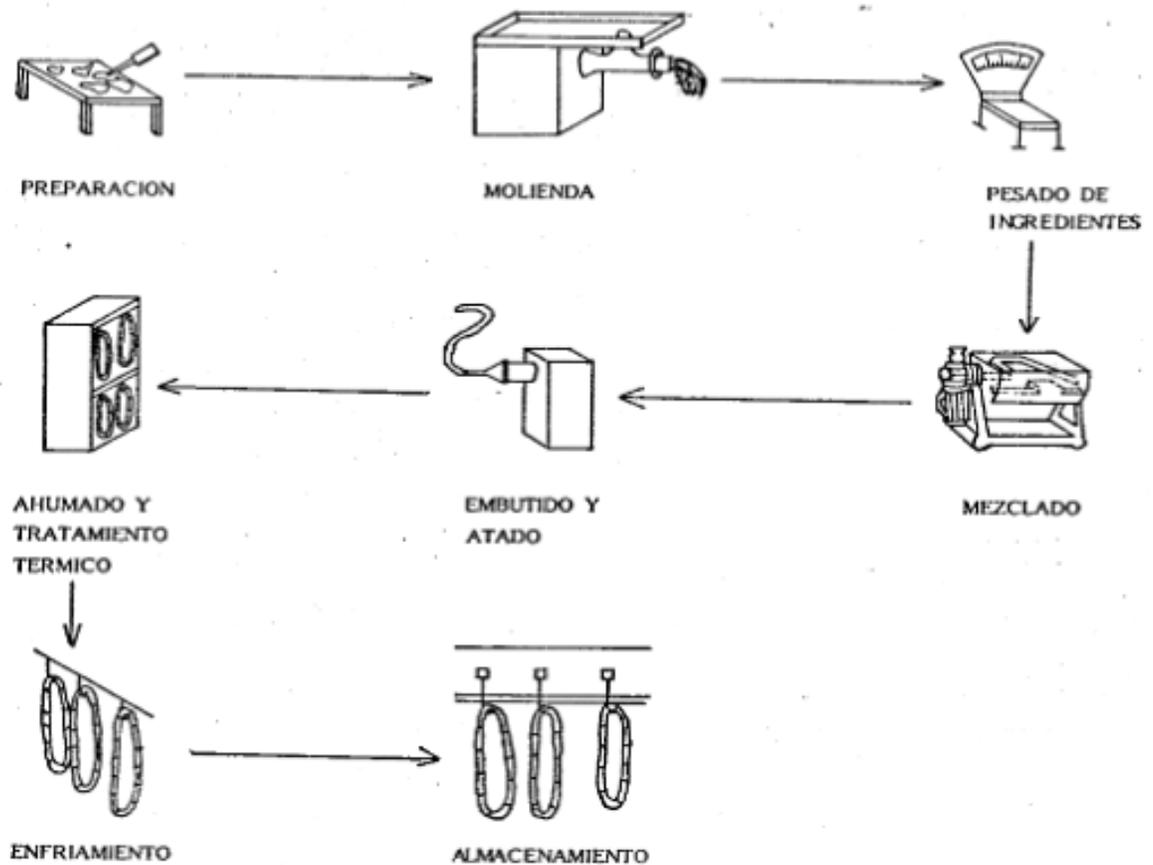


Figura 3. Proceso de elaboración de chorizo

2.2.3. Composición bromatológica

Moreiras (2013) señala que el chorizo tiene una menor proporción de agua que la carne de cerdo de la que procede. Su aporte calórico, relativamente alto, depende del contenido de macronutrientes y, fundamentalmente de la cantidad de grasa. Los lípidos (32%) presentan un perfil lipídico compuesto en un 38%, aproximadamente, por grasa saturada, en un 43% por grasa monoinsaturada, existiendo una proporción pequeña de ácidos grasos poliinsaturados. El colesterol está presente en cantidades similares a la media del grupo. Actualmente, las recomendaciones nutricionales van en la línea de disminuir el contenido en grasa de la dieta, especialmente, la grasa saturada, y de colesterol por el impacto que tienen en la etiología de algunas enfermedades crónico degenerativas. Por esto, el chorizo, a pesar de su riqueza gastronómica y nutricional, debe ser consumido en cantidades moderadas, con frecuencia no muy habitual, de manera que se puedan incluir en dietas variadas y equilibradas.

El chorizo proporciona una pequeña cantidad de hidratos de carbono que no tiene importancia desde un punto de vista cuantitativo, y una proteína de elevado valor biológico, algo inferior al de la proteína del huevo. 100 g de embutido cubren el 40,7% de las ingestas recomendadas de este macronutriente para un hombre adulto.

El chorizo es un producto con un alto contenido proteico y graso. El Instituto Ecuatoriano de Normalización (2012), presenta los requisitos bromatológicos en contenido proteico que debe cumplir los productos cárnicos crudos, los mismos que se detallan en la tabla 2.

Tabla 2. Requisitos bromatológicos para los productos cárnicos crudos

REQUISITO	TIPO I		TIPO II		TIPO III		MÉTODO DE ENSAYO
	MIN	MAX	MIN	MAX	MIN	MAX	
PROTEINA ANIMAL %	14	-	12	-	10	-	Se evalúa con el contenido de proteína total.
PROTEINA VEGETAL %	ausencia		-	2	-	4	
ALMIDÓN %	ausencia		-	3	-	6	NTE INEN 787

Fuente: Norma Técnica Ecuatoriana (INEN), 2013

2.3. CACAO (*Theobroma cacao* L.)

2.3.1. Origen

El cacao es un árbol procedente de la región comprendida entre América central y América del sur, es también conocido por su nombre científico de origen griego *Theobroma cacao* L., el cual significa “comida de los dioses”. El árbol crece a una altura de aproximadamente 4 a 5 m y el tiempo que se demora en producir frutos es de 5 años, dependiendo de la especie de cacao y de las condiciones presentes en la zona de cultivo. Su cotizado fruto, conocido también como mazorca, mide entre 10 y 30 cm de largo y 8 y 10 cm de ancho, con forma de haba alargada, tiene aspecto leñoso y crece debajo de las ramas. En su interior se encuentran entre 20 y 30 semillas en forma de almendra, rodeadas por una pulpa agridulce y gelatinosa, con una longitud de 2-3 cm y ancho de 1.2-1.6 cm. Cuando el fruto alcanza la madurez es recogido, sus semillas son extraídas, fermentadas y secadas, obteniendo como resultado un grano de color oscuro, de agradable olor y sabor.

Entre los usos que se le ha dado convencionalmente a la cáscara de cacao se encuentra su aplicación como abono, es decir como fertilizante para plantas. Además, actualmente han surgido nuevas propuestas sobre otras formas de uso, tales como la formulación de dietas experimentales con diferentes niveles de cáscara de cacao para la alimentación de pequeños mamíferos o aprovechando el potencial energético de estos residuos como material combustible para la alimentación de calderas en la producción de energía.

2.3.2. Propiedades físico-químicas del cacao

- a. **Grasa.** -Moreno (2013) argumenta que la grasa o manteca de cacao es el producto obtenido por presión del cacao descascarillado, o de la pasta de cacao. Sus características fundamentales serán:
 - Masa sólida que funde al paladar, de color blanco o amarillento, con olor y sabor a cacao.

- Tendrá acidez inferior al 2,25%, expresada en ácido oleico.
- Contendrá, como máximo, 0,5% de humedad e impurezas.
- No contendrá grasas extrañas ni ninguna otra adición.

b. Compuestos Fenólicos.-Gutiérrez (2002) mencionan que los polifenoles son sustancias antioxidantes presentes en los sólidos del cacao, siendo los responsables del color característico del cacao y del chocolate. Tienen un efecto protector frente a las enfermedades cardiovasculares y otras como el cáncer, el mal de Alzheimer, Parkinson, Cataratas y Artritis reumatoide.

El cacao es extraordinariamente rico en polifenoles, estos compuestos son almacenados en las células pigmentarias del cotiledón, y según la cantidad de antocianinas presentes en estas células los granos de cacao son de color blanco a violeta. Durante la fermentación los polifenoles disminuyen su concentración por efectos de difusión en los lixiviados de la fermentación, por oxidación y polimerización de los compuestos fenólicos con las proteínas. Este fenómeno es de gran importancia puesto que los polifenoles son los responsables del gusto astringente y amargo, por tanto, influyen directamente sobre la calidad final del grano usado fundamentalmente para la elaboración de chocolates. Trabajos de investigación realizados en diferentes proyectos del INIAP con muestras de cacao nacional muestran que el contenido de polifenoles en las almendras disminuye en un rango del 44-51% durante la fermentación (Cadena, 2008).

c. Antocianinas.-Las antocianinas son un grupo de pigmentos de color rojo, hidrosolubles, ampliamente distribuidos en el reino vegetal, las antocianinas son glucósidos de las antocianidinas, es decir, están constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace β -glucosídico. La estructura química básica de estas agliconas es el iónflavilio (Badui, 2006).

2.4. POLIFENOLES

Estrella (2010) argumenta que los compuestos fenólicos o polifenoles provienen del metabolismo secundario de las plantas. Químicamente son compuestos que tienen al menos un anillo aromático al que está unidos uno o más grupos hidroxilo. Existe una gran variedad de compuestos fenólicos, y se clasifican en flavonoideos, formados por dos anillos aromáticos unidos por un heterociclo oxigenado y que dependiendo del grado de hidrogenación y de la sustitución del heterociclo son, flavonoles, flavonas, isoflavonas, antocianos, proantocianidinas, flavanonas, etc. y se encuentran generalmente en forma de glicósidos, y los no flavonoideos, compuestos benzoicos y cinámicos, llamados comúnmente ácidos fenólicos, que contienen un anillo aromático con diferentes grupos funcionales, y que pueden estar formando ésteres con los ácidos orgánicos. Otros compuestos de naturaleza polifenólica son estilbenos, taninos, ligninas y lignanos. Algunas de las propiedades de los productos de origen vegetal, como color, astringencia y aroma son debidas a la presencia de compuestos de este tipo.

Para Schroeter *et al.* (2006) los compuestos fenólicos son el grupo más extenso de sustancias no energéticas presentes en los alimentos de origen vegetal. En los últimos años se ha demostrado que una dieta rica en polifenoles vegetales puede mejorar la salud y disminuir la incidencia de enfermedades cardiovasculares.

La capacidad de los polifenoles para modular la actividad de diferentes enzimas, y para interferir consecuentemente en mecanismos de señalización y en distintos procesos celulares, puede deberse, al menos en parte, a las características fisicoquímicas de estos compuestos, que les permiten participar en distintas reacciones metabólicas celulares de óxido-reducción. Sus propiedades antioxidantes justifican muchos de sus efectos beneficiosos y los estudios más recientes avalan los efectos beneficiosos de los mismos a nivel cardiovascular. Asimismo, se detallan algunos de los mecanismos que pueden justificar tales efectos. Algunos núcleos estructurales de los principales grupos de flavonoides se muestran en la figura 4.

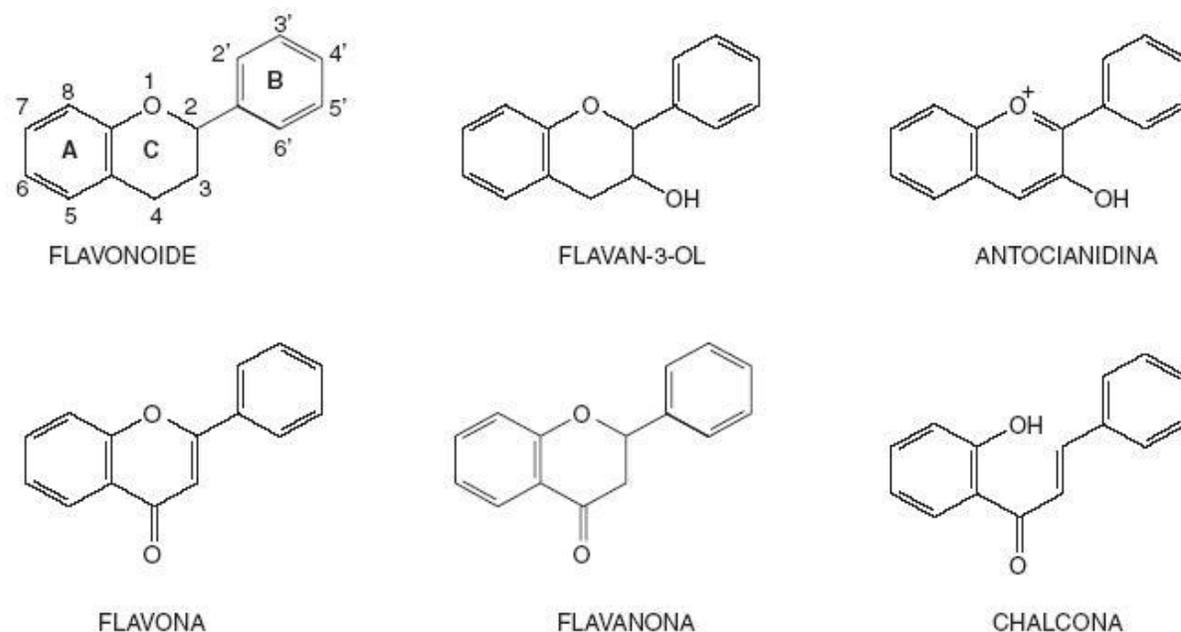


Figura 4. Núcleo estructural de los principales grupos de flavonoides.

2.5. ANTIOXIDANTES

Las frutas y verduras han despertado gran interés por parte de la comunidad pública y científica, puesto que se ha comprobado que promueven la salud de la población humana, reduciendo el riesgo de contraer enfermedades tales como trastornos cardiovasculares, diabetes, obesidad, hiperlipidemia, cáncer, entre otras y porque son fuente de una gran variedad de antioxidantes naturales, que pueden ser extraídos y utilizados para disminuir la oxidación de la carne y de productos cárnicos (Park *et al.*, 2009). Entre las frutas más estudiadas para este propósito destacan: ciruelas, uvas, arándano morado, arándano rojo, gayuba o uva del oso, granada, cítricos (lima, limón, naranja), manzana, pera y otras frutas exóticas.

Shah (2014) señala que entre los extractos y otros derivados se mencionan: extracto de pepa de uva, ajo y cebolla, pimienta, té verde, café, maní, hojas de pino, hojas de cacao, hojas de menta, hojas de olivo, hojas de ortiga, jengibre, algarroba, cáscara de rosa mosqueta, cúrcuma, hibisco, piel de granada, canela, toronjil, y aceites de romero, tomillo, salvia, ajo, clavo de olor, rosa mosqueta, orégano, oliva, canola, palma, soya, algodón, sésamo, lino y maravilla. Entre las verduras: subproductos de la alcachofa, extracto de brócoli, y aceite de palta.

Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de un sustrato oxidable, actuando como donador de electrones (agente reductor). Alomar (2014) manifiesta que todos los seres vivos que utilizan el oxígeno para obtener energía, liberan radicales libres, lo cual es incompatible con la vida a menos que existan mecanismos celulares de defensa que los neutralice. A estas defensas se las denomina antioxidantes, los niveles bajos de los mismos, o la inhibición de las enzimas antioxidantes causan estrés oxidativo y pueden dañar o matar las células, los antioxidantes se clasifican en:

- Endógenos.-Son normalmente biosintetizados por el organismo.
- Exógenos.-A través de la dieta.

CAPÍTULO III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LOCALIZACIÓN

La presente investigación tuvo efecto en el Laboratorio de Agroindustrias, Carrera de Agroindustria de la Universidad Estatal Amazónica, localizado en el Km. 2. 1/2 vía Puyo a Tena (Paso Lateral). En la ciudad del Puyo, Provincia de Pastaza. Las coordenadas 0° 59' -1" S y a una longitud de 77° 49' 0" W, se encuentra en la Región Amazónica del Ecuador con un clima subtropical húmedo, en el occidente de la provincia de Pastaza a unos 924 m.s.n.m. La humedad relativa que caracteriza a la zona es del 85%, su temperatura es de 25,9°C y la pluviosidad es de 45000 mm/año (INAMHI, 2017).

3.2. TIPO DE INVESTIGACIÓN

El presente proyecto de innovación posee dos tipos de investigación:

- Investigación descriptiva para detallar las características y propiedades bromatológicas, microbiológicas y organolépticas.
- Investigación experimental en la elaboración del producto con los 3 niveles (2, 4, 6 %) de polifenoles

3.3. MÉTODOS DE INVESTIGACIÓN

Los métodos empleados en la presente investigación son:

a. Cuantitativa:

- Análisis Microbiológico: Coliformes totales, recuento de mesófilos, *E. coli*.
- Análisis bromatológico: Humedad, proteína, grasa, fibra, ceniza, contenido antioxidante.

b. Cualitativa:

- Análisis organoléptico: Apariencia, sabor, olor, textura.

c. Experimental

- Elaboración de chorizo fresco empleando polifenoles (2, 4 y 6%) de *Theobroma cacao* L. como antioxidante natural amazónico mediante diseño factorial.

3.4. TRATAMIENTO DE DATOS

3.4.1. Identificación de variables

Para la evaluación de polifenoles de la almendra de *Theobroma cacao* L. como antioxidante natural en chorizo fresco se identificaron dos variables:

- Variables dependientes: Características bromatológicas, microbiológicas y organolépticas, actividad antioxidante.
- Variables independientes: Tres niveles de polifenoles (2, 4 y 6%).

3.4.2. Muestreo

Las muestras fueron tomadas de cada tratamiento en el día 1 para evaluación sensorial, microbiológica, físico – química y en el día 30 para análisis de actividad polifenólica, actividad antioxidante, evaluación microbiológica y físico – química.

Para el muestreo se debe actuar con criterio técnico y sin interferencia de terceras personas. Es recomendable codificar cada lote o tratamiento como una identificación y se deben considerar las precauciones para evitar la contaminación de la muestra durante los procesos necesarios de la toma, transporte y conservación de la muestra.

Codificación de las muestras:

T0: Tratamiento Testigo

T1: 2% de polifenoles de almendra de *Theobroma cacao* L.

T2: 4% de polifenoles de almendra de *Theobroma cacao* L.

T3: 6% de polifenoles de almendra de *Theobroma cacao* L.

Para el tamaño de la muestra, la INEN 0776 (2012) menciona que para carne y productos cárnicos la muestra representativa equivale a 500 g por cada lote o tratamiento. Las muestras destinadas al laboratorio fueron debidamente acondicionadas y enviadas inmediatamente para ser examinadas. Además, se enfriaron y etiquetaron de tal manera que haga imposible remover el contenido sin destruirlo.

3.4.3. Análisis microbiológico

Freitas (2004) señala que la microbiología y la calidad en los productos cárnicos son dos factores que son inseparables y fundamentales, aunque la calidad dependa de otros factores adicionales. El análisis microbiológico del chorizo se desarrolló mediante el cultivo y recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) de Coliformes totales, aerobios mesófilos y *E. coli*, indicadores de calidad e inocuidad requeridos por la INEN 1338 (2013). El análisis se realizó con las muestras frescas (día 1) y con muestras tomadas después de 30 días.

a. Preparación de las muestra

La norma técnica ecuatoriana INEN 1529-2 (2006) señala que cuando por su naturaleza, los productos heterogéneos como embutidos de pasta gruesa en análisis pueden causar dificultades si se homogeniza directamente, entonces, se procede asépticamente a realizar un picado cuyo corte sea aproximado a 1cm^3 y se procede a triturar. Pesar 10 g de muestra triturada de chorizo y añadir 90cm^3 de agua destilada. Homogenizar la dilución por 2 minutos y dejarlo en reposo hasta 15 minutos para que las partículas grandes se sedimenten, este procedimiento se repite para cada tratamiento.

En condiciones asépticas, tomar 10.0 ml de cada muestra y diluir con 90.0 ml del diluyente agua de peptona al 0,1%, el cual debe encontrarse a una temperatura similar a ésta, evitando el contacto entre la pipeta el diluyente (Camacho *et al.*, 2009).

b. Determinación de Coliformes totales

Para la determinación y recuento de Coliformes totales se emplearon placas Petrifilm de la casa comercial 3MTM, contienen nutrientes de Bilis Rojo - Violeta, (VRB). Con la pipeta electrónica o una pipeta equivalente perpendicular a la Placa Petrifilm se añadió 1 ml de la muestra en el centro de la película inferior. Bajar con cuidado la película superior para evitar que atrape burbujas de aire y presionar suavemente el dispensor para distribuir el inóculo sobre el área circular, antes de que solidifique el gel. No girar ni deslizar el dispensor. Incubar 24 h \pm 2 h a 30 °C \pm 1 °C (Luca, 2006).

Ramos y Vidal (2008) señalan que los Coliformes al fermentar la lactosaproducen un ácido que causa el oscurecimiento del gel, la película superior de las placas contienen el gas producido y atrapado alrededor de las colonias rojas confirmando la presencia de Coliformes. Los resultados del recuento de las colonias de Coliformes totales fueron expresados en unidades formadoras de colonias (UFC) y se identificaron en un contador de colonias estándar.

c. Determinación de aerobios mesófilos

La determinación de la presencia de aerobios mesófilos se realizó empleando Placas Petrifilm para recuento de aerobios (*Aerobic Count AC*), de la casa comercial 3MTM, contiene nutrientes del *Agar Standard Methods*, un agente gelificante soluble en agua fría, y un tinte indicador de color rojo que facilita el recuento de las colonias.

Cabrera (2014) argumenta que para el proceso de determinación de aerobios mesófilos se debe preparara una dilución de 1:10 de la muestra madre para obtener mejores resultados. Con la pipeta electrónica 3MTM, coloque 1 ml de la muestra en el centro de la película cuadrículada inferior. Libere la película superior dejando que caiga sobre la dilución. No la deslice hacia abajo. Incubar 48 h \pm 3 h a 32 °C \pm 1 °C.

Las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz (Luca, 2006).

d. Determinación de *E. coli*.

El estudio de la presencia de *E. coli* en el chorizo fresco se evaluó mediante el empleo de Placas Petrifilm™ para el Recuento de *E.coli*/Coliformes (Placa Petrifilm EC) que contienen nutrientes de Bilis Rojo Violeta (VRB), un agente gelificante soluble en agua fría, un indicador de actividad de la glucuronidasa y un indicador que facilita la enumeración de las colonias. Poveda y Sánchez (2008) manifiestan que la mayoría de las *E. coli* (cerca del 97%) produce beta-glucuronidasa, la que a su vez produce una precipitación azul asociada con la colonia.

El procedimiento inicia al tomar 1 ml de la muestra de cada tratamiento y ponerla cuidadosamente en el centro de la película inferior de cada placa. Una vez colocado se baja la película superior evitando atrapar aire que puedan ocasionar burbujas indeseadas, presionar suavemente el dispersor para distribuir el inóculo sobre toda el área circular antes de que solidifique el gel. Incubar 48 h±2 h a 35 °C±1°C. Finalmente las Placas Petrifilm pueden ser contadas en un contador de colonias estándar u otro tipo de lupa con luz (Luca, 2006). La película superior atrapa el gas producido por *E. coli* coliformes fermentadores de lactosa. Cerca del 95% de las *E. coli* producen gas que es atrapado alrededor de las colonias rojas de coliformes confirmando su presencia. El resultado es representado por colonias entre azules y rojo-azules asociadas con el gas atrapado en la Placa Petrifilm EC (dentro del diámetro aproximado de una colonia).

3.4.4. Determinación de compuestos polifenólicos

La determinación de compuestos polifenólicos en el chorizo fresco incorporado polifenoles de la almendra de *Theobroma cacao L.* se desarrollo mediante el método de Folin-Ciocalteu con su reactivo RF-C bajo condiciones alcalinas (ajustadas por la solución de carbonato de sodio a

pH >10 (Lima, 2004). La disociación del protón fenólico permite la formación del ión fenolato, el cual es capaz de reducir el RF-C, lo que apoya la idea de que la reacción ocurre a través del mecanismo de transferencia de electrones (Huang *et al.*, 2005).

La metodología de Radice *et al.*, (2017) señala que se debe colocar en matraces aforados de 10 ml, 40 µl de cada tratamiento y 500 µl de reactivo preparado de Folin – Ciocalteu, se espera 10 minutos y se añade en cada envase 500 µl de carbonato de sodio, se cubrió con papel aluminio sin obstaculizar la línea de enrase. Se procede a enrasar a 10 ml con agua destilada y a continuación homogenizamos cada muestra y dejar reposar por 2 horas protegido de la luz, transcurrido ese tiempo se realizó la lectura espectrofotométrica a 765 nm de longitud de onda en el Espectrofotómetro marca *Spectronic*.

Los compuestos resultantes de color azul tienen un máximo de absorbancia en la región de los 760 nm, la cual es proporcional a la cantidad total de compuestos fenólicos presentes en la muestra (Galili *et al.*, 2014).

3.4.5. Determinación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante se llevó a cabo mediante el método de FRAP. Esta reacción produce un cambio de color que es monitoreada midiendo la absorbancia a 595 nm durante 4 minutos, según el método original, aunque este tiempo fue posteriormente ampliado hasta 30 minutos por Pulido *et al.* (2000), ya que a los 4 minutos muchos compuestos todavía no habían reaccionado.

Prior *et al.*, (2005) señala que se debe preparar una dilución de ácido clorhídrico (HCl), diluyendo 535 µL HCl (37%) en 100 mL de agua destilada, se disuelve 0,0061 g de acetato de sodio en 200 mL de agua destilada, se añade ácido clorhídrico 40 mM hasta que la mezcla llegue a un pH de 3,5 y enrasa con agua destilada hasta llegar a 250 mL. Para la preparación de disolución de TPTZ 10 mM se coloca 0,0352 g de reactivo TPTZ y se disuelve en agua destilada, se transfiere a un matraz aforado de 10 mL y se enrasa con ácido clorhídrico 40 mM. En la preparación de disolución de FeCl₃-6H₂O 20 mM se disuelve 0,1352 de FeCl₃-6H₂O (cloruro de hierro III) en 25 mL de agua destilada.

La preparación de la disolución de trabajo diario FRAP se lleva a cabo con la disolución obtenida con la mezcla de 2,5 mL de disolución de TPTZ con 2,5 mL de disolución de cloruro de hierro III y 25 mL de tampón de acetato.

Cuando el complejo Fe^{2+} -TPTZ está presente, la solución desarrolla una coloración, que es evaluada espectrofotométricamente en un espectrofotómetro UV/Vis marca Perkin Elmer, expresando los resultados como mili equivalentes de sulfato ferroso.

3.4.6. Análisis bromatológico

Se realizaron análisis del contenido nutricional con las variables: proteínas, grasas, humedad, cenizas y minerales.

a. Determinación de Humedad (%)

Se pesó la caja petri vacía en la balanza analítica y se tomó su peso, posteriormente se pesó 5 gramos de muestra en la caja Petri, a continuación, se colocó la caja Petri con la muestra dentro de estufa a 205°C durante 2 horas. Se tomó las cajas petri y se colocó en el desecador para evitar que adquiriera humedad la muestra y nuevamente se tomó los pesos (Tirado, Montero, y Acevedo, 2015).

$$\%H = \frac{(P_i - P_f)}{P_i} * 100$$

Donde:

%=Porcentaje de Humedad

P_i=Peso inicial de la muestra en g

P_f=Peso final después de la mufla en g

b. Determinación de ceniza

Se pesó 2 gramos de muestra en el crisol previamente pesado, se secó la muestra en una estufa durante 30 minutos a 400°C y luego se calcinó la muestra en la mufla a 600 °C por 2 horas hasta conseguir cenizas blancas o ligeramente grises, enfriar en el desecador y a continuación se

pesó la muestra obtenida en el crisol en la balanza analítica misma que posee un margen de error de $\pm 0,01$ (Olivera *et al.* 2012).

$$\%C = \frac{m2 - m}{m1 - m} * 100$$

Donde:

%C=Porcentaje de ceniza

m2=Peso del crisol con ceniza en g

m1=Peso del crisol con muestra en g

m=Peso del crisol vacío en g

c. Determinación de grasa

La determinación de grasa o extracto etéreo consiste en la extracción de grasa a partir del material seco y molido con éter de petróleo, éter etílico o hexano en un equipo de extracción llamado Soxhlet (AOAC, 1999).

Se pesó 2 gramos de muestra seca de cada muestra a analizar y se colocó dentro de un cartucho de papel filtro, este cartucho se instaló dentro del extractor Soxhlet. Previamente se midió 110 ml de éter de petróleo dentro del balón de extracción de cuello esmerilado y se adaptó el equipo completo de extracción durante 2 horas. Posteriormente se dejó enfriar el balón con la muestra de grasa obtenida y se pesó en la balanza analítica.

$$G = \frac{m1 - m2}{m} * 100$$

Donde:

G=Porcentaje de Grasa

m2=Peso del balón vacío g

m1=Peso del balón + grasa en g

m=Peso de muestra desengrasada en g

d. Determinación de proteína

Para la determinación de proteínas se utilizó el método Kjeldahl, el cual consta de tres etapas: digestión, destilación y titulación. El método se basa en la digestión en húmedo de la muestra por calentamiento con ácido sulfúrico concentrado en presencia de catalizadores metálicos para reducir el nitrógeno orgánico de la muestra hasta amoníaco, el cual queda en solución en forma de sulfato de amonio. El amoníaco digerido una vez alcalinizado con hidróxido de sodio concentrado se destila para desprender el amoníaco, el cual está atrapado y titulado.

Se pesó 0.200 g de muestra, 1.2 g de catalizador kjeldahl y 3ml de ácido sulfúrico concentrado, se colocó en un balón para digestión en el equipo macro kjeldahl durante 1 hora y 30 minutos a 400°C. Se tomó el balón del macro kjeldahl, se dejó enfriar dentro de la sorbona y se colocó 100 ml de agua destilada hasta que se disuelva la muestra. Se añadió 10 ml de ácido bórico al 4% más 3 gotas de indicador tashiro dentro un erlenmeyer de 250 ml y 10 ml de hidróxido de sodio al 45,4% en cada balón de digestión para luego colocarlos en el destilador durante 15 minutos hasta que se destile 50 ml aproximadamente dentro de cada erlenmeyer. Se tituló con ácido sulfúrico al 0,2N hasta el cambio de color verde esmeralda a púrpura y tomar el valor del consumo de ácido sulfúrico (AOAC, 1999).

$$P = \frac{V * N * F * 0,014}{m} * 100$$

Donde:

P=Contenido de proteína

V=ml de ácido sulfúrico consumido

N=Normalidad del ácido

F=Factor para convertir el contenido de nitrógeno a proteína (6,25 proteína en general)

m=Peso de muestra en g

e. Determinación de fibra

La fibra cruda es el residuo del lavado, secado y pesado que queda luego de la digestión de la

muestra desengrasada con ácido sulfúrico e hidróxido de sodio diluido (AOAC, 1999).

Para el análisis de fibra se pesó la muestra desengrasada en un vaso de 250 ml, se agregó 100 ml de ácido sulfúrico al 0.255N y posteriormente se colocó a digestar a 400°C durante 30 minutos (contando a partir de la ebullición) añadiendo una gota de antiespumante. Se filtró en caliente a través de una tela de lino y luego se realizó el lavado con agua potable hasta que se haya eliminado el ácido, mismo que se verificó agregando una gota de anaranjado de metilo hasta que se torne una coloración anaranjada.

La digestión básica se realizó agregando 100 ml de hidróxido de sodio al 0,313 N en un vaso de precipitación y se digirió a 400°C durante 30 minutos (contando a partir de la ebullición) añadiendo una gota de antiespumante. Se filtró en caliente a través de una tela de lino y luego se realizó el lavado con agua potable hasta que se haya eliminado el hidróxido, mismo que se verificó agregando una gota de fenolftaleína hasta que el agua de residuo no adquiera ninguna coloración. Se realizó 3 enjuagues con 10 ml de alcohol etílico y un enjuague con agua destilada. Se trasvasó el residuo seco a un crisol, se colocó el crisol más la muestra en la estufa a 105°C durante 5 minutos hasta que se seque y luego se tomó el peso en frío. A continuación, el crisol más la muestra se colocó en la mufla a 600°C durante 30 minutos. Una vez incinerada la muestra se colocó dentro del desecador para que se enfríe y tomar el peso en la balanza analítica (AOAC, 1999).

$$F = \frac{m1 - m2}{m} * 100$$

Donde:

F=Contenido de fibra %

m1= Peso del crisol + muestra (estufa)

m2=Peso del crisol + muestra (mufla)

m=Peso de muestra desengrasada

f. Determinación de carbohidratos

El porcentaje de carbohidratos se calculó por diferencia, partiendo de los 100 g de muestra y tomando en cuenta los otros componentes de la muestra como son: porcentajes de humedad, grasas, fibras, proteínas y cenizas (AOAC, 1999).

$$\% C = 100 - (G + P + F + C)$$

Donde:

%C= Porcentaje de carbohidratos

G= Porcentaje de grasas totales de la muestra

P= Porcentaje de proteínas totales de la muestra

F= Porcentaje de fibras totales de la muestra

C= Porcentaje de cenizas totales de la muestra

3.4.7. Análisis sensorial

El análisis sensorial se realizó con 15 degustadores para determinar el grado de aceptabilidad de los chorizos, cada tratamiento codificado y ubicado alternadamente. Para el planteamiento de la mesa de cata se deben elegir personas al azar, preferiblemente no mujeres embarazadas o personas que hayan ingerido alcohol 24 horas antes. El registro de las respuestas sensoriales de muchos individuos permite integrar todas las performances individuales y compensar las diferencias de sensibilidad entre los miembros del jurado (Pierre, 2000).

El desarrollo de las pruebas se llevo a cabo en un aula retirada de áreas de ruidos. Hernández (2009) señala que el lugar dónde se realice la cata debe ser un lugar tranquilo, tener una temperatura ambiente, debe estar entre 18-22 C. Tener iluminación preferiblemente natural, la cual debe ser uniforme, tener una buena ventilación libre de olores extraños y los colores de las paredes deben ser claros que no interfieran con el producto y que no canse al panelista

En el momento de la prueba cada catador encontró las muestras de chorizo fritas, codificadas de forma aleatoria, el formulario de prueba, un vaso con agua, cubiertos y servilletas.

3.4.8. Herramienta estadística

El análisis estadístico se realizó sobre el recuento microbiológico en chorizo, la actividad de polifenoles totales y la actividad antioxidante por el método de FRAP. Los datos obtenidos se sometieron al análisis de la varianza y prueba de medias de Tukey, mediante el uso del software Statistix 8.0.

3.5. RECURSOS MATERIALES

3.5.1. Materias primas

Las materias primas son los principales componentes de un producto, pueden ser por su característica y propiedad única o por la cantidad en volumen que representa y de la que forma parte en el producto terminado. Para la elaboración del chorizo fresco se emplearon materias primas como carnes y grasa, así como el extracto polifenólico como se detallan en la tabla 3.

Tabla 3. Materias primas y su origen

MATERIA PRIMA	ORIGEN	OBSERVACIÓN
Carne de cerdo	CIPCA – UEA	Programa de cerdos
Grasa de cerdo	CIPCA – UEA	Programa de cerdos
Agua	The Tesalia Springs Company S.A.	Ninguna
Almidón de trigo	Molinos Juan Semino S.A.	Industria Argentina
Polifenoles de <i>Theobroma cacao L.</i>	Laboratorio de Química – UEA	Extracto hidroalcohólico de <i>Theobroma cacao L.</i>

Fuente: Pérez, M., Bravo, L., y Silva, L. (2018)

3.5.2. Equipos y materiales empleados en la elaboración del producto

a. Equipos:

- Balanza analítica
- Balanza kilogramos
- Molino
- Mezclador
- Embutidor
- Termómetro
- Refrigerador

b. Materiales:

- Cuchillo
- Bandejas
- Tabla de picar
- Hilo de chillo

3.5.3. Formulación del chorizo fresco

Se realizaron cuatro formulaciones, una formulación para el tratamiento testigo (T0) en la cual no se adiciona ningún tipo de antioxidante. Para la formulación de los tratamientos 2, 4 y 6% de polifenoles de *Theobroma cacao* L., se fue incrementando la cantidad proporcional para cada una de las recetas como se muestra en la tabla 4.

Tabla 4. Formulación en la elaboración de chorizo fresco

INGREDIENTES	ANTIOXIDANTE (%)			
	T0	T1	T2	T3
Carne Cerdo (%)	60,00	60,00	60,00	60,00
Grasa Cerdo (%)	30,00	30,00	30,00	30,00
Hielo (%)	9,00	9,00	9,00	9,00
ALMIDÓN (%)	1,00	1,00	1,00	1,00
TOTAL (%)	100,00	100,00	100,00	100,00
SAL (%)	2,20	2,20	2,20	2,20
SAL CURA (%)	0,33	0,33	0,33	0,33
FOSFATO (%)	0,25	0,25	0,25	0,25
ANTIOXIDANTE (%)	0,00	2,00	4,00	6,00
CONDIMENTO (%)	0,94	0,94	0,94	0,94
PIMIENTA NEGRA (%)	0,30	0,30	0,30	0,30
AJO (%)	0,10	0,10	0,10	0,10
COLOR (%)	0,04	0,04	0,04	0,04

Fuente: Pérez, M., Bravo, L., y Silva, L. (2018)

3.5.4. Procedimiento

El procedimiento para la elaboración del chorizo se muestra a continuación:

- a. Recepción de la materia prima como la carne, grasa, almidón, especias y condimentos.
- b. Se procede a realizar la limpieza de restos de cerdas, hematomas, basuras provenientes de la cadena de producción.
- c. La adecuación de las carnes tiene lugar en el momento que se realiza el troceo tanto de la carne como de la grasa para ser llevados al molino.
- d. Se realiza el pesaje de los ingredientes.
- e. Para tener una carne y grasa más fina, se procede a trocear la grasa con el disco mediano (5mm) en el molino, de la misma manera la carne.
- f. Se procede a mezclar, primeramente, la carne y grasa junto con una parte de agua y los demás ingredientes entre ellos el extracto polifenólico cuya cantidad dependerá del

tratamiento que se realice, el mezclado debe ser constante por un período de 3 a 5 minutos.

- g. Se añade, finalmente, toda el agua y se deja reposar por unos minutos mientras la mezcladora continúa homogenizando la pasta.
- h. Una vez obtenida la pasta, es trasladada a la embutidora para ser mediante presión ingresada en las tripas naturales de cerdo cuyo diámetro oscilan de 26 – 28 mm.
- i. El hilo de chillo servirá para amarrar y asegurar las puntas de cada extremo de la tripa, cuando se tenga el producto terminado se deja reposar por 15 minutos para luego ser empacadas y llevadas a refrigeración como se muestra en la figura 5.

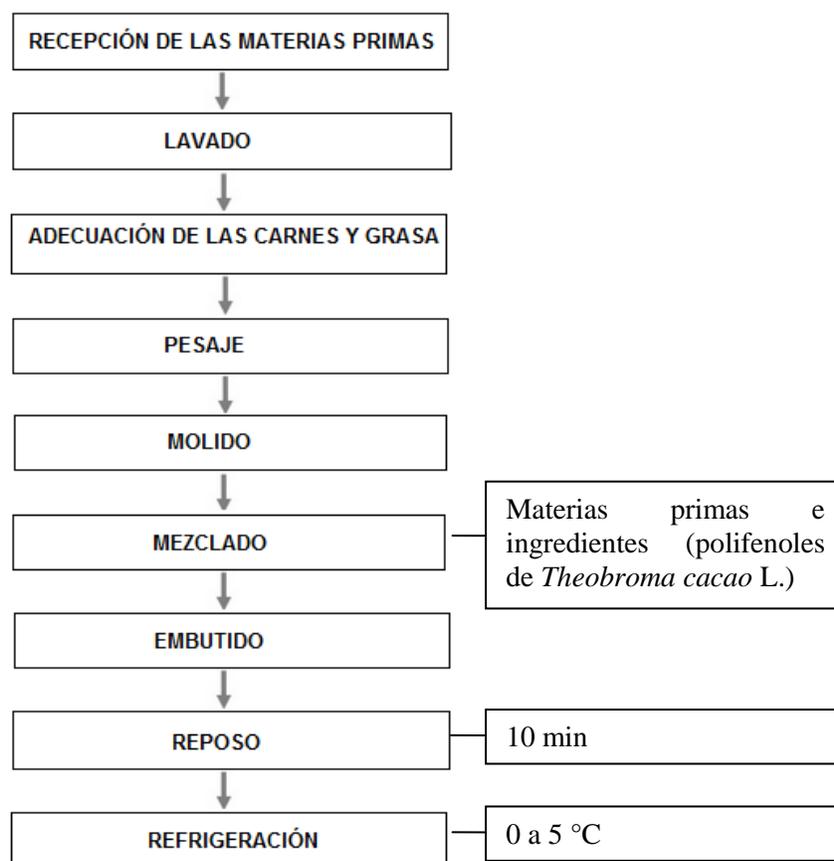


Figura 5. Diagrama de flujo para la elaboración de chorizo fresco con polifenoles de *Theobroma cacao* L. como antioxidante natural.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

En la tabla 5 se observan los resultados del recuento microbiológico en chorizos en el día 1 y después de 30 días de almacenado. De manera general se observa una reducción en la carga microbiana en los chorizos que contienen porcentajes de polifenoles incorporados en su formulación, mientras que en el producto sin polifenoles (testigo), al no tener agente protector se puede apreciar crecimiento microbiológico. Estos análisis proporcionan información de la posible contaminación microbiana del producto y permiten tomar decisiones en cuanto a su destino (Ferreira *et al.* 2007).

En el estudio de la presencia de Coliformes totales, la reducción en los tratamientos 2 y 4% se debe al efecto antioxidante por parte de los polifenoles añadidos del *Theobroma cacao* L., el cual a más de compensar los radicales libres también trabajan como inhibidores bacterianos (García *et al.*, 2012).

Tabla 5. Recuento microbiológico del chorizo en el día 1 y después de 30 días.

Datos generales		Indicadores					
		Día 1 (ufc/g)			Día 30 (ufc/g)		
Muestras	Conc.(%)	Aerobios mesófilos	Coliformes Totales	<i>E. coli</i>	Aerobios mesófilos	Coliformes totales	<i>E. coli</i>
Testigo 1	0%	2,0x10 ⁴	77 ^b	Negativo	2,2x10 ⁴	81 ^b	Negativo
Chorizo 2	2%	2,6x10 ⁴	88 ^a	Negativo	2,2x10 ⁴	85 ^a	Negativo
Chorizo 3	4%	2,2x10 ⁴	65 ^b	Negativo	1,8x10 ⁴	60 ^b	Negativo
Chorizo 4	6%	2,8x10 ⁴	82 ^a	Negativo	2,1x10 ⁴	84 ^a	Negativo

^{a,b} Promedios con letras diferentes difieren estadísticamente (Tukey, p< .05)

Fuente: Pérez, M., Bravo, L., y Silva, L. (2018)

Los resultados obtenidos en la evaluación microbiológica de la presencia de Coliformes totales en el chorizo fresco y después de almacenado de 30 días, en los tratamientos 2 y 4% existe una disminución de 88 ufc/g a 85 ufc/g y de 65 ufc/g a 60 ufc/g respectivamente (figura 6), mientras que con el porcentaje del 6% se evidencia un leve incremento en el número de colonias de 82 ufc/g a 84 ufc/g; sin embargo, se encuentran dentro de los parámetros establecidos por la Norma Técnica Ecuatoriana INEN (2013) en donde señala que los valores máximos deben ser de 100 ufc/g. Generalmente, las bacterias coliformes se encuentran en mayor abundancia en la capa superficial del aguas no tratadas, contaminadas o en los sedimentos del fondo (Munn, 2004).

El recuento de aerobios mesófilos evidencia una reducción en el número de unidades formadoras de colonias en el tratamiento del 2%, menorando de $2,6 \times 10^4$ ufc/g a $2,2 \times 10^4$ ufc/g. en el tratamiento del 4% la carga bacteriana se redujo en mayor proporción de $2,2 \times 10^4$ ufc/g a $1,8 \times 10^4$ ufc/g mientras que con el 6% se evidencia la reducción de colonias de $2,8 \times 10^4$ ufc/g a $2,1 \times 10^4$. Esta reducción se debe a que los antioxidantes de naturaleza polifenólica poseen actividad antimicrobiana (Naveena *et al.*, 2008).

El análisis realizado en la evaluación de la presencia de *E. coli*, arrojan resultados negativos, esta ausencia es un indicador de calidad e inocuidad en el producto terminado. La reducción de colonias de coliformes totales y de aerobios mesófilos se debe al poder antioxidante del polifenol del *Theobroma cacao* L., antioxidante que se ha demostrado tiene grandes propiedades tales como antivirales, antiinflamatorias, antiparasitarias y antibacteriana (Robledo *et al.*, 2008).

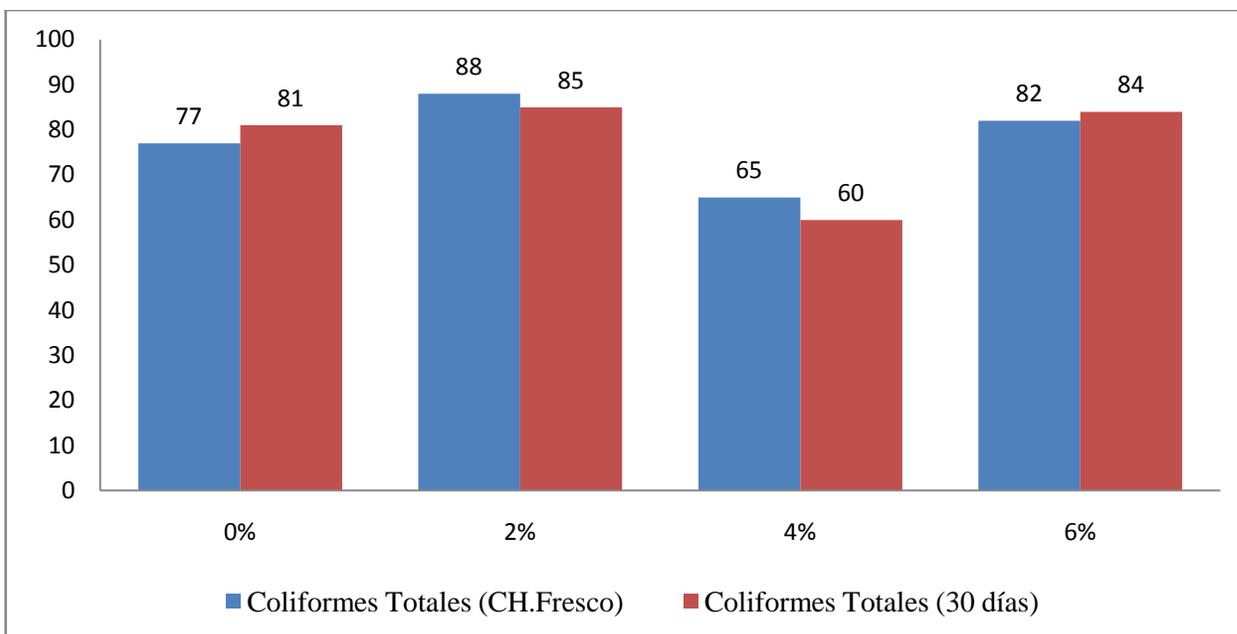


Figura 6. Presencia de colonias de Coliformes totales en chorizo con extracto hidroalcohólico de cacao

4.2. ACTIVIDAD POLIFENÓLICA

En la tabla 6 se muestran los resultados de la actividad polifenólica total. Se observa un incremento en el contenido de polifenoles en todos los tratamientos con el extracto hidroalcohólico. El tratamiento sin el extracto mostró escasos contenidos de polifenoles totales.

Tabla 6. Resultados de la actividad polifenólica por el método Folin – Ciocalteu (mgeq. ácido gálico.kg⁻¹).

Concentrado Chorizo	Día 1	Día 30
0%	0,001 ^b	0,004 ^b
2%	0,716 ^a	0,731 ^a
4%	0,784 ^a	0,743 ^a
6%	0,796 ^a	0,840 ^a

^{a,b}Promedios con letras diferentes difieren estadísticamente (Tukey p < .05).

Fuente: Pérez, M., Bravo, L., y Silva, L. (2018)

El incremento de la actividad polifenólica está directamente relacionado con el porcentaje añadido de polifenol. Al ser diferentes los porcentajes de adición (2 y 6%) los resultados arrojan diferencias estadísticas, al demostrar discrepancias entre cada tratamiento. En el tratamiento del 4% existe una reducción de la actividad polifenólica y al tratarse de un producto heterogéneo, la muestra tomada para el análisis contuvo un excedente graso, éste a la vez origina la acción de los polifenoles de reducirse junto con la peroxidación de los lípidos y reacción con los radicales libres encontrados. (Furhrman & Aviram, 2001).

Los polifenoles poseen inestabilidad y pierden sus propiedades cuando no se conservan o manipulan correctamente. La exposición a estresantes ambientales, incluyendo radiaciones ultravioletas y relativamente altas temperaturas ocasiona una reducción de la actividad polifenólica (Brovillard *et al.*, 2014).

4.3. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Los resultados obtenidos en la evaluación del poder antioxidante por medio del método de FRAP, permite evidenciar la presencia y el desarrollo paulatino de la actividad antioxidante. Esto se debe al alto contenido natural de antioxidante de los vegetales y a la facilidad de reaccionar en sustratos orgánicos (Özgen *et al.*, 2006).

En la tabla 7 se observa los resultados de la actividad antioxidante en chorizo fresco y en chorizo almacenado por 30 días, cada uno con tres concentraciones de extracto polifenólico de *Theobroma cacao* L. y un testigo. Se evidencia un incremento en los valores de actividad antioxidante en todos, siendo el tratamiento del 4% el de mayor desarrollo antioxidante, mientras que con la concentración menor (2%) existe un desarrollo antioxidante reducido; esto se debe a que el extracto hidroalcohólico reacciona con compuestos fenólicos y sus propiedades redox reduciendo su contenido a medida que transcurre el tiempo (Murthy *et al.*, 1998).

Tabla 7. Actividad antioxidante por el método de FRAP (mg eq. TROLOX.kg⁻¹).

Concentrado Chorizo	Día 1	Día 30
0%	0,001 ^b	0,001 ^c
2%	0,216 ^a	0,388 ^b
4%	0,219 ^a	0,413 ^a
6%	0,251 ^a	0,410 ^a

^{a,b}Promedios con letras diferentes difieren estadísticamente (Tukey p< .05)

Fuente: Pérez, M., Bravo, L., y Silva, L. (2018)

El aumento del contenido de polifenoles se correlaciona con la actividad antioxidante expresada como poder reductor (EAAs mg/kg), lo que significa que a mayor presencia de polifenoles mayor actividad antioxidante, sin embargo la calificación del poder antioxidante depende del tipo de método usado y el parámetro con el cual se mide (Padilla *et al.*, 2008).

La relación entre polifenoles y la actividad antioxidante obtenidas en este trabajo son similares a los obtenidos por Morales *et al.* (2008) en su estudio sobre el cacao y sus productos como una fuente importante de antioxidantes, en donde a partir de la actividad inicial con el transcurso del tiempo existe un incremento relativo. Sus estudios han demostrado que productos del cacao como el chocolate amargo presenta un contenido de polifenoles comparable al del té verde (46,46 mg ÁG/g) y superior al de la manzana (3,6-5,3 mg AG/g), la pera (3,3-4,6 mg AG/g) y el kiwi (3,0 mg AG/g) ().

4.4. ANÁLISIS BROMATOLÓGICO

Los análisis bromatológicos permiten demostrar las diferencias físicas – químicas del producto en sus distintas formulaciones. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla 8. Al variar sólo la cantidad de antioxidante adicionado y al tratarse de la misma formulación en todos los ensayos se presentan valores similares en los tratamientos; la cantidad de polifenoles y la actividad antioxidante dependen del contenido de sólidos no grasos presentes en los productos finales (Miller *et al.*, 2006).

Tabla 8. Análisis bromatológico

Determinación del contenido nutricional					
Componentes		Testigo	Chorizo 1	Chorizo 2	Chorizo 3
Proteína bruta g/100g	Día 1	21,72	22,23	21,57	23,94
	Día 30	21,98	22,96	21,89	23,87
Grasa total g/100g	Día 1	29,27	23,1	26,27	25,92
	Día 30	29,93	23,62	26,63	25,01
Agua g/100g	Día 1	39,67	38,72	33,82	33,27
	Día 30	38,95	38,01	33,13	34,35
Minerales g/100g	Día 1	4,96	4,63	4,1	4,34
	Día 30	4,95	4,94	4,28	4,55
Sal (Na Cl) g/100g	Día 1	3,52	3,36	3,35	3,18
	Día 30	3,47	3,35	3,3	3,16
Sodio mg/100g	Día 1	1386,58	1323,4	1666,91	1252,09
	Día 30	1364,14	1317,74	1681,25	1245,03
Materia seca g/100g	Día 1	60,33	61,28	66,18	66,73
	Día 30	61,05	61,99	66,87	65,65
Carbohidratos g/100g	Día 1	8,37	11,32	14,24	12,53
	Día 30	8,18	10,47	14,07	12,21

Fuente: Pérez, M., Bravo, L., y Silva, L. (2018)

El chorizo fresco es un producto cárnico de pasta gruesa, de textura irregular. Las diferencias que se presenta en la tabla 5 se deben a la heterogeneidad física – química natural en el producto. También las diferentes etapas en el proceso de manufactura afectan la actividad antioxidante presente inicialmente (Arlorio *et al.*, 2007).

4.5. ANÁLISIS SENSORIAL

El análisis sensorial determinó que el 40% de los degustadores señalaron que les gusta el chorizo fresco sin ninguna adición de antioxidante. El 60% indicaron que les gusta el producto con la adición del 4% de la almendra de *Teobroma cacao* L.; el 47% mencionaron que les

gusta el producto con la incorporación del 6% y finalmente el 40% señalaron que les gusta el producto cárnico elaborado con el 2% de polifenoles de la almendra como se detalla en la tabla 9.

Tabla 9. Resultados de la evaluación sensorial

Nivel de agrado	Porcentaje (%) de antioxidante adicionado en el chorizo fresco			
	0%	2%	4%	6%
Me gusta mucho	2	0	4	2
Me gusta	6	9	7	6
Ni me gusta ni me disgusta	5	6	3	4
No me gusta	2	0	1	2
Me disgusta mucho	0	0	0	1
TOTAL	15	15	15	15

Fuente: Pérez, M., Bravo, L., y Silva, L. (2018)

La aceptación obtenida por parte de los degustadores, gran parte se debe a los tratamientos con la adición de polifenoles de la *Theobroma cacao* L. Tomas *et al.* (2007) señala que el secreto del aroma y sabor del cacao y sus derivados se debe fundamentalmente a la fracción volátil del vegetal, que se relaciona con diversos factores: el genotipo del cacao, las condiciones de crecimiento del árbol del cacao, el proceso de fermentado, secado y tostado.

Los tratamientos del 4 y 6% presentaron gran acogida debido al aroma y sabor otorgados por los componentes volátiles del cacao. La presencia de azúcares transformados en alcohol contribuyen a las notas aromáticas, propiedades del cacao como su astringencia resulta un elemento de gran importancia en el aroma final de todo producto. (Frauendorfer y Schieberle 2008).

CONCLUSIONES

- El porcentaje adecuado de polifenoles de la almendra de *Theobroma cacao L.* es del 4%, tratamiento que presenta las mejores características y propiedades bromatológicas, microbiológicas, sensoriales, actividad antioxidante y polifenólica.
- El estudio bromatológico con el indicador proteína (g/100g) y grasa (g/100g) presentan una mayor concentración con el tratamiento del 2%, con el 4% se mantiene estable. El análisis microbiológico señala que en el recuento de aerobios mesófilos existe un decrecimiento en el transcurso del tiempo (30 días). El recuento de Coliformes totales presenta una igualdad relativa y la presencia de *E. coli* es ausente.
- Basados en los resultados de la evaluación sensorial, la formulación de chorizo fresco con el 4% de polifenoles de la almendra de *Theobroma cacao L.* presenta las mejores cualidades organolépticas, valor representado en la gran aceptabilidad del producto por parte de los degustadores.
- La evaluación de polifenoles con la incorporación del 6% demuestra un incremento de la actividad polifenólica. La evaluación de actividad antioxidante determinó un elevado desarrollo en todos los tratamientos, siendo el tratamiento del 4% el que brinda la mayor actividad antioxidante y buenas características de conservación del chorizo.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar estudios sobre el empleo de polifenoles de la almendra de *Theobroma cacao* L., como antioxidante natural en otros productos cárnicos de pasta gruesa para comparar la efectividad en la incorporación del 4% de antioxidante natural.
- En esta investigación los resultados se obtuvieron a partir de un embutido de pasta gruesa y crudo, se recomienda realizar estudios en productos cárnicos en dónde existan tratamientos térmicos y evaluar la estabilidad y funcionalidad del antioxidante.
- Identificar los tipos de polifenoles presentes en las almendras de *Theobroma cacao* L. mediante técnicas cromatográficas.
- Investigar el poder antioxidante de varias especies de plantas amazónicas (hojas, flores, fruto) y realizar estudios de campo y experimentales para descubrir las mejores alternativas.

BIBLIOGRAFÍA

- Alomar, M. (2014). *ANTIOXIDANTES: captadores de radicales libres ó sinónimo de salud*. Barcelona, España: Masson.
- AOAC. (1999). Association of Official Agricultural Chemists. Official methods of analysis. Cunnig, P. (editor). 16th Ed., 5th Revision. Maryland, USA: AOAC International.
- Arango, C., y Restrepo D. (2002). Efecto del uso de diferentes Fuentes de fosfatos sobre la capacidad de retención de agua y las características de textura de una salchicha. *Facultad Nacional De Agronomía*, 55(1), 1425 – 1440.
- Arlorio, M., Locatelli, M., Travaglia, F., Coisson, J. (2007). Roasting impact on the contents of clovamide (N-caffeoyl-L-DOPA) and the Antioxidant Activity of cocoa beans. *Food Chem*; 106: 967-975.
- Aberle, D. (2002). Principles of Meat Science 4ta Edition. Kendall Hunt Publishing Company. Capítulo 9. Storage and Preservation of Meat. Pág.181.
- Armenteros, M., Ventanas, S., Morcuende, D., Estévez, M., y Ventanas, J. (2012). Empleo de antioxidantes naturales en productos cárnicos. *EUROCARNES*, 207, 63.
- Badui D. S. (2006). *Química de los Alimentos*. México, México: Pearson.
- Brovillard, R., George, F., & Foungerouse, A. (2014). Polyphenols produced during red wine ageing. *Biofactors*, 6(4):403-10.
- Cabrera, M. (2013). *Elaboración de curados y salazones cárnicos*. Málaga, España: INNOVA.
- Cabrera, J. (2014). *Análisis Microbiológico de los Alimentos*. Córdoba, Colombia: RENALOA.
- Cadena, T. (2008). *Evaluación del efecto del procesamiento del cacao sobre el contenido de polifenoles y su actividad antioxidante*. Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Argentina.
- Camacho, A., Giles, M., Palao, M., Serrano, B., Velásquez, V. (2009). Preparación y dilución de muestras para su análisis microbiológico. *Técnicas para el análisis microbiológico de alimentos*, 2(4): 2-4.

- Castillo, F., Hernández, D., Gallegos, F., Flores, A., Rodríguez, R., y Aguilar, C. (2015). Efectividad in vitro de Bacillus y polifenoles de plantas nativas de México sobre Rhizoctonia-Solani. *Rev. Mex. Cienc. Agríc* [online]. 6(3): 549-562.
- CODEX ALIMENTARIUS. (2000). Carne y productos cárnicos. Códigos de Prácticas y Directrices para Productos Cárnicos Elaborados. Roma, Italia. *FAO/OMS 10(2)*, 1994:33.
- Estrella, I. (2010). *Polifenoles y sus propiedades antioxidantes*. Recuperado de: <http://www.dietcan.net/>
- Farías, V., Núñez, A., y Méndez, J. (2013). Efecto del envasado en atmósfera modificada sobre las características físico-químicas de filetes de bagre laulau (*Brachyplatystomavaillanti*) durante almacenamiento saber. *Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente*, vol. 3 (8):294-301.
- Ferreira, V., Barbosa, J., Silva, J., Felício, M. T., Mena, C., Hogg, T., y Gibbs, P. (2007). Characterisation of alheiras, traditional sausages produced in the North of Portugal, with respect to their microbiological safety. *Food Control* 18(9), 436–440.
- Freitas, L. (2004). Microbiología y calidad de la carne. *Revista Virtual Pro*, 4(13), 23-33.
- Frauendorfer, F., Schieberle, P. (2008). Changes in key aroma compounds of Criollo cocoa beans during roasting. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 102-131.
- Furhrman, B., & Aviram, M. (2001). Flavonoids protect LDL from oxidation and attenuate atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol*, 12(1):41-8.
- Galili, S., y Hovav, R. (2014). Determination of polyphenols, flavonoids, and antioxidant capacity in dry seeds. *Polyphenols in Plants*, 3(1):305–323.
- García, G., Ramírez, J., Gutiérrez, J., Murga, H. (2012). ¿Qué son y para qué sirven los antioxidantes?. *LA CIENCIA Y EL HOMBRE*. 25(2), 44 – 54.
- Gimferrer, N. (2007). *Embutidos crudos y curados*. Barcelona, España: EROSKI SOCIEDAD COOPERATIVA Recuperado de: <http://www.consumer.es/web/es/>
- Gutiérrez, M. (2002). Chocolate, polifenoles y cuidado para la salud. *Acta Farm. Bonaerense* 21(2), 149-52
- Hernández, E. (2009). *Evaluación Sensorial*. Bogotá, Colombia: Curso Tecnología De Cereales y Oleaginosas Guía Didáctica.

- Hernández, A., y Prieto, G. (2002). Polifenoles naturales. *Rev. Cubana Invest. Biomed.* 18: 12-4
- Hernández, M., Verstraeten, S., Oteiza, P., y Fraga, C. (2010). Antioxidant actions of flavonoids: thermodynamic and kinetic analysis. *Arch BiochemBiophys*, 501(1):23-30.
- Huang, D.,Ou, B., y Prior, R. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:1841- 1856.
- Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIAP). (2006). Polifenoles del cacao.
- INAMHI. (2017). Instituto Nacional de Meteorología e Hidrología. Boletín Agrometeorológico mensual. N°12. Los Ríos. Ecuador.
- Instituto Ecuatoriano de Normalización(INEN). (2006).Control microbiológico de los alimentos toma, envío y preparación de muestras para el análisis microbiológico. NTE INEN 1529-2. Quito, Ecuador.
- Instituto Ecuatoriano de Normalización(INEN). (2013). Carne y productos cárnicos. Productos cárnicos crudos, productos cárnicos curados-madurados y productos cárnicos pecocidos-cocidos. Requisitos. NTE INEN 1338. Quito, Ecuador.
- Jaramillo, G. (2018). *Pasos para la elaboración de productos cárnicos de calidad al costo más bajo*. Bogotá, Colombia: CARNETEC. Recuperado de <https://www.contextoganadero.com>.
- Knipe, L. (2007). *Uso de los fosfatos en productos cárnicos*. Guadalajara, México: Thomson.
- Kobus, J., Flaczyk, E., Rudzinska, M., & Kmiecik, D. (2014). Antioxidant properties of extracts from Ginkgo biloba leaves in meatballs. *Meat Sci.* 4(97):174-80.
- Laguerre, M., Lecomte, J., & Villeneuve, P. (2007). Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. *Progress in lipid research*, 46(5), 244-282.
- Lima, L. (2004). Universidad de la Habana. Centro Nacional de Medicina Natural y Tradicional. Estrés oxidativo y antioxidantes.
- Luca, A. (2006). *Placas Petrifilm para recuento de coliformes*. México, México: Multimedia3M. recuperado de: <https://multimedia.3m.com/mws/media/>

- Masana, M., Meichtri, L., y Rodríguez, R. (2007). *Determinación de la vida útil en cortes de bovinos*. Buenos aires, Argentina: Cautelar.
- Mateos, C. (2001). Meat product. Encyclopedia of chemical technology. *Jhon Wiley*, 4(16):23-33
- Mesut, E., Yavuz, D., Hayriye, A., Gulbin, S., Abdulkadir, I., Ibrahim, K., y Hayati, K. (2015). Comparación de los efectos de la perfusión de sevoflurano, desflurano y del propofol sobre el sistema oxidante/antioxidante durante la anestesia general. *Rev. Bras. Anesthesiol.* [online]. 65(1): 68-72.
- Morales, S., Oldoni, T., Regitano, M., y Alencar, M. (2008). Actividad antioxidante y compuestos fenólicos en infusiones herbarias. *Revista C y TA*. 6: 57-60.
- Miller, K., Stuart, D., Smith, N., Lee, C., Mchale, N., y Flanagan, J. (2006). Antioxidant Activity and Polyphenol and Procyanidin Contents of Selected Commercially Available Cocoa-Containing and Chocolate Products in the United States. *J Agr Food Chem*. 54: 4062-4068.
- Moreiras, L. (2013). *Composición de Alimentos*. Parma, Italia: SCIENCE FOOD SOCIETY. Recuperado de: <https://www.mapa.gob.es>
- Moreno, R. (2015). *Normativa carnes, embutidos y grasas*. Andalucía, España. Defensacompetencia. Recuperado de: www.juntadeandalucia.es
- Moreno, J. (2013). *Cacao en polvo*. Recuperado de: http://www.juntadeandalucia.es/defensacompetencia/sites/all/themes/competencia/files/fichas/pdf/6_Cacao.pdf
- Müller, S., y Ardoíno, M. (2016). *Procesamiento de carnes y embutidos*. Frankfurt, Alemania: Piedra Santa.
- Munn, C. (2004). *Marine Microbiology: ecology and applications*. New York: BIOS Scientific Publisher.
- Murthy, B. Murch, S. Saxena, P. (1998). Thidiazuron: a potent regulator of *in vitro* plant morphogenesis. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*. 34 (6):267-75.
- Naveena, B. Sen, A. Vaithyanathan, S. Babji, Y. Kondaiah, N. (2008). Comparative efficacy of pomegranate juice, pomegranate rind powder and BHT in cooked chicken patties. *Meat Sci*. 3(80), 1304–1308. doi: 10.1016/j.meatsci.2008.06.005.

- Olivera, M., Ferreyra, V., Giacomino, S., Curia, A., Pellegrino, N., Fournier, M., y Apro, N. (2012). Desarrollo de barras de cereales nutritivas y efecto del procesado en la calidad proteica. *Rev. chil. Nut.*, 39(3), 18-25.
- ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA ALIMENTACIÓN Y LA AGRICULTURA (FAO). (2014). *Clasificación de los productos cárnicos*. Roma, Italia.
- Ozgen, M., Reese, R., Tulio, A., Scheerens, C., y Miller, A. (2006). “Modified 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) method to measure antioxidant capacity of selected small fruits and comparison to ferric reducing antioxidant power (FRAP) and 2,2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) methods”, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, (10)54, 1151-1157.
- Padilla, F., Rincón, A., y Bou, L. (2008). Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. Venezuela. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. *ALAN* (58)3.
- Park, Y., Leitzmann, M., Freedman, N., Dowling, E. & Reedy, J. (2009). Fruit and vegetable intake and risk of cancer: a prospective cohort study. *Am J Clin Nutr.* 9(89):347-53.
- Pierre, B. (2000). *EL degustador. El jurado del análisis sensorial. Herramientas del análisis sensorial*. Análisis sensorial de los vinos. Enología. Fundamentos Científicos y Enológicos. Mundi Prensa, AMV Ediciones.
- Prior, R., Wu, X., y Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 53:4290 - 4302.
- Poveda, T., y Sánchez, J. (2008). *Estudio comparativo en técnicas de recuento rápido en el mercado y placas petrifilmTM 3MTM para el análisis de alimentos*(tesis de posgrado). Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- Pulido, R., Bravo, L., y Saura, F. (2000). “Antioxidant activity of dietary polyphenols as determined by a modified ferric reducing/ antioxidant power assay”. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 48 3396-3402

- Radice, M., Bravo, L., Pérez, M., Cerda, J., Tapuy, A. (2017). Determinación de polifenoles en cinco especies amazónicas con potencial antioxidante. *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología*, 6(1), 55-64
- Ramos, L., y Vidal, L. (2008). Análisis de la contaminación microbiológica (coliformes totales y fecales) en la Bahía de Santa Marta, Caribe Colombiano. *Acta biol.Colomb.*, 13 (3), 87 – 98.
- Restrepo, M. (2008). Reporte proyecto de investigación. Los productos cárnicos como alimentos Funcionales. Medellín: Universidad Nacional de Colombia – Sede Medellín.
- Robledo, D., Freile, Y., Chan-Bacab, M., Ortega, B. (2008). Antileishmanial properties of tropical marine algae extracts. *Fitoterapia*, 79 (5): 374 – 377.
- Ruusunen, M., & Puolanne, E. (2005). Reducing sodium intake from meat products. *Meat Science*, 70, 531-541.
- Shah, M. (2014). Plant extracts as natural antioxidants in meat and meat products. *Meat Sci.* 14 (98), 21-33.
- Sánchez, A., Torrescano, G., Camou, J., González, N., y Hernández, G. (2008). Sistemas combinados de conservación para prolongar la vida útil de la carne y productos cárnicos. *NACAMEH*, 2(2), 124 – 159.
- Schoeter, H., Heiss, C., Balzer, J., y Kleinbongard, P. (2006). Epicatechin mediates beneficial effects of flavanol-rich cocoa on vascular function in humans. *Proc Natl Acad Sci USA*, 103, 1024-1029
- Tirado, D., Montero, P., y Acevedo, D. (2015). Estudio Comparativo de Métodos Empleados para la Determinación de Humedad de Varias Matrices Alimentarias.
- Tomas, B., Chérrez, A, Silva, CJ., Medina, A. (2007). A New Process To Develop a Cocoa Powder with Higher Flavonoid Monomer Content and Enhanced Bioavailability in Healthy Humans. *J Agr Food Chem*, 55: 3926-3935.
- Valencia, I., O’Grady, M. N., Ansorena, D., Astiasaran, I., & Kerry, J. P. (2008). Enhancement of the nutritional status and quality of fresh pork sausages following the addition of linseed oil, fish oil and natural antioxidants. *Meat Science*, 80(4), 1046-1054.

- Valenzuela, V., Carolina, C., y Pérez, M.(2016). Actualización en el uso de antioxidantes naturales derivados de frutas y verduras para prolongar la vida útil de la carne y productos cárneos. *Rev. chil. nutr.* 43(2): 188-195.
- Vidal, J. (2009). Tecnología de los embutidos curados. *CYTA – JournalofFood.* 1(5), 129 – 133.
- Weisburger, J. (2001).Mechanism of action of antioxidants as exemplified in vegetables,*Exp. Biol. Med.* 226: 891-7.
- Zamora, J. (2007). Antioxidantes: micronutrientes enlucha por la salud. *Revista chilena de nutrición,* 34(1), 17-26.
- Zhang, W., Xiao, S.,&Ahn, D. (2013). Protein oxidation: basicprinciples and implications for meat quality. *CritRevFoodSciNutr,* 53, 191-201.

ANEXOS

Anexo 1. Proceso de elaboración del chorizo



1. Formulación y pesado de ingredientes



2. Molido de carne y grasa



3. Mezclado de ingredientes



4. Embutido del chorizo



5. Producto terminado