

Efecto del reemplazo parcial de nitrito de sodio por achiote (*Bixa orellana* L.) en las propiedades de salchichas frankfurter

Pedro Joel Ferrufino Peña

**Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano
Honduras**

Noviembre, 2017

ZAMORANO
CARRERA DE AGROINDUSTRIA ALIMENTARIA

Efecto del reemplazo parcial de nitrito de sodio por achiote (*Bixa orellana* L.) en las propiedades de salchichas frankfurter

Proyecto especial de graduación presentado como requisito parcial para optar al título de Ingeniero en Agroindustria Alimentaria en el Grado Académico de Licenciatura

Presentado por

Pedro Joel Ferrufino Peña

Zamorano, Honduras

Noviembre, 2017

Efecto del reemplazo parcial de nitrito de sodio por achiote (*Bixa orellana* L.) en las propiedades de salchichas frankfurter

Pedro Joel Ferrufino Peña

Resumen. El nitrito de sodio es uno de los ingredientes principales en la elaboración de productos cárnicos ya que aporta olor, sabor, aroma y sirve como inhibidor del microorganismo patógeno *Clostridium botulinum*. El uso de nitrito de sodio en productos cárnicos es regulado, ya que en contacto con calor o cambios de pH produce nitrosaminas que en ingesta excesiva producen cáncer gástrico. El achiote (*Bixa orellana* L.) se ha utilizado para reemplazar el nitrito de sodio por sus propiedades como colorante natural, antioxidante y agente antimicrobiano. El objetivo de este estudio fue elaborar una salchicha frankfurter con adición de achiote como colorante natural disminuyendo la cantidad de nitrito de sodio en la formulación, usando cuatro tratamientos: Control (0 ppm de nitrito de sodio y 0% de achiote), N150/B0 (150 ppm de nitrito de sodio y 0% de achiote), N75/B0.05 (75 ppm y 0.5% achiote) y N0/B1 (0 ppm nitrito de sodio y 1% de achiote) usando un diseño de Bloques Completos al Azar. Se midieron características físico-químicas, microbiológicas y sensoriales. Las salchichas frankfurter elaboradas con N75/B0.5 no fueron diferentes en apariencia, color, jugosidad, textura y aceptación general a las salchichas N150/B0; pero exhibieron tonalidades rojas (a*) y amarillas (b*) más altas y menores valores de luminosidad (L). No hubo diferencias entre tratamientos en los análisis proximales y microbiológicos. Se recomienda evaluar la vida anaquel de las salchichas frankfurter con la adición de achiote en sustitución de nitrito de sodio.

Palabras clave: Colorante natural, grupo heme, nitrosación.

Abstract. Sodium nitrite is one of the main ingredients in the manufacture of meat products as it provides odor, flavor, aroma and serves as an inhibitor of the pathogenic microorganism *Clostridium botulinum*. The use of sodium nitrite in meat products is regulated, because in contact with heat or changes in pH, produces nitrosamines that in excessive intake produces gastric cancer. Annatto (*Bixa orellana* L.) has been used to replace sodium nitrite because of its properties as a natural colorant, antioxidant and antimicrobial agent. The objective of this study was to elaborate a frankfurter sausage with the addition of annatto as a natural colorant reducing the amount of sodium nitrite. The study was analyzed with a Complete Randomized Block Design using four treatments: Control (0 ppm of sodium nitrite and 0% of annatto), N150/B0 (150 ppm sodium nitrite and 0% annatto), N75/B0.05 (75 ppm and 0.5% annatto) and N0/B1 (0 ppm sodium nitrite and 1% annatto). Physicochemical, microbiological and sensory characteristics were measured. The frankfurter sausages elaborated with N75/B0.5 were not different in appearance, color, juiciness, texture and general acceptance to the N150/B0 sausages; but they exhibited higher red (a*) and yellow (b*) shades and lower brightness values (L). There were no differences between treatments in proximal and microbiological analyzes. It is recommended to evaluate the shelf life of frankfurter sausages with the addition of annatto in replacement of sodium nitrite.

Key words: Heme group, natural colorants, nitrosation.

CONTENIDO

Portadilla	i
Página de firmas.....	ii
Resumen.....	iii
Contenido.....	iv
Índice de Cuadros, Figuras y Anexos	v
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	3
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	8
4. CONCLUSIONES	16
5. RECOMENDACIONES	17
6. LITERATURA CITADA.....	18
7. ANEXOS	23

ÍNDICE DE CUADROS, FIGURA Y ANEXOS

Cuadros	Página
1. Grupos experimentales del estudio.....	3
2. Formulaciones de la salchicha frankfurter para los cuatro tratamientos estudiados	4
3. Resultados de análisis proximal de salchichas frankfurter con diferentes concentraciones de nitrito de sodio y <i>Bixa orellana</i>	9
4. Resultados de análisis de textura de salchichas frankfurter con diferentes concentraciones de nitrito de sodio y <i>Bixa orellana</i>	10
5. Resultados de análisis de potencial de hidrógeno de salchichas frankfurter con diferentes concentraciones de nitrito de sodio y <i>Bixa orellana</i>	11
6. Resultado de análisis de color de salchichas frankfurter con diferentes concentraciones de nitrito de sodio y <i>Bixa orellana</i>	12
7. Resultados de análisis microbiológico de salchichas frankfurter con diferentes concentraciones de nitrito de sodio y <i>Bixa orellana</i>	13
8. Resultado de análisis sensorial de aceptación de salchichas frankfurter con diferentes concentraciones de nitrito de sodio y <i>Bixa orellana</i>	14
9. Resultado de análisis sensorial de preferencia de salchichas frankfurter con diferentes concentraciones de nitrito de sodio y <i>Bixa orellana</i>	15
Figura	Página
1. Flujograma para la elaboración de salchichas frankfurter.....	5
Anexos	Página
1. Extracción de <i>Bixa orellana</i> en medio oleosos para la elaboración de pruebas preliminares de tratamientos de salchicha frankfurter evaluando la reducción de diferentes niveles de nitrito de sodio en adición de <i>Bixa orellana</i>	23
2. Adición de los ingredientes en “mini cutter” para la elaboración de pruebas preliminares de tratamientos de salchicha frankfurter evaluando diferentes niveles de reducción de nitrito de sodio en adición de <i>Bixa orellana</i>	23
3. Pruebas preliminares de tratamientos de salchichas frankfurter embutidos con diferentes niveles de reducción de nitrito de sodio en adición de <i>Bixa orellana</i> ..	24
4. Análisis de color en la masa cruda de las pruebas preliminares con diferentes niveles de reducción de nitrito de sodio en adición de <i>Bixa orellana</i>	25

Anexos	Página
5. Análisis de pH en la masa cruda de las pruebas preliminares con diferentes niveles de reducción de nitrito de sodio en adición de <i>Bixa orellana</i>	25
6. Producto terminado de los cuatro tratamientos finales con diferentes niveles de reducción de nitrito de sodio en adición de <i>Bixa orellana</i>	26
7. Muestras para análisis sensorial de los cuatro tratamientos de salchicha frankfurter con diferentes niveles de reducción de nitrito de sodio en adición <i>Bixa orellana</i>	26

1. INTRODUCCIÓN

La industria cárnica ofrece opciones a los consumidores creando diferentes productos a base de carne. Los embutidos se consideran un producto cárnico que como ingrediente principal contiene carne de origen animal seguido por grasa, aditivos alimenticios, especias que pueden ser embutidos en tripa artificial o natural que facilita crear un producto consistente (USDA 2011). La salchicha frankfurter es un embutido cocido, elaborado con carnes de cerdo, vacuno, pollo o sus mezclas que contiene grasa de cerdo formando una emulsión con el tipo de carne seleccionado, para luego ser embutido en tripa natural o artificial de 18-28 mm de diámetro y llevado a un proceso de cocción. Esta salchicha puede o no someterse a un proceso de ahumado (Junta de Andalucía 2013).

El nitrito de sodio es uno de los ingredientes principales en la elaboración de productos cárnicos ya que sirve como inhibidor del microorganismo patógeno *Clostridium botulinum*. También contribuye al desarrollo del color rojo/rosado característico en los productos cárnicos; y retarda el desarrollo de rancidez de las grasas, mismas que liberan olores y sabores desagradables (Weiss *et al.* 2010). Wirth (1992) afirma que se necesitan de 30 a 50 ppm de nitrito de sodio para que un producto cárnico tenga una coloración rosada.

En el sistema digestivo, el nitrito de sodio se convierte rápidamente por la acción enzimática y bacteriana permitiendo que el ácido nitroso pueda reaccionar con aminas, amidas y aminoácidos para formar compuestos N-nitroso (Gangolli *et al.* 1994). Ventanas *et al.* (2004) afirman que los compuestos de nitrosaminas son formados por aminas secundarias unidas al ácido nitroso mediante una reacción de nitrosación. El nitrito de sodio al entrar en contacto con calor o cambios de pH se une con los grupos de aminas que producen nitrosaminas, que en ingesta excesiva pueden causar problemas en la salud.

En los años cincuenta se realizaron estudios de las propiedades tóxicas de dimetilnitrosamina y de la producción de tumores hepáticos primarios malignos en ratas por alimentación de dimetilnitrosamina, reportando por primera vez la formación de nitrosaminas cancerígenas a partir de nitritos de sodio (Barnes y Magee 1954; Magee y Barnes 1956). Sin embargo, Jakszyn y González (2006) no encontraron asociación entre la ingesta de alimentos cárnicos procesados con el uso de nitrito de sodio y el riesgo de cáncer gástrico. Estudios más recientes de Santarelli *et al.* (2008) han determinado que la nitrosación puede incrementar la toxicidad del grupo heme en productos curados.

El uso de nitrito y nitrato están regulados por organizaciones como la Organización de las Naciones Unidas (FAO), Departamento de Agricultura de los Estados Unidos de América (USDA) y el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA 2010) debido a las preocupaciones en el consumo de nitrito de sodio. La industria ha optado por disminuir el uso de nitrito en los productos cárnicos, pero la reducción o sustitución de ingredientes artificiales por naturales sin alterar las características del producto han sido limitantes para la elaboración de nuevos productos. Sin embargo, la demanda de productos alimenticios con uso de colorantes naturales del 2003 al 2007 incrementó en un 10% (Rugeles *et al.* 2011). Debido a la tendencia de productos saludables, la industria cárnica ofrece a los consumidores productos que cumplan con la demanda sin cambiar las características físicas y sensoriales de los productos (AINIA 2015).

Weiss *et al.* (2010) afirman en un estudio de avances de ingredientes y sistemas de procesamiento de carne y productos cárnicos que existen concentraciones de nitritos y nitratos en productos naturales como ser la sal de mar sin refinar, azúcar turbinado, apio, zanahoria, remolacha y jugo de espinaca que pueden ser utilizados en la elaboración de productos cárnicos como sustituyente de nitrito de sodio. Zarringhalami *et al.* (2009) y Cuong y Chin (2016) evaluaron el efecto del remplazo de nitrito de sodio por achiote (*Bixa orellana*) en productos cárnicos. El extracto de achiote está catalogado como un aditivo de color (colorante) exento de certificación, recibiendo el código E160b en 1963 (FDA 2015). Un colorante se define como un pigmento u otra sustancia que pueda conferir color a un alimento, fármaco o cosmético haciéndolos atractivos, apetitosos e informativos (FDA 2010).

El achiote (*Bixa orellana* L.) es una planta nativa del Caribe y Suramérica y se cataloga como una especia de color rojo/amarillo utilizada como colorante natural en quesos y productos cárnicos (Aditivos & Ingredientes, sf). De la parte externa de la semilla de achiote se extraen la *cis-bixina* que representa al 80% de carotenoides y a partir de este compuesto se obtiene la norbixina (liposoluble) y la sal de norbixina (hidrosoluble) (Raddatz *et al.* 2017; Rocha *et al.* 2012).

Se ha demostrado que el extracto de achiote también es utilizado como agente antimicrobiano para inhibición de microorganismos patógenos como *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Clostridium perfringens* a partir de una concentración de 0.08 a 0.16% (Galindo *et al.* 2003; Zarringhalami *et al.* 2009).

La presente investigación se enfocó en la elaboración de una salchicha tipo frankfurter evaluando la adición de un colorante natural ampliamente difundido en la industria alimentaria, "*Bixa orellana*". Se establecieron los siguientes objetivos en el estudio:

- Elaborar una salchicha frankfurter con adición de *Bixa orellana* como colorante natural disminuyendo la cantidad de nitrito de sodio.
- Realizar un análisis físico-químico, microbiológico y sensorial de la salchicha frankfurter utilizando *Bixa orellana* como sustituto de nitrito de sodio.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La elaboración de las salchichas frankfurter y los análisis físico-químicos, microbiológicos y sensoriales se llevaron a cabo en la planta piloto de innovación de alimentos, laboratorios de análisis de alimentos, microbiología y sensorial de la Escuela Agrícola Panamericana, El Zamorano. Estudios preliminares se realizaron en los laboratorios del Departamento de Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ingeniería de Alimentos de la Universidad Estadual de Campinas, Brasil.

Diseño experimental.

Se utilizó un diseño de Bloques Completos al Azar (BCA) con cuatro tratamientos que resultaron de la combinación de diferentes niveles de nitrito de sodio y *Bixa Orellana* los cuales se muestran en el Cuadro 1. Se realizaron tres repeticiones, obteniendo un total de 12 unidades experimentales. Los resultados se analizaron por medio del programa Sistema de Análisis Estadístico (SAS® 9.4) utilizando un análisis de varianza ANDEVA con una separación de medias Duncan, usando un nivel de significancia de $P < 0.05$. Además, los resultados de la prueba sensorial afectiva de preferencia fueron analizados por medio de una prueba de Chi Cuadrado ($P < 0.05$).

Cuadro 1. Grupos experimentales del estudio.

Tratamiento	Nitrito de sodio (ppm)	<i>Bixa orellana</i> (%)
Control	0.0	0.0
N150/B0	150.0	0.0
N75/B0.5	75.0	0.5
N0/B1	0.0	1.0

Control: salchicha frankfurter sin adición de nitrito de sodio y *Bixa orellana*; N 150/B0: salchicha frankfurter con 150 ppm de nitrito de sodio y 0% de *Bixa orellana*; N75/B0.5: salchicha frankfurter con 75 ppm de nitrito de sodio y 0.5% de *Bixa orellana*; N0/B1: salchicha frankfurter con 0 ppm de nitrito y 1% de *Bixa orellana*.

Formulación.

Se utilizaron como materia prima Carne Deshuesada Mecánicamente (CDM) de Pollo (Koch, EUA), recortes de carne de res 1 (90:10), recortes de carne de res 2 (60:40) y recortes de carne de cerdo 3 (50:50). Las proporciones corresponden a la cantidad de carne:grasa que contiene cada materia prima. Los ingredientes no cárnicos utilizados fueron: cloruro de sodio (Bringa S.A, Colombia), sal de cura (6.25% de nitrito de sodio) (Industria de Alimentos EYL S.A, Honduras), tripolifosfato de sodio (STPP Food Additive, China), eritorbato de sodio, almidón de papa (Emsland Group, Alemania), lactato de sodio (Henan Jindan Lactic Acid Technology Co., China), azúcar (Azucarera Chumbagua S.A de CV., Honduras), achiote (*Bixa orellana* L.), nuez moscada, pimienta negra y ajo en polvo (Alimentos y Especies S. de RL., Honduras). La formulación de los cuatros tratamientos desarrollados en el estudio se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Formulaciones de la salchicha frankfurter para los cuatro tratamientos estudiados.

Materia Prima	N150/B0 (%)	Control (%)	N75/B0.5 (%)	N0/B1 (%)
Res 1	22.00	22.00	22.00	22.00
Res 2	10.00	10.00	10.00	10.00
CDM de pollo	30.00	30.00	30.00	30.00
Cerdo 3	13.00	13.00	13.00	13.00
Hielo	15.00	15.00	15.00	15.00
Almidón de papa	2.80	2.80	2.31	2.01
Azúcar	1.00	1.00	1.00	1.00
Ajo en polvo	0.12	0.12	0.12	0.12
Tripolifosfato de sodio	0.54	0.54	0.54	0.54
Nuez moscada	0.19	0.19	0.19	0.19
Pimienta negra	0.25	0.25	0.25	0.25
Eritorbato de sodio	0.05	0.05	0.05	0.05
Achiote	0.00	0.00	0.50	1.00
Sal nitrificada (6.25%)	0.23	0.00	0.12	0.00
Sal yodada	1.98	2.20	2.08	2.00
Lactato de sodio solución al 60%	2.85	2.85	2.85	2.85
Total	100.00	100.00	100.00	100.00

CDM: Carne Deshuesada Mecánicamente.

Res 1: Recortes de carne de res con proporción de carne y grasa (90:10).

Res 2: Recortes carne de res con proporción de carne y grasa (60:40).

Cerdo 3: Recortes carne de carne de cerdo con proporción de carne y grasa (50:50).

Control: salchicha frankfurter sin adición de nitrito de sodio y *Bixa orellana*; N150/B0: salchicha frankfurter con 150 ppm de nitrito de sodio y 0% de *Bixa orellana*; N75/B0.5: salchicha frankfurter con 75 ppm de nitrito de sodio y 0.5% de *Bixa orellana*; N0/B1: salchicha frankfurter con 0 ppm de nitrito y 1% de *Bixa orellana*.

Procedimiento para la elaboración de salchicha frankfurter.

Para la elaboración de los cuatro tratamientos se estandarizó el flujo de proceso (Figura 1) variando únicamente los ingredientes dependiendo de la formulación correspondiente (Cuadros 2).

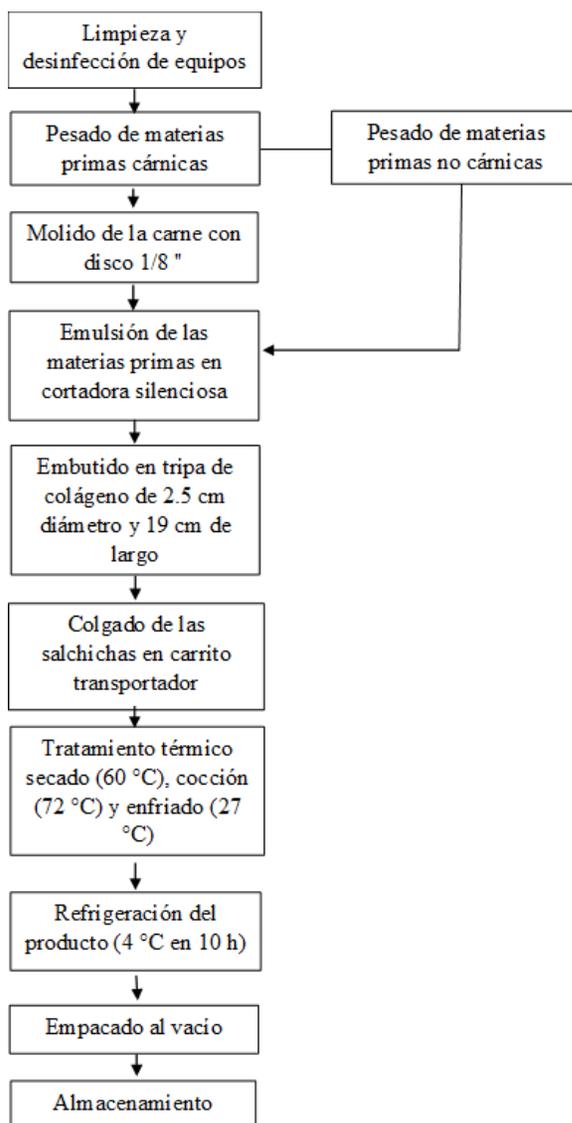


Figura 1. Flujograma para la elaboración de salchichas frankfurter.

Pesado de ingredientes no cárnicos. El pesado de los ingredientes no cárnicos se realizó un día previo a la elaboración del producto en una balanza Ohaus modelo LS2000 para cada formulación (Cuadro 2).

Pesado de materia prima cárnica. Se pesaron los recortes (res 1, res 2 y cerdo 3) y CDM de pollo en una balanza Ohaus (Defender 3000).

Molido. Los recortes de carne de res 1 y 2 se molieron en un molino Thompson™ 900 (Series Mixer/ Grinder), utilizando un disco de orificio de 1/8 de pulgada a temperaturas no mayores a 7 °C.

Cortado. Se colocaron todas las materias primas en una cortadora silenciosa (Cutter) hasta que se formó una pasta fina y uniforme en un tiempo de 25 min a una temperatura no mayor a 12 °C. Posteriormente, se almacenó la pasta en cuarto frío a una temperatura constante de 4 °C.

Embutido. Se trasladó la pasta a la embutidora de pistón hidráulica (Frey Kont C120), donde se embutieron las mezclas en fundas de colágeno de 2.5 cm de diámetro y 19 cm de largo.

Tratamiento térmico y enfriado. Una vez que el producto fue embutido, se trasladó al horno Enviro-Pak (modelo CVU-650E) dentro del horno se dieron cuatro etapas: la de secado con una duración de 15 y 30 min a una temperatura de 60 °C, seguido de cocción hasta alcanzar una temperatura interna de 72 °C y terminando con una etapa de enfriamiento con agua durante 30 min, hasta alcanzar una temperatura de 27 °C.

Refrigeración. Las muestras de salchicha frankfurter a 27 °C se llevaron a una temperatura de 4 °C en un tiempo no mayor a 10 horas.

Empacado al vacío. Se procedió a empacar las salchichas frankfurter en una máquina de vacío de doble campana Ultravac® 2100 (marca Koch) en bolsas plásticas 9' × 11" × 70 μm (marca Tripac) con capa permeable de EVOH, colocando aproximadamente 454 g (5 salchichas) en cada bolsa.

Almacenamiento de producto terminado. Se almacenaron en un cuarto frío a temperatura de 2 a 4 °C hasta ser utilizados para cada análisis.

Análisis físico-químicos.

Análisis proximal. El porcentaje de humedad se analizó utilizando la metodología descrita AOAC 950.46 (2008), utilizando para el secado un horno de aire forzado (marca Fisher Scientific modelo 750F) a 105 °C. El contenido de proteína cruda se determinó determinado por el método AOAC 2001.11 (2005) utilizando el digestor kjeldahl marca FOSS (modelo DS 020). Para la obtención de grasa cruda se usó el método AOAC 991.36 (2006) con el equipo Soxtec™ (marca FOSS). Para el análisis de cenizas las muestras fueron calcinadas

en un horno mufla Sybron Thermolyne (modelo FA16730) siguiendo el método AOAC 923.03 (2005). Los carbohidratos se determinaron por diferencia de nutrientes.

Concentración de hidrógeno. Se utilizó un potenciómetro marca OHAUS (modelo ST2100) siguiendo la metodología AOAC 981.12.

Análisis de color. Se realizó el análisis de color de las salchichas frankfurter con el colorímetro Colorflex HunterLab (modelo 45/0). En cada repetición se calibró el equipo para evitar la variación en el uso previo al análisis. Para colocar la muestra se realizó una pasta homogénea de cada uno de los tratamientos y se realizó la medición, reportando los valores Hunter L, a*, b*.

Análisis de textura. El perfil de textura se determinó por medio del equipo Brookfield (CT3 4500) con una sonda TA7. Las muestras de salchicha se cortaron en piezas con diámetro de 20 y 30 mm de altura, las cuales fueron comprimidas hasta un 30% de su peso original con velocidad de 1 mm/s. Se obtuvieron los resultados de dureza, cohesividad, elasticidad y masticabilidad.

Análisis sensorial. Se efectuó una prueba sensorial afectiva de aceptación para cada uno de los tratamientos estudiados. Se midieron los siguientes atributos: color, jugosidad, sabor, textura y aceptación general. Las muestras fueron cortadas en piezas con longitud de 10 mm y se acompañaron con galletas de soda y agua para la limpieza del paladar. Para la codificación de las muestras se asignaron números de tres dígitos distintos para evitar interpretaciones personales. El estudio fue llevado a cabo con 95 panelistas.

Análisis microbiológicos. Debido a que los tratamientos fueron evaluados por un análisis sensorial se aseguró que las muestras cumplieran con los parámetros microbiológicos tomando de referencia el Reglamento Técnico Centro Americano para productos cárnicos cocidos (RTCA 2009) y el Ministerio de Salud de la República de Perú (2008). Se analizaron bacterias mesófilas aerobias y coliformes totales. Para determinar la presencia de bacterias mesófilas aerobias se utilizó el método BMA-FDA (Food and Drug Administration 2001) y para coliformes totales se usó el método CT-VP-APHA (American Public Health Association 2015).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Análisis proximal.

El Cuadro 3 muestra los promedios y las desviaciones estándar del análisis proximal de las salchichas frankfurter. La reducción en 50% de nitrito de sodio unido a un incremento de 0.5% de *Bixa orellana* resultó en un aumento ($P < 0.05$) en el contenido de humedad de las salchichas frankfurter. No obstante, este resultado no se observó en salchichas frankfurter a mayor adición de *Bixa orellana* en sustitución de nitrito de sodio ya que no se encontraron diferencias ($P > 0.05$) entre salchichas frankfurter provenientes del tratamiento N0/B1 en comparación con las que no contenían *Bixa orellana* (Control y N150/B0). Resultados similares los obtuvieron Van y Thi (2016), quienes demostraron que la adición de *Bixa Orellana* a menores porcentajes no influyó en la retención de agua cuando se sustituyó por el contenido de nitrito de sodio.

Cuadro 3. Resultados de análisis proximal de salchichas frankfurter con diferentes concentraciones de nitrito de sodio y *Bixa orellana*.

TRT	Media \pm D.E.				
	Humedad (%)	Lípidos (%)	Cenizas (%)	Proteína (%)	Carbohidratos (%)
Control	61.4 \pm 1.31 ^{ab}	15.6 \pm 0.13 ^a	2.29 \pm 0.26 ^a	11.1 \pm 1.73 ^a	5.63 \pm 2.87 ^a
N150/B0	60.8 \pm 2.00 ^b	15.6 \pm 0.12 ^a	2.59 \pm 0.32 ^a	12.3 \pm 0.83 ^a	4.79 \pm 2.11 ^a
N75/B0.5	61.7 \pm 1.61 ^a	15.5 \pm 0.14 ^a	2.46 \pm 0.24 ^a	11.6 \pm 1.04 ^a	4.78 \pm 2.07 ^a
N0/B1	61.0 \pm 2.08 ^{ab}	15.6 \pm 0.13 ^a	2.52 \pm 0.33 ^a	11.2 \pm 1.33 ^a	5.66 \pm 2.34 ^a
CV (%)	2.86	0.83	12.08	11.64	22.29

TRT: Tratamientos, Control: salchicha frankfurter sin adición de nitrito de sodio y *Bixa orellana*; N150/B0: salchicha frankfurter con 150 ppm de nitrito de sodio y 0% de *Bixa orellana*; N75/B0.5: salchicha frankfurter con 75 ppm de nitrito de sodio y 0.5% de *Bixa orellana*; N0/B1: salchicha frankfurter con 0 ppm de nitrito y 1% de *Bixa orellana*. D.E.: Desviación estándar.

^{ab}Letras diferentes en cada columna indican una diferencia significativa entre tratamientos ($P < 0.05$).

En las salchichas N75/N0.5, N0/B1 y Control no se encontró diferencia ($P > 0.05$) afirmando que el cambio de niveles de adición de *Bixa orellana* y nitrito de sodio no afectó el contenido de humedad. Estos resultados contradicen lo encontrado por Dong *et al.* (2007) al evaluar el efecto del nitrito de sodio en una salchicha cocida, ya que estos investigadores reportaron cambios de humedad en los tratamientos con mayor adición de nitrito de sodio. Por lo que las diferencias de humedad en este estudio pudieron deberse a la no estandarización de parámetros como edad, raza, dieta y manejo ante-mortem de las reses utilizadas en este experimento como lo reportaron Bravo *et al.* (2005) y Hernández (2010).

La disminución de almidón de papa de 0.49 y 0.79% en las formulaciones de salchichas frankfurter N75/B0.5 y N0/B1, respectivamente, no reportó cambios significativo ($P>0.05$) en el contenido de carbohidratos, proteína, cenizas y lípidos en comparación con las fórmulas con un 2.80% de adición de almidón (N150/B0 y Control).

De igual manera no se encontró diferencia significativa ($P>0.05$) para los contenidos de lípidos, cenizas y proteína entre los diferentes tratamientos (Cuadro 3). El Codex Alimentarius (1991) determina que para embutidos cocidos el máximo permitido de adición de grasa es un 35%. Este parámetro se tomó en cuenta en la elaboración de los cuatro tratamientos (Cuadro 2).

Análisis de textura. El Cuadro 4 muestra los resultados de los análisis de textura de salchichas frankfurter con diferentes concentraciones de nitrito de sodio y *Bixa orellana*. No se encontró diferencia significativa ($P<0.05$) en la dureza entre las salchichas provenientes de las diferentes formulaciones. La dureza se define como la fuerza necesaria para comprimir un alimento sólido con los dientes o con la lengua (Reglero 2011). Van y Thi (2016) obtuvieron un aumento en los valores de dureza en salchichas de cerdo al adicionar *Bixa orellana* y nitrito de sodio, obteniendo valores superiores de 18.07-19.21 N en comparación a 16.46 N en las salchichas de cerdo sin adición de *Bixa orellana* y nitrito de sodio.

La cohesividad se determina como el grado que tiene un alimento en comprimirse antes de afectar la estructura (Reglero 2011). El Cuadro 4 muestra mayor cohesividad ($P<0.05$) en el Control en comparación con los tratamientos N150/B0, N75/B0.5 y N0/B1. Este resultado no coincide con lo encontrado por Van y Thi (2016) ya que no encontraron diferencias significativas en cohesividad en las salchichas de cerdo con adición de *Bixa orellana* y nitrito de sodio en comparación con las salchichas control.

En el Cuadro 4 se observa que la adición de nitrito de sodio y *Bixa orellana* generaron diferencias ($P<0.05$) en los diferentes tratamientos en el parámetro de elasticidad, definida por Morgado y Castro (2007) como la unidad adimensional de un alimento en la recuperación de su forma y dimensiones originales a la acción del esfuerzo aplicado. Las salchichas con adición de *Bixa orellana* (N0/B1 y N75/0.5) obtuvieron valores menores de elasticidad en comparación con las salchichas sin *Bixa orellana* y con 150 ppm de nitrito de sodio (N150/B0). Las salchichas frankfurter del tratamiento N75/B0.5 obtuvieron valores inferiores ($P<0.05$) de elasticidad en comparación con las salchichas que no contenían *Bixa orellana* (Control y N150/B0).

Cuadro 4. Resultados de análisis de textura de salchichas frankfurter con diferentes concentraciones de nitrito de sodio y *Bixa orellana*.

TRT	Media \pm D.E.			
	Dureza (N)	Cohesividad	Elasticidad (mm)	Masticabilidad (mJ)
Control	14.58 \pm 2.52 ^a	0.86 \pm 0.04 ^a	4.22 \pm 0.50 ^{ab}	64.44 \pm 22.17 ^a
N150/B0	15.75 \pm 1.66 ^a	0.83 \pm 0.02 ^b	4.33 \pm 0.23 ^a	60.95 \pm 14.18 ^a
N75/B0.5	15.03 \pm 1.68 ^a	0.83 \pm 0.02 ^b	3.93 \pm 0.66 ^c	47.16 \pm 20.41 ^b
N0/B1	15.05 \pm 1.73 ^a	0.83 \pm 0.02 ^b	4.05 \pm 0.51 ^{bc}	68.55 \pm 12.94 ^a
CV (%)	12.62	2.97	11.63	30.00

TRT: Tratamientos, Control: salchicha frankfurter sin adición de nitrito de sodio y *Bixa orellana*; N150/B0: salchicha frankfurter con 150 ppm de nitrito de sodio y 0% de *Bixa orellana*; N75/B0.5: salchicha frankfurter con 75 ppm de nitrito de sodio y 0.5% de *Bixa orellana*; N0/B1: salchicha frankfurter con 0 ppm de nitrito y 1% de *Bixa orellana*.

N: Newton, mm: milímetros, mJ: milijulios, D.E.: Desviación estándar.

^{abc}Letras diferentes en cada columna indican una diferencia significativa entre tratamientos ($P < 0.05$).

La masticabilidad fue diferente ($P < 0.05$) entre tratamientos. Según Reglero (2011) este parámetro determina la energía requerida para masticar un alimento hasta reducirlo a la consistencia necesaria para ser tragado. Las salchichas frankfurter con adición de *Bixa orellana* y nitrito de sodio (N75/B0.5) obtuvieron menores valores ($P < 0.05$) de masticabilidad en comparación a las salchichas con o sin *Bixa orellana* y en presencia o no de nitrito de sodio (N150/0, N0/B1 y Control). Los valores de masticabilidad en tratamientos de salchichas frankfurter Control, N150/0 y N0/B1 se encuentran dentro de los valores reportados por Van y Thi (2016) de 60.68 a 75.64 mJ.

Análisis de potencial de hidrógeno. En el Cuadro 5 se muestran los resultados del análisis de potencial de hidrógeno de las salchichas frankfurter. Los valores de pH fueron mayores ($P < 0.05$) en los tratamientos que incluyeron nitrito de sodio (N150/B0 y N75/B0.5). Se observó una disminución de pH en salchichas Control y N0/B1. Van y Thi (2016) reportaron valores menores de pH a mayor adición de *Bixa orellana* en sustitución de nitrito de sodio. La *Bixa orellana* cuenta con un pH ligeramente ácido (5.61 a 5.86) que sirve de barrera al crecimiento de microorganismos deterioradores. Sin embargo, alcanzar niveles altos de acidez podrían afectar la calidad del producto (Cuong y Chin 2016).

Cuadro 5. Resultados de análisis de potencial de hidrógeno de salchichas frankfurter con diferentes concentraciones de nitrito de sodio y *Bixa orellana*.

TRT	Media \pm D.E.
	pH
Control	6.37 \pm 0.02 ^b
N150/B0	6.46 \pm 0.12 ^a
N75/B0.5	6.53 \pm 0.11 ^a
N0/B1	6.34 \pm 0.03 ^b
CV (%)	1.08

TRT: Tratamientos, Control: salchicha frankfurter sin adición de nitrito de sodio y *Bixa orellana*; N150/B0: salchicha frankfurter con 150 ppm de nitrito de sodio y 0% de *Bixa orellana*; N75/B0.5: salchicha frankfurter con 75 ppm de nitrito de sodio y 0.5% de *Bixa orellana*; N0/B1: salchicha frankfurter con 0 ppm de nitrito y 1% de *Bixa orellana*.
 pH: Potencial de hidrógeno, D.E.: Desviación estándar.
^{ab}Letras diferentes en cada columna indican una diferencia significativa entre tratamientos (P<0.05).

Análisis de color. El color es uno de los parámetros determinantes en la decisión de compra en los productos cárnicos procesados. Valores mayores en la escala de a* se atribuyen a una coloración rosa/roja siendo de mayor aceptación por el consumidor Shan *et al.* (2009). En el Cuadro 6 se reportan valores menores (P<0.05) en luminosidad (L) en salchichas con adición de *Bixa orellana* (N75/B0.5 y N0/B1) en comparación con los tratamientos que no contenían *Bixa orellana*. Van y Thi (2016) reportó que al adicionar mayor cantidad de *Bixa orellana* en una salchicha de cerdo los valores de luminosidad descendían.

Cuadro 6. Resultado de análisis de color de salchichas frankfurter con diferentes concentraciones de nitrito de sodio y *Bixa orellana*.

TRT	Media ± D.E.		
	L	a*	b*
Control	58.32 ± 1.16 ^a	05.07 ± 1.90 ^d	17.30 ± 0.90 ^d
N150/B0	58.24 ± 1.04 ^a	07.39 ± 1.30 ^c	16.51 ± 1.42 ^c
N75/B0.5	52.94 ± 0.57 ^b	17.08 ± 3.09 ^b	32.39 ± 4.58 ^b
N0/B1	48.99 ± 1.05 ^c	19.48 ± 2.86 ^a	36.16 ± 3.83 ^a
CV (%)	1.74	21.95	38.53

TRT: Tratamiento. Control: salchicha frankfurter sin adición de nitrito de sodio y *Bixa orellana*; N150/B0: salchicha frankfurter con 150 ppm de nitrito de sodio y 0% de *Bixa orellana*; N75/B0.5: salchicha frankfurter con 75 ppm de nitrito de sodio y 0.5% de *Bixa orellana*; N0/B1: salchicha frankfurter con 0 ppm de nitrito y 1% de *Bixa orellana*. L: Luminosidad, a*: Valores de verde a rojo, b*: Valores de azul a amarillo, D.E.: Desviación estándar.

^{abcd}Letras diferentes en cada columna indican una diferencia significativa entre tratamientos (P<0.05).

Para el valor a*, que determina colores que fluctúan entre verde a rojo; y para el valor b*, que comprende colores de azul a amarillo, se evidenciaron diferencias (P<0.05) en los cuatro tratamientos. La adición de *Bixa orellana* en sustitución al nitrito de sodio incrementó los valores de a* y b* mostrando resultados similares a los encontrados por Van y Thi (2016) los cuales reportan valores mayores de a* y b* en tratamientos con mayor adición de *Bixa orellana* en sustitución de nitrito de sodio para salchichas de cerdo. Zarringhalami *et al.* (2009) observó aumento en el parámetro b* debido a la adición de *Bixa orellana* en una salchicha cocida. Este atributo fue reportado como no deseado en salchichas cocidas ya que aportaban una tonalidad amarilla al producto.

Análisis microbiológicos. En el Cuadro 7 se reportan las Unidades Formadoras de Colonias (UFC/g) para Bacterias Mesófilas Aerobias (BMA) y coliformes totales. Los valores de bacterias mesófilas aerobias determinan posibles contaminaciones del producto luego del tratamiento térmico, valores altos sirven como indicadores de calidad del producto. No se encontró diferencia significativa (P>0.05) en el crecimiento de BMA entre los tratamientos, cumpliendo con el límite inferior de 5×10^4 permitido por Ministerio de Salud de la República de Perú (2008).

Cuong y Chin (2016) encontraron que el uso de 0.25% de *Bixa orellana* fue más eficiente en la reducción de microorganismo *Enterobacteriacease* cuando se utilizó en tortas de cerdo en comparación con tortas de cerdo con adición de 0.1% de ácido ascórbico. Zarringhalami *et al.* (2009) utilizaron nitrito de sodio y *Bixa orellana* (40:60) en una salchicha cocida para inhibir el crecimiento de *Clostridium perfringens* obteniendo el mismo efecto al compararlo con una salchicha cocida con adición de 120 ppm de nitrito de sodio sin adición de *Bixa orellana*, concluyendo que la *Bixa orellana* puede ser utilizada como agente antimicrobiano.

El estudio reportó ausencia de bacterias coliformes totales, lo que infiere que no existió el crecimiento de *Escherichia coli* (Cuadro 7). El RTCA (2009) determina que para *E. coli* se permite <10 UFC/g para asegurar la inocuidad del producto.

Cuadro 7. Resultados de análisis microbiológico de salchichas frankfurter con diferentes concentraciones de nitrito de sodio y *Bixa orellana*.

TRT	Media ± D.E.	Coliformes totales (Log UFC/g)
	BMA (Log UFC/g)	
Control	3.15 ± 0.48 ^a	< 1
N150/B0	2.67 ± 0.32 ^a	< 1
N75/B0.5	3.09 ± 0.36 ^a	< 1
N0/B1	3.07 ± 0.81 ^a	< 1
CV (%)	16.31	

TRT: Tratamiento, Control: salchicha frankfurter sin adición de nitrito de sodio y *Bixa orellana*; N150/B0: salchicha frankfurter con 150 ppm de nitrito de sodio y 0% de *Bixa orellana*; N75/B0.5: salchicha frankfurter con 75 ppm de nitrito de sodio y 0.5% de *Bixa orellana*; N0/B1: salchicha frankfurter con 0 ppm de nitrito y 1% de *Bixa orellana*.

BMA: Bacterias mesófilas aerobias.

UFC/g: Unidades Formadoras de Colonias por gramo.

D.E.: Desviación estándar.

^aNo existe diferencia significativa entre tratamientos (P>0.05).

Análisis sensorial. El Cuadro 8 muestra los resultados del análisis sensorial de salchichas frankfurter con diferentes concentraciones de nitrito de sodio y *Bixa orellana*. Los panelistas no detectaron diferencia (P>0.05) en los atributos sensoriales de apariencia, color, jugosidad y textura entre salchichas frankfurter N150/B0, N75/B0.5 y N0/B1 alcanzando un nivel de aceptación de “me gusta moderadamente”.

La adición de *Bixa orellana* y/o nitrito de sodio en salchichas frankfurter para los atributos de apariencia y color fue preferida (P<0.05) por los panelistas en comparación con salchichas frankfurter en ausencia de estos aditivos. Zarringhalami *et al.* (2009) adicionando *Bixa orellana* en sustitución de nitrito de sodio encontró que se puede lograr estabilidad de color rojo por 30 días en una salchicha refrigerada a 4 °C.

En el parámetro de jugosidad se observa que la adición de nitrito de sodio en forma exclusiva (N150/B0) en salchichas frankfurter fue preferida por los panelistas (P<0.05) en comparación con salchichas Control. No obstante, los tratamientos N75/B0.5 y N0/B1 fueron similares en sus notas de jugosidad (P>0.05) a las salchichas frankfurter con el máximo nivel de nitrito de sodio en ausencia de *Bixa orellana* (N150/B0).

Cuadro 8. Resultado de análisis sensorial de aceptación de salchichas frankfurter con diferentes concentraciones de nitrito de sodio y *Bixa orellana*.

TRT	Media \pm D.E.					
	Apariencia	Color	Jugosidad	Sabor	Textura	Aceptación general
Control	5.00 \pm 1.87 ^b	4.90 \pm 1.97 ^b	6.28 \pm 1.52 ^b	6.23 \pm 1.74 ^b	6.27 \pm 1.75 ^b	6.12 \pm 1.72 ^c
N150/B0	6.27 \pm 1.72 ^a	6.23 \pm 1.59 ^a	6.82 \pm 1.48 ^a	7.06 \pm 1.48 ^a	6.74 \pm 1.53 ^a	6.92 \pm 1.43 ^a
N75/B0.5	6.58 \pm 1.62 ^a	6.66 \pm 1.64 ^a	6.52 \pm 1.40 ^{ab}	6.36 \pm 1.75 ^b	6.53 \pm 1.70 ^{ab}	6.65 \pm 1.61 ^{ab}
N0/B1	6.26 \pm 1.74 ^a	6.54 \pm 1.67 ^a	6.47 \pm 1.71 ^{ab}	6.14 \pm 1.97 ^b	6.45 \pm 1.84 ^{ab}	6.45 \pm 1.71 ^{bc}
CV	23.06	24.5	18.2	22.6	21.3	20.4

TRT: Tratamiento, Control: salchicha frankfurter sin adición de nitrito de sodio y *Bixa orellana*; N150/B0: salchicha frankfurter con 150 ppm de nitrito de sodio y 0% de *Bixa orellana*; N75/B0.5: salchicha frankfurter con 75 ppm de nitrito de sodio y 0.5% de *Bixa orellana*; N0/B1: salchicha frankfurter con 0 ppm de nitrito y 1% de *Bixa orellana*.

Escala hedónica: 1: Me disgusta muchísimo, 2: Me disgusta mucho, 3: Me disgusta bastante, 4: Me disgusta ligeramente, 5: Ni me gusta, ni me disgusta, 6: Me gusta ligeramente, 7: Me gusta bastante, 8: Me gusta mucho, 9: Me gusta muchísimo.

D.E.: Desviación estándar.

^{abc}Letras diferentes en cada columna indican una diferencia significativa entre tratamientos ($P < 0.05$).

El sabor de las salchichas frankfurter N150/B0 obtuvo mayor aceptación por los panelistas en comparación a salchichas con adición de *Bixa orellana* (N75/N0.5 y N0/B1) y salchichas Control. Los resultados difieren de lo reportado por Zarringhalami *et al.* (2009) que al adicionar *Bixa orellana* en sustitución de nitrito de sodio no encontró cambios de sabor por parte de los panelistas. Sin embargo, Donald *et al.* (1980) reportaron resultados de mayor aceptación por parte de los panelistas a concentraciones mayores de nitrito de sodio en comparación a la disminución de nitrito de sodio en jamón de cerdo.

Las puntuaciones de aceptación general fueron mayores ($P < 0.05$) en las salchichas frankfurter con solo la adición de nitrito de sodio (N150/B0) en comparación con salchichas frankfurter que solo contenían *Bixa orellana* y Control. La aceptación general de las salchichas frankfurter N75/B0.5 no fue diferente ($P > 0.05$) de las producidas con el tratamiento N150/B0, lo que indica que al reducir el nitrito de sodio en un 50% añadiendo *Bixa orellana* al 0.5% se logró obtener una salchicha con el mismo nivel de aceptación. No obstante, a mayor adición de *Bixa orellana* en ausencia de nitrito de sodio no se obtuvo el mismo efecto.

En el Cuadro 9 se muestran los resultados de preferencia de salchichas frankfurter con diferentes concentraciones de nitrito de sodio y *Bixa orellana*. Los porcentajes de preferencia no fueron diferentes ($P > 0.5$) y entre las salchichas frankfurter con las diferentes combinaciones de nitrito de sodio y *Bixa orellana*. En este estudio el grupo de panelistas no generó una tendencia de preferencia por ninguna de las salchichas frankfurter.

Cuadro 9. Resultado de análisis sensorial de preferencia de salchichas frankfurter con diferentes concentraciones de nitrito de sodio y *Bixa orellana*.

TRT	Preferencia (%)
Control	18.95 ^a
N150/B0	27.37 ^a
N75/B0.5	27.37 ^a
N0/B1	26.32 ^a

TRT: Tratamiento.

Control: salchicha frankfurter sin adición de nitrito de sodio y *Bixa orellana*; N150/B0: salchicha frankfurter con 150 ppm de nitrito de sodio y 0% de *Bixa orellana*; N75/B0.5: salchicha frankfurter con 75 ppm de nitrito de sodio y 0.5% de *Bixa orellana*; N0/B1: salchicha frankfurter con 0 ppm de nitrito y 1% de *Bixa orellana*.

Pr Chisq 1.88 > 0.59

4. CONCLUSIONES

- Las salchichas frankfurter elaboradas con la combinación de 75 ppm nitrito de sodio y 0.5% de *Bixa orellana* lograron aceptaciones sensoriales iguales en los atributos de apariencia, color, jugosidad, textura y aceptación general a las salchichas conteniendo únicamente 150 ppm de nitrito de sodio.
- Las salchichas elaboradas con nitrito de sodio sin adición de *Bixa orellana* fueron preferidas por los panelistas en el atributo sabor.
- La adición de *Bixa orellana* como colorante natural en sustitución de nitrito de sodio en salchichas frankfurter permitió mayores tonalidades rojas y amarillas y menor luminosidad.
- El uso de *Bixa orellana* en los tratamientos de salchicha frankfurter en sustitución de nitrito de sodio no aportó una cantidad significativa de macronutrientes en el análisis proximal ni afectó los conteos microbiológicos.

5. RECOMENDACIONES

- Realizar un análisis factorial completo que incluya la combinación *Bixa orellana* y nitrito de sodio para la evaluación de cambios físico-químicos, microbiológicos y sensoriales evaluando la correlación entre ellos.
- Evaluar la vida anaquel de las salchichas frankfurter con la adición de *Bixa orellana* en sustitución de nitrito de sodio.
- Evaluar la adición de *Bixina orellana* en otros productos cárnicos procesados crudos y cocidos.
- Investigar ingredientes cárnicos y no cárnicos que podrían utilizarse en combinación de *Bixa orellana* para mejorar el sabor del producto final.

6. LITERATURA CITADA

Aditivos & Ingredientes, sf. Os Corantes Alimentícios (en línea). [Consultado 2017 ene 30]. Disponible en: http://insumos.com.br/aditivos_e_ingredientes/materias/119.pdf

AINIA (Instituto Tecnológico de la Industria Agroalimentaria), 2015. Innovación para el desarrollo de nuevos productos cárnicos saludables: 7 líneas de trabajo (en línea). [Consultado 2017 oct 5]. Disponible en: <http://www.ainia.es/tecnoalimentalia/consumidor/innovacion-para-el-desarrollo-de-nuevos-productos-carnicos-saludables-7-lineas-de-trabajo/>

American Public Health Association. 2015. Enterobacteriaceae, Coliforms and E. coli as quality and safety indicators. In: Yvonne Salfinger y Mary Lou Tortorello, editores. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Washington, D.C. (Estados Unidos de America): Editorial Board. 69-82.

AOAC (Association of Official Analytical Chemist). 2005. AOAC Official Method 923.03 Ash of Flour.

AOAC (Association of Official Analytical Chemist). 2005. AOAC Official Method 2001.11 Protein (Crude) in Animal Feed, Forage (Plant Tissue), Grain, and Oil seed.

AOAC (Association of Official Analytical Chemist). 2006. AOAC Official Method 991.36 Fat (Crude) in Meat and Meat Products.

AOAC (Association of Official Analytical Chemist). 2008. AOAC Official Method 950.46 Loss on Drying (Moisture) in Meat.

AOAC (Association of Official Analytical Chemist). 2015. AOAC Official Method 981.12 pH of acidified foods.

Barnes J, Magee P. 1954. Some toxic properties of dimethylnitrosamine (en línea). British Journal of Industrial Medicine 11: 167-174.

Bravo P, Ruíz M, González R, Grajales A. 2005. Influencia de la temperatura de refrigeración (*pre-rigor*) sobre la Incidencia de carne PSE en cerdo (en línea). Revista Mexicana de Ingeniería Química 4: 181-189. [Consultado 2017 oct 9]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/237603298_INFLUENCIA_DE_LA_TEMPERATURA_DE_REFRIGERACION_PRE_RIGOR_SOBRE_LA_INCIDENCIA_DE_CAR

NE_PSE_EN_CERDO_INFLUENCE_OF_THE_REFRIGERATION_TEMPERATURE
_BEFORE_RIGOR_ON_THE_INCIDENCE_OF_PSE_OF_PORK_MEAT

Codex Alimentarius Commission. 1991. Codex Committee on processed meat and poultry products (en línea). [Consultado 2016 dic 20]. Disponible en: file:///D:/IR87085%20Pedro%20ferrufino%2016%20Dic%202016/Downloads/al91_16e.pdf

Cuong T, Chin K. 2016. Effects of Annatto (*Bixa orellana L.*) Seeds Powder on Physicochemical Properties, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Pork Patties during Refrigerated Storage (en línea). Korean Journal for Food Science of Animal Resources 36: 476–486. [Consultado 2017 ene 25]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5018507/>

Dong Q, Tu K, Guo L, Yang J, Wang H, Chen Y. 2007. The effect of sodium nitrite on the textural properties of cooked sausage during cold storage [internet]. Journal of Texture Studies 38: 537–554. [Consultado 2017 oct 15]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1745-4603.2007.00112.x/pdf>

Donald B, Gray J, Stanley D, Usborne W. 1980. Role of nitrite in cured meat flavor: Sensory analysis (en línea). Journal of Food Science. 45: 885-904 p. [Consultado 2017 oct 15]. Disponible en: <http://sci-hub.cc/10.1111/j.1365-2621.1980.tb07471.x>

FDA (Food and Drug Administration). 2001. Bacteriological Analytical Manual. Chapter 3. Aerobic Plate Count. Conventional Plate Count Method (en línea). [Consultado 2017 mar 19]. Disponible en: <https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm063346.htm>

FDA (Food and Drug Administration). 2010. Overview of Food Ingredients, Additives & Colors. International Food Information Council (IFIC), U.S. Food, and Drug Administration (en línea). [Consultado 2017 sep 24] Disponible en: <https://www.fda.gov/food/ingredientpackaginglabeling/foodadditivesingredients/ucm094211.htm>

FDA (Food and Drug Administration). 2015. Summary of Color Additives for Use in the United States in Foods, Drugs, Cosmetics, and Medical Devices (en línea). [Consultado 2017 sep 24]. Disponible en: <https://www.fda.gov/forindustry/coloradditives/coloradditiveinventories/ucm115641.htm>

Galindo V, Westhoff D, Rankin S. 2003. Antimicrobial Properties of Commercial Annatto Extracts against Selected Pathogenic, Lactic Acid and Spoilage Microorganisms (en línea). *Journal of Food Protection* 66 (6): 1074-1078.

Gangolli S, van den Brandt P, Feron V, Janzowsky C, Koeman J, Speijers G, Spiegelhalter B, Walker R, Wishnok J. 1994. Nitrate, nitrite and *N*-nitroso compounds (en línea). *European Journal of Pharmacology* 292: 1-38. [Consultado 2017 oct 7]. Disponible en: [http://sci-hub.cc/10.1016/0926-6917\(94\)90022-1](http://sci-hub.cc/10.1016/0926-6917(94)90022-1)

Hernández A. 2010. Control de calidad y seguridad de la carne y productos cárnicos curados mediante el uso de sensores enzimáticos [tesis]. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) en el Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA)-Valencia. [Consultado 2017 oct 2]. 253 p.

Jakszyn P, González C. 2006. Nitrosamine and related food intake and gastric and oesophageal cancer risk: A systematic review of the epidemiological evidence (en línea). *World Journal of Gastroenterology* 12 (27): 4296-4303.

Junta de Andalucía. 2013. Carnes, embutidos y grasas (en línea). Agencia de Defensa de la Competencia de Andalucía Consejería de Economía, Innovación, Ciencia y Empleo. Unión Europea FEDER. [Consultado 2017 ene 30]. Disponible en: http://www.juntadeandalucia.es/defensacompetencia/sites/all/themes/competencia/files/fichas/pdf/16_Salchichas.pdf

Magee P, Barnes J. 1956. The production of malignant primary hepatic tumours in the rat by feeding dimethylnitrosamine (en línea). *British Journal of Cancer* 10 (1): 114-122.

Ministerio de Salud de la República de Perú (2008) Norma sanitaria sobre criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo Humana (en línea). Capítulo III Planes de muestreo. [Consultado 2017 oct 20]. Disponible en: <http://www.promamazonia.org.pe/SBiocomercio/Upload%5CLineas%5CDocumentos/362.pdf>.

Morgado R, Castro E. 2007. Parámetros mecánicos y textura de los alimentos (en línea). Universidad de Chile. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Departamento de Ciencia de los Alimentos y Tecnología Química. [Consultado 2017 oct 20]. Disponible en: <http://www.libros.uchile.cl/files/presses/1/monographs/432/submission/proof/files/assets/common/downloads/publication.pdf>

Raddatz D, Pérez L, Carrari F, Mendoza J, De León F, Pinzón L, Godoy G, Rivera F. 2017. Achiote (*Bixa orellana* L.): a natural source of pigment and vitamin E (en línea). *Association of Food Scientists & Technologists* 54 (6):1729-1741. [Consultado 2017 feb 2]. Disponible en: <http://sci-hub.cc/10.1007/s13197-017-2579-7>

Reglero G. 2011. Curso de análisis sensorial de alimentos (en línea). Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL) Instituto Mixto CSIC-UAM.

[Consultado 2016 dic 20]. Disponible en: https://www.google.hn/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwia3ZnN447XAhUGQSYKHV_1AW4QFggrMAE&url=http%3A%2F%2Fdigital.csic.es%2Fbitstream%2F10261%2F63961%2F1%2F358508.pdf&usg=AOvVaw0bxUA7W019ADE1gotQ8aZR

Rocha C, Bolognesi V, Gaspari J, Miguel O, Costa C. 2012. Carotenoides bixina e norbixina extraídos do urucum (*Bixa orellana* L.) como antioxidantes em produtos cárneos (en línea). *Ciência Rural* 42 (8): 1510-1517. ISSN 0103-8478. [Consultado 2017 feb 2]. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/cr/v42n8/a21412cr5930.pdf>

RTCA (Reglamento Técnico Centroamericano). 2009. Alimentos. Criterios microbiológicos para la inocuidad de alimentos (en línea). [Consultado 2017 mar 20]. Disponible en: http://www.mspas.gob.gt/images/files/drca/normativasvigentes/RTCA_CriteriosMicrobiologicos.PDF

RTCA (Reglamento Técnico Centroamericano). 2010. Alimentos y Bebidas Procesadas. Aditivos Alimentarios (en línea). [Consultado 2017 nov 1]. Disponible en: <http://www.mspas.gob.gt/images/files/drca/normativasvigentes/RTCAAditivosAlimentarios.pdf>

Rugeles L, Ortiz J, Huertas A, Guaitero B. 2011. La cadena de valor de los ingredientes naturales del Bio-comercio para las industrias farmacéutica, alimentaria y cosmética. 1era ed. Bogotá (Colombia): Imageprinting Ltda; [Consultado 2017 feb 5]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/263426416_La_cadena_de_valor_de_los_ingredientes_naturales_del_Biocomercio_para_las_industrias_farmacaceutica_alimentaria_y_cosmetica_-_FAC

Santarelli R, Fabrice P, Denis C. 2008. Processed meat and colorectal cancer: a review of epidemiologic and experimental evidence (en línea). *Nutrition and Cancer* 60: 131-44. [Consultado 2017 oct 17]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/5408535_Processed_Meat_and_Colorectal_Cancer_A_Review_of_Epidemiologic_and_Experimental_Evidence

Shan B, Cai Y, Brooks J, Corke H. 2009. Antibacterial and antioxidant effect of five spice and herb extract as natural preservative of raw pork (en línea). *Journal of the Science of Food and Agriculture* 89: 1879–1885. [Consultado 2017 oct 19]. Disponible en: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jsfa.3667/full>

USDA (United States Department of Agriculture). 2011. Los Embutidos y la Inocuidad de los Alimentos (en línea). Servicio de Inocuidad e Inspección de los Alimentos (FSIS). [Consultado 2017 sep 27]. Disponible en: https://www.fsis.usda.gov/wps/wcm/connect/54f45552-03cd-4528-a6ce-708fa85d99e9/Sausages___Food_Safety_SP.pdf?MOD=AJPERES

Van T, Thi N. 2016. Effects of partial replacement of nitrite by annatto (*Bixa orellana* L.) seed powder on the properties of pork sausages (en línea). *Journal of Science and Technology* 55: 178-187.

Ventanas S, Martín D, Estévez M, Ruiz J. 2004. Nitratos, nitritos y nitrosaminas en productos cárnicos (I) (en línea). Eurocarne 129: 1-15. [Consulta 2017 mar 16]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/283510186_Nitratos_nitritos_y_nitrosaminas_en_productos_carnicos_I

Weiss J, Gibis M, Schuh V, Salminen H. 2010. Advances in ingredient and processing systems for meat and meat products. Meat Science 86: 196-213.

Wirth F. 1992. Curado: formación y conservación del color. *In*: Wirth F, editor. Tecnología de los Embutidos Escaldados. Zaragoza (España): Acribia. p. 127-148.

Zarringhalami S, Sahari M, Hamidi Z. 2009. Partial replacement of nitrite by annatto as a colour additive in sausage (en línea). Meat Science 81: 281–284.

7. ANEXOS

Anexo 1. Extracción de *Bixa orellana* en medio oleosos para la elaboración de pruebas preliminares de tratamientos de salchicha frankfurter evaluando la reducción de diferentes niveles de nitrito de sodio en adición de *Bixa orellana*.



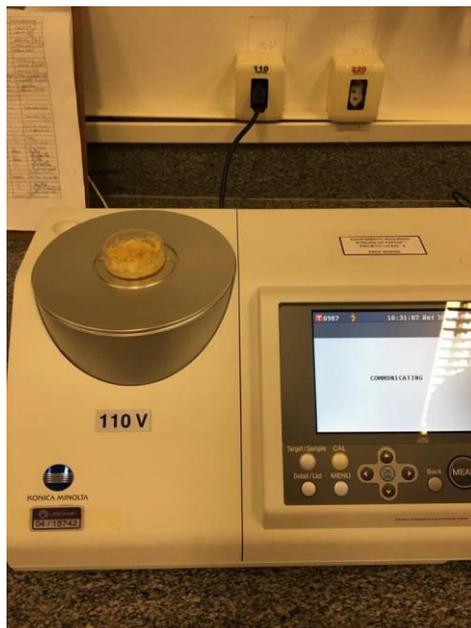
Anexo 2. Adición de los ingredientes en “mini cutter” para la elaboración de pruebas preliminares de tratamientos de salchicha frankfurter evaluando diferentes niveles de reducción de nitrito de sodio en adición de *Bixa orellana*.



Anexo 3. Pruebas preliminares de tratamientos de salchichas frankfurter embutidos con diferentes niveles de reducción de nitrito de sodio en adición de *Bixa orellana*.



Anexo 4. Análisis de color en la masa cruda de las pruebas preliminares con diferentes niveles de reducción de nitrito de sodio en adición de *Bixa orellana*.



Anexo 5. Análisis de pH en la masa cruda de las pruebas preliminares con diferentes niveles de reducción de nitrito de sodio en adición de *Bixa orellana*.



Anexo 6. Producto terminado de los cuatro tratamientos finales con diferentes niveles de reducción de nitrito de sodio en adición de *Bixa orellana*.



Anexo 7. Muestras para análisis sensorial de los cuatro tratamientos de salchicha frankfurter con diferentes niveles de reducción de nitrito de sodio en adición *Bixa orellana*.

