



EPS

Escola Politècnica

UdG Superior

Treball final de grau

Estudi: Enginyeria Agroalimentària

Títol: Aplicació de plasma de sang porcina concentrat per ultrafiltració a la fabricació de pernil cuit

Document: Memòria

Alumne: Andreu Llimós Parcerisa

Director/Tutor: Mònica Toldrà Alegret

Departament: Enginyeria Química, Agrària i Tec. Agroalimentària

Àrea: Tecnologia dels Aliments

Convocatòria (mes/any): Juny 2016



Universitat de Girona

Escola Politècnica Superior

**Aplicació de plasma de sang porcina concentrat per
ultrafiltració a la fabricació de pernil cuit**

Vist-i-plau directora

Mònica Toldrà Alegret

TFG segons el que es disposa en els plans d'estudis d'Enginyeria Agroalimentària
especialitat en Indústries Agràries i Alimentàries de la Universitat de Girona.

Autor

Andreu Llimós Parcerisa

Agraïments

M'agradaria agrair a la meva tutora, la Mònica Toldrà, tota la seva ajuda i els consells que m'ha donat durant aquests mesos; tant al laboratori com durant la redacció del treball. Però sobretot vull donar-li les gràcies per la paciència que ha tingut, ja que sense ella aquest projecte no hauria estat possible.

També vull agrair al Departament d'Enginyeria Química, Agrària i Tecnologia Agroalimentària per permetre'm realitzar aquest treball seguint la línia d'investigació tant interessant i gràcies a la qual he après molt, tant pel què fa al tema del projecte com a moure'm amb més destresa pel laboratori.

A la Dolós Parés, la Carme Carretero, l'Elena Saguer i l'Anna Maria Aymerich, per ajudar-me, aconsellar-me, resoldre'm dubtes sempre que ho necessitava i per fer que les hores al laboratori no es fessin gens pesades.

A en Guillem Coromina, la Clara Castellvell, en David Muñoz, la Tània Cárdenas, en Pau Gironella i en Miquel Vilarrasa, companys de carrera. Ja que encara que amb prou feines cabíem al laboratori, amb ells els matins passaven volant.

A la família i als amics, pel seu suport durant aquests mesos, que s'han interessat pel meu projecte i que no feien més que preguntar a veure com el portava.

ÍNDIX

PARAULES CLAU	1
RESUM	2
1. INTRODUCCIÓ.....	5
1.1 Situació del sector porcí	5
1.2 La sang i el plasma sanguini	6
1.4 Composició de la sang i les seves fraccions.....	8
1.4.1 La fracció cel·lular.....	8
1.4.2 La fracció plasmàtica	9
1.5 Usos del plasma.....	10
1.6 Antecedents del treball	11
1.7 Tecnologies de separació per membrana	12
1.7.1 Tipus de membranes	15
1.7.2 Processos de filtració per membrana.....	17
1.8 Elaboració del pernil.....	18
1.8.1 La carn	19
1.8.2 Altres ingredients i additius.....	21
1.8.3 La cocció	22
2. OBJECTIUS	25
3. MATERIAL I MÈTODES.....	27
3.1 Disseny experimental	27
3.2 Recollida de la sang	30
3.3 Separació del plasma.....	30
3.4 Concentració del plasma per ultrafiltració.....	30
3.5 Determinacions analítiques del plasma	33
3.5.1 Humitat.....	33
3.5.2 Contingut en cendres	34
3.5.3 Contingut en proteïnes	34

3.5.4 Anàlisi microbiològica	35
3.5.5 Contingut en fosfats	35
3.5.6 Contingut en ferro	37
3.6 Elaboració dels pernils cuits	40
3.7 Determinacions analítiques dels pernils cuits.....	42
3.7.1 Pèrdues per cocció	43
3.7.2 pH del pernil	43
3.7.3 Color	43
3.7.4 Activitat de l'aigua.....	45
3.7.5 Humitat.....	46
3.7.6 Contingut de proteïnes.....	46
3.7.7 Contingut de cendres	46
3.7.10 Contingut en fosfats	46
3.7.8 Anàlisi del perfil de textura (TPA).....	47
3.7.9 Capacitat de retenció d'aigua (CRA).....	49
3.8 Anàlisi estadística dels resultats.....	50
3.9 Anàlisi sensorial.....	50
4. RESULTATS I DISCUSSIÓ	53
4.1 Obtenció del plasma sanguini concentrat per ultrafiltració	53
4.1.1 Seguiment del procés.....	53
4.2 Caracterització del plasma concentrat.....	56
4.2.1. Recompte de microorganismes aerobis mesòfils viables	56
4.2.2. Caracterització físico-química	57
4.3 Cocció dels pernils.....	59
4.3.1. Tractaments de cocció	59
4.3.2 Validació dels tractaments de cocció.....	60
4.4 Caracterització dels pernils	62
4.4.1 Caracterització físico-química	62
4.4.2 Paràmetres CIE L*a*b* del color.....	65
4.4.3 Anàlisi del perfil de textura (TPA).....	67
4.5 Anàlisi sensorial.....	67
4.5.1 Resultats de l'anàlisi microbiològica dels pernils cuits	67
4.5.2 Tast d'acceptabilitat	68

5. CONCLUSIONS	73
6. BIBLIOGRAFIA.....	75
7. ANNEX.....	80

Llistat de figures

Figura 1.1. Esquema de les fraccions de la sang.....	8
Figura 1.2. Esquema de la filtració frontal (esquerra) i filtració tangencial (dreta).....	15
Figura 1.3. Esquema de la semipermeabilitat de les membranes en els principals processos de filtració.....	17
Figura 3.1. Esquema del procés d'obtenció del plasma ultrafiltrat realitzat en el treball	27
Figura 3.2. Diagrama de flux del procés d'obtenció dels pernils cuits realitzat en el treball....	29
Figura 3.3. Instal·lació d'ultrafiltració MMS SW 18 (MMS AG Membrane Systems) utilitzat per concentrar el plasma.....	31
Figura 3.4. Detall d'una membrana en espiral	31
Figura 3.5. Diagrama esquemàtic d'un espectrofotòmetre d'absorció atòmica	38
Figura 3.6. Elèctrode utilitzat en la determinació del contingut de ferro	38
Figura 3.7. Procés des de la ionització fins l'emissió, que segueixen els àtoms en el procés d'espectroscòpia d'absorció atòmica	39
Figura 3.8. Cocció dels pernils en un bany d'aigua	42
Figura 3.9. Espai de color LAB	44
Figura 3.10. Equip Novasina Lab Master-aw utilitzat per mesurar l'activitat de l'aigua	45
Figura 3.11. Texturòmetre Texture Expert model TA-XT2 (Stable Micro Systems).....	48
Figura 3.12. Àrees que s'obtenen en l'anàlisi del perfil de textura.....	48
Figura 4.1. Evolució del pes del permeat i la temperatura del retentat respecte el temps durant la concentració del plasma per UF.....	54
Figura 4.2. Evolució del flux de permeat (mitjanes \pm desviació estàndard, n=3) durant el procés de concentració per ultrafiltració del plasma	55
Figura 4.3. Seguiment de l'evolució de la temperatura al centre dels pernils durant els tractaments de cocció en cada repetició	60
Figura 4.4. Imatge de pernil elaborat amb plasma concentrat per ultrafiltració tangencial (esquerra) i de pernil control (dreta)	66
Figura 4.5. Resultats del tast d'acceptabilitat segons el panell de consumidors no ensinistrat	69
Figura 4.6. Resultats del tast d'acceptabilitat pel que fa a si comprarien el producte segons el panell de consumidors no ensinistrat	70

Llistat de taules

Taula 1.1. Components de la sang i la fracció plasmàtica en percentatge.....	8
Taula 1.2. Possibles usos del plasma en la indústria alimentària i les proteïnes que conté.....	12
Taula 1.3. Avantatges i inconvenients de les tecnologies de separació per membrana.....	13
Taula 1.4. Processos de separació per membrana segons la seva força d'impulsió	13
Taula 1.5. Característiques dels quatre tipus principals de membranes de configuració dels mòduls de la filtració per membranes	16
Taula 3.1. Ingredients utilitzats en l'elaboració de la salmorra per la fabricació dels pernills control i amb plasma UF. Valors dels ingredients en grams	41
Taula 4.1. Resultats de l'anàlisi microbiològica en els dos tipus de plasma. Es mostren els valors de la mitjana \pm desviació estàndard (n=3) dels logaritmes de les ufc/mL. Les lletres diferents mostren diferències significatives entre tractaments ($P<0,05$).....	56
Taula 4.2. Resultats de la caracterització físico-química del plasma concentrat per UF i el plasma control. Es mostren els valors de la mitjana \pm desviació estàndard (n=3). Les lletres diferents indiquen diferències significatives entre tractaments ($P<0,05$)	57
Taula 4.3. Resultats de les anàlisis dels fosfats i del ferro expressats sobre extracte sec del plasma concentrat per UF i el plasma control. Es mostren els valors de la mitjana \pm desviació estàndard (n=3). Les lletres diferents indiquen diferències significatives entre tractaments ($P<0,05$)	59
Taula 4.4. Resultats del càlcul del Valor P_{70} dels tractaments de pasteurització en les 3 produccions de pernills realitzades en el treball, suposant que un valor P_{70} de <i>L. monocytogenes</i> , amb $z=7,5$ i $D_{70}=0,34$ min és de 2,04 min.....	62
Taula 4.5. Resultats de les anàlisis físico-químiques (humitat, minves, activitat de l'aigua, CRA, i pH) realitzades als pernills control i als elaborats amb plasma. Es mostren els valors de la mitjana \pm desviació estàndard (n=3). Les lletres diferents mostren diferències significatives entre tractaments ($P<0,05$)	63
Taula 4.6. Resultats de les anàlisis físico-químiques (proteïna, cendres, i fosfats) realitzades als pernills control i als elaborats amb plasma. Es mostren els valors de la mitjana \pm desviació estàndard (n=3). Les lletres diferents mostren diferències significatives entre tractaments ($P<0,05$)	64
Taula 4.7. Valors dels paràmetres CIE $L^*a^*b^*$ del color dels pernills cuits control i dels elaborats amb plasma. Es mostren els valors de la mitjana \pm desviació estàndard (n=3). Les lletres diferents mostren diferències significatives entre tractaments ($P<0,05$).....	65
Taula 4.8. Resultats de l'anàlisi TPA realitzat als pernills control i als elaborats amb plasma. Es mostren els valors de la mitjana \pm desviació estàndard (n=3). Les lletres diferents mostren diferències significatives entre tractaments ($P<0,05$)	67

Taula 4.9. Recomptes de microorganismes aerobis mesòfils totals en els dos tipus de pernil elaborats per fer el tast d'acceptabilitat.....	68
Taula 7.1. Resultats de l'anàlisi T-Test (t-Student) sobre l'efecte del tractament d'ultrafiltració sobre el contingut en humitat, proteïna, les cendres, els recomptes de microorganismes aerobis mesòfils totals sobre extracte humit i sobre extracte sec, sobre el contingut en fosfats i sobre el contingut en ferro del plasma de sang de porc (Ct: plasma control; UF: plasma ultrafiltrat)	80
Taula 7.2. Resultats de l'anàlisi T-Test (t-Student) per l'efecte de la substitució dels polifosfats per plasma concentrat per UF en l'obtenció de pernil cuit sobre les pèrdues per cocció, el pH, el color (L*a*b*), el cromà (C), l'activitat d'aigua, la humitat, el contingut en proteïna, les cendres, la duresa, l'adhesivitat, la cohesivitat, l'elasticitat, la masticabilitat, la CRA i el contingut en fosfats dels pernills. (Ct: plasma control; UF: plasma ultrafiltrat)	80
Taula 7.3. Registre de la temperatura al centre del pernil durant el procés de cocció i càlcul de la letalitat durant el procés i la letalitat acumulada amb el càlcul del valor P ₇₀ per a cada repetició.....	81
Taula 7.4. Exemple del qüestionari que es va entregar al panell de consumidors no ensinistrat per a realitzar l'anàlisi sensorial del pernil control i del pernil elaborat amb plasma concentrat per ultrafiltració tangencial	83

PARAULES CLAU

Subproductes

Sang de porc

Polifosfats

Plasma sanguini

Propietats funcionals

Separació per membranes

Filtració tangencial

Concentració

Ultrafiltració

RESUM

L'objectiu general d'aquest treball va ser establir una fórmula que permetés elaborar pernil cuit sense polifosfats afegits, utilitzant plasma concentrat procedent de sang de porc com a ingredient de la salmorra (en substitució dels polifosfats i l'aigua) i, a la vegada, obtenir un producte sense tants additius i més econòmic.

En primer lloc es va separar el plasma sanguini de la fracció cel·lular mitjançant centrifugació de la sang recollida en un escorxador industrial. Les mostres de sang contenien tripolifosfat sòdic al 4% (p/v) com a anticoagulant.

A posteriori, el plasma es va concentrar fins al 50% mitjançant un procés d'ultrafiltració tangencial en un equip de planta pilot de filtració per membrana. L'objectiu d'aquesta etapa va ser el de concentrar les proteïnes del sèrum. Per dur-ho a terme es va utilitzar una membrana espiral de poliacrilonitril modificat de 30 kDa de pes molecular de tall i una superfície de filtració de 0,32 m². D'aquesta etapa se'n va fer un seguiment tant del flux de permeat recuperat com de la temperatura del retentat.

Els paràmetres que es van determinar de les diferents mostres de plasma control (PC) i concentrat (PUF) van ser el percentatge d'humitat, el contingut en proteïnes, les cendres, el contingut en fosfats i el contingut en ferro. També es van fer recomptes microbiològics tant del PC com del PUF, per conèixer l'efecte de la concentració sobre la microbiota contaminant del plasma.

Les anàlisis realitzades al plasma control i al plasma concentrat per ultrafiltració van revelar que no hi havia una diferència significativa pel que fa als recomptes de bacteris aerobis mesòfils, tot i el procés de concentració i es va observar un augment significatiu en el contingut en proteïna del plasma concentrat respecte al control.

El procediment d'elaboració dels pernils cuits va ser el mateix tant pels elaborats segons la fórmula estàndard (control amb polifosfats) com pels que tenien el plasma UF com a ingredient de la salmorra (sense polisfosfats afegits). Només hi va haver diferència en els ingredients utilitzats.

Es va realitzar la validació del procés de cocció dels pernils. En tots tres casos el valor P₇₀, o el que és el mateix, la letalitat acumulada del procés de pasteurització va

sobrepasar amb escreix els 2,04 minuts que s'estableix com a límit inferior a partir del qual un tractament de pasteurització en productes carnis cuits elaborats amb nitrats es considera efectiu.

Posteriorment, es va fer la caracterització dels pernils . Es van determinar les pèrdues per cocció, pH, el color CIE L*a*b*, l'activitat de l'aigua, la humitat, el contingut en proteïnes, les cendres, la capacitat de retenció d'aigua (CRA), el contingut en fosfats i es va fer un anàlisi del perfil de textura (TPA) on es van avaluar paràmetres com la duresa, adhesivitat, cohesivitat, elasticitat i masticabilitat dels pernils obtinguts.

Els resultats obtinguts van ser els esperats, molt similars entre el pernil control i l'elaborat amb plasma concentrat per ultrafiltració. Cal destacar que es van observar diferències significatives en les pèrdues degudes al procés de cocció, degut a la no presència de polifosfats afegits en el pernil elaborat en plasma. I també pel què fa a la proteïna, ja que el pernil elaborat amb plasma va superar per 2 punts de mitjana el contingut que va presentar el control, cosa que concorda amb els resultats obtinguts de les anàlisis dels dos tipus de plasma.

Adicionalment, es va realitzar una anàlisi sensorial, que va consistir en la determinació de les principals característiques del pernil a càrrec d'un panell de consumidors no ensinistrat de 23 persones, homes i dones, de diferents edats. Als consumidors se'ls van facilitar 3 mostres de cada tipus de pernil i un qüestionari de manera que van poder puntuar variables com l'aspecte del pernil, el color, la olor, el sabor, la textura o la sucositat.

Només 7 consumidors dels 23 que conformaven el panell van dir que comprarien el pernil elaborat amb plasma ultrafiltrat (un 30% aproximadament).

En general, doncs, es pot dir que la formulació amb la qual es va obtenir pernil cuit sense polifosfats afegits a partir del plasma de la sang de porc va permetre elaborar un producte amb unes característiques semblants al pernil cuit tradicional.

1. INTRODUCCIÓ

1. INTRODUCCIÓ

1.1 Situació del sector porcí

El sector porcí se situa en primer lloc en l'àmbit mundial pel què fa a producció. Segons la Generalitat de Catalunya, en l'informe anual del sector porcí del 2014, l'any 2013 la carn de porc va representar el 35,99% de la producció mundial de carn; que equival a unes 113.034 mil tones. Si es compara amb les dades del 2012 es veu que ha disminuït un 0,11%, tot i que les tones produïdes son majors que les de l'any anterior. El segon lloc de producció l'ocupa la carn de pollastre amb un 30,60% de la producció mundial seguida de la carn de boví, amb el 21,55% (Departament d'Agricultura de la Generalitat de Catalunya, 2014).

Així doncs, si ens centrem en Europa, Espanya va ser, al 2014, el segon país que més carn de porc va produir, amb un 16,2% de la producció de la UE-27. Només Alemanya amb un 24,5% supera Espanya en aquest aspecte.

I tenint en compte que, segons els estudis del MAGRAMA, Catalunya és la comunitat autònoma que més tones de carn de porc produeix, amb un 43,1% del total de l'Estat el 2014, és fàcil concloure que aquest sector en particular és summament important i estratègic a casa nostra, i que qualsevol millora en algun dels seus aspectes repercuteix directament a l'economia catalana i espanyola.

Un element important que s'obté del sacrifici del porc als escorxadors industrials és la sang. Aquest efluent es pot considerar com a residu del procés de matança amb els inconvenients que comporta. La sang és un producte altament contaminant que representa un problema ambiental si no s'elimina correctament.

D'altra banda, però, també es pot considerar un subproducte. Els subproductes són tots aquells productes amb valor econòmic potencial, excloent la canal, que es deriven del sacrifici de l'animal (Booren i Weiss, 1988).

D'aquesta manera no es tanca la porta a una possible font d'ingressos per a l'empresa, que pot revaloritzar-la i vendre-la. De cara a vetllar pel medi ambient és també interessant, perquè s'elimina una possible font de contaminació. I finalment pel

consumidor, ja que si s'utilitza aquest subproducte es poden obtenir productes amb un alt contingut en proteïna i/o sense tants additius afegits al procés de producció.

1.2 La sang i el plasma sanguini

La sang és un subproducte que es recull en grans quantitats de la indústria càrnia. Al 2014, a Catalunya es van sacrificar 19.362.758 caps de bestiar porcí, i si de mitjana s'obtenen uns 3 L de sang de cada porc, es pot estimar que es van obtenir aproximadament uns 58,1 milions de L de sang (Departament d'Agricultura de la Generalitat de Catalunya, 2014).

Aquesta quantitat tant elevada suposaria un enorme problema si s'hagués d'eliminar, ja que els costos de recollida, transport fins les plantes de tractament i el tractament per eliminar-la serien elevats, així com els perjudicis per al medi ambient que tot residu suposa.

Però per les seves propietats, la sang i les seves fraccions són utilitzats, com a subproductes, per sectors com per exemple el de l'alimentació, per fer pinsos per alimentació animal, productes farmacèutics, com a fertilitzant, o altres aplicacions industrials (Ockerman i Hansen, 2000).

Les propietats que fan de la sang un bon subproducte són primer de tot el seu contingut en proteïnes, que volta el 18%, d'alta qualitat nutricional i funcional, i el seu alt contingut en ferro lligat a l'hemoglobina, la forma més biodisponible d'aquest element (Ofori i Hsieh, 2012). A part d'això, però, també les seves diverses propietats tecnofuncionals són d'interès per a diverses indústries (Saguer *et al.*, 2015).

Les possibles sortides que tindria la sang, inclosa la alimentació per a humans, ha d'estar regulada i s'han de fer els controls necessaris en totes les etapes de la cadena de producció, començant pel sector primari. La sang recollida no es podrà destinar a cap dels usos anteriorment esmentats si l'animal del que prové no era un animal sa. A més, si la sang provinent d'un animal malalt es barreja al tanc de recollida amb la que prové d'animals sans, el conjunt ja no serà apte d'utilitzar.

Així doncs, cal fer un seguiment des de les inspeccions veterinàries als animals en granja, passant pels controls a l'escorxador i vigilant de no contaminar la sang a l'hora de la seva recollida. Ja que la possible contaminació prové del sistema de recollida (Casals, 2011) i dels tancs refrigerats on la sang estarà emmagatzemada fins al seu transport i posterior ús. Així que un bon sistema de recollida i una neteja adequada són primordials per obtenir un producte el menys contaminat possible.

A part d'això, l'ús de la sang ha d'estar subjecte al marc legal vigent al nostre país. La normativa que regula l'ús de la sang a Europa, així com el d'altres subproductes animals és el reglament CE 1069/2009, pel qual s'estableixen les normes sanitàries aplicables als subproductes animals i productes derivats i que deroga el reglament CE 1774/2002 sobre els subproductes animals.

En aquest reglament s'exposa:

- Que el material de categoria 1 inclourà els subproductes dels animals que siguin sospitosos d'estar infectats amb una EET o una altra malaltia transmissible, ja siguin animals de granja o salvatges. Per tant, la sang d'aquests animals que no han superat la inspecció *ante mortem* serà considerada de risc (Categoria 1) i s'haurà d'eliminar obligatòriament.
- Que el material de categoria 2 inclourà la sang d'animals que no presentaven signes de malalties transmissibles en les inspeccions *ante mortem* però que no s'han sotmès a cap inspecció *post mortem*. Si el material de categoria 2 s'ha d'eliminar es farà per incineració.

La sang classificada en aquesta categoria es podrà aprofitar per fer farina de carn i/o adobs i esmenes del sòl d'origen orgànic després de sotmetre-la a un procés d'esterilització a pressió, concretament a una temperatura interna superior a 133°C i a una pressió absoluta de com a mínim 3 bars durant un període mínim de 20 minuts.

- Que el material de categoria 3 inclourà la sang que hagi passat les proves d'inspecció *ante mortem* i *post mortem* i, per tant, es declari apta per al consum humà. En aquest cas es podrà destinar a l'alimentació humana i animal, per fer adobs, o per altres indústries com la farmacèutica.

1.4 Composició de la sang i les seves fraccions

Els animals proporcionen de mitjana el 4% del seu pes en sang. Aquesta es compon de dues parts fonamentals, el plasma sanguini i la fracció cel·lular, que se separen per centrifugació després d'afegir anticoagulant (Figura 1.1). La proporció entre aquestes dues fases és del 60%-40%, respectivament.

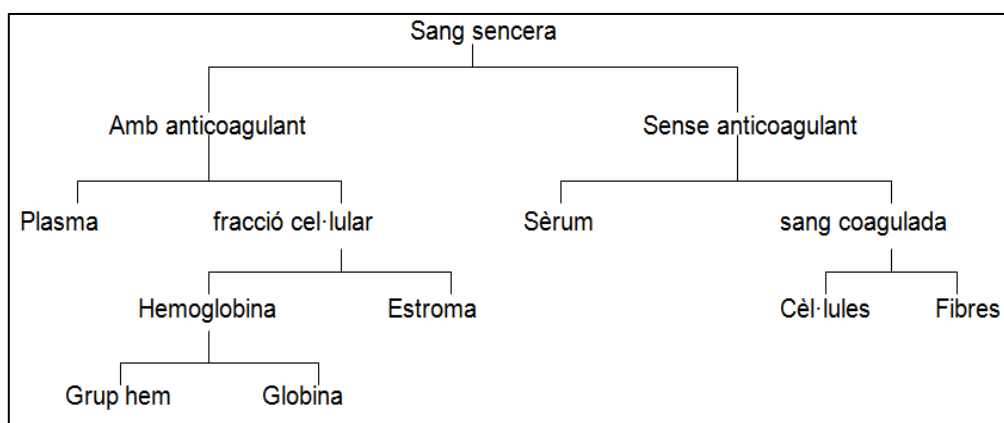


Figura 1.1. Esquema de les fraccions de la sang (Ranken, 1980).

Com es pot observar, el plasma i les proteïnes presents, només es poden aïllar si s'ha afegit un anticoagulant a la sang sencera, d'aquesta forma es pot separar el plasma de la fracció cel·lular, composta per l'hemoglobina i l'estroma.

La composició de la sang i el plasma en percentatge es mostra a la Taula 1.1.

Taula 1.1. Components de la sang i la fracció plasmàtica en percentatge (Alais et al., 1990).

	Aigua	Proteïnes totals	Albúmina	Globulina	Fibrinogen	Hemoglobina
Sang	80	17,5	3,0 (17)	2,3 (13)	0,3 (2)	11 (63)
Plasma	90	8,0	4,3 (54)	3,4 (42)	0,4 (5)	---

1.4.1 La fracció cel·lular

La fracció cel·lular representa el 40% de la sang, i la seva composició és formada principalment per aigua i proteïnes. La principal proteïna de la fracció cel·lular és

l'hemoglobina. Aquesta molècula de 64 kDa de pes molecular resulta de l'associació de quatre unitats de globina amb els corresponents àtoms de ferro units als grups hemo. L'hemoglobina es localitza als glòbuls vermells o eritròcits, s'encarrega del transport d'oxigen des dels òrgans respiratoris fins als teixits i és la responsable del color vermell característic de la sang. A la fracció cel·lular també s'hi localitzen els leucòcits o glòbuls blancs, encarregats de la resposta immunitària i, les plaquetes.

Les possibles aplicacions de la fracció cel·lular com a ingredient alimentari són més limitades que en el cas del plasma, perquè quan s'incorpora als productes imparteix un color fosc i un flavor advers. Algunes aplicacions poden ser com un potenciador del color per salsitxes, o bé aplicar sistemes d'eliminació del grup hemo per produir globina descolorida o hidrolitzats proteics, que poden tenir bones propietats tecnològiques o ser font de pèptids bioactius amb activitats fisiològiques (Hsieh i Ofori, 2011; Toldrà et al., 2011).

1.4.2 La fracció plasmàtica

La fracció plasmàtica o plasma sanguini correspon al 60% del volum de la sang sencera. És una suspensió aquosa, formada per un 90% d'aigua i un 10% de substàncies sòlides, principalment proteïnes d'elevat valor nutritiu com ara la seroalbúmina, globulines o fibrinogen en les proporcions que es mostren a la Taula 1.1.

Les proteïnes plasmàtiques tenen bones propietats tecnològiques com capacitat de gelificació, escumant i emulsionant, fet que ha motivat l'ús de productes derivats de la sang com a ingredients amb valor afegit per part la indústria alimentària (Hsieh i Ofori, 2011).

Les globulines són un grup de proteïnes insolubles en aigua i solubles en solucions salines que es localitzen al plasma sanguini un cop separat de la fracció cel·lular.

Els principals grups de globulines són les α -globulines (α_1 i α_2), les β -globulines i les γ -globulines. Les α - i β -globulines regulen el transport de metalls en la sang, mentre que la funció de les γ -globulines també anomenades immunoglobulines, és la de reaccionar davant de qualsevol antígen que penetri dins el cos.

El fibrinogen (precursor de la fibrina) és també una proteïna insoluble en aigua i soluble en solucions salines, igual que les globulines. N'hi ha aproximadament uns 4 g per L de sang. Aquesta molècula és la responsable de la coagulació de la sang extravasada.

Finalment, cal destacar la seroalbúmina. Aquesta proteïna és la més abundant en el plasma. Les funcions d'aquesta molècula a l'organisme són el transport de compostos com metalls divalents, àcids grassos i àcid úric entre d'altres (Alais et al., 1990).

1.5 Usos del plasma

La sang, el plasma i/o les proteïnes que contenen són elements utilitzats actualment per a diverses indústries a causa de les seves propietats funcionals. Una propietat tecnofuncional és qualsevol propietat no nutricional que influeixi en la utilització d'un ingredient en un aliment. La major part d'aquestes propietats afecten a les característiques sensorials de l'aliment (sobretot la textura), però també poden tenir un paper decisiu en el comportament físic dels aliments durant la seva preparació, transformació i/o emmagatzematge (Alais et al., 1990).

S'han dut a terme diversos estudis sobre la funcionalitat del plasma i les seves fraccions (Àlvaerz et al., 2009).

Les possibles aplicacions de les proteïnes plasmàtiques a la indústria alimentària són les que es mostren a la taula 1.2.

La solubilitat depèn i varia bastant amb el pH, però en general els tres tipus de globulines i l'albúmina presenten una solubilitat superior al 50% mentre que el fibrinogen té una solubilitat inferior al 50%.

La capacitat emulgent podria ser útil per a aliments amb alt contingut en greix, galetes, dolços o carn. En aquest aspecte, el fibrinogen presenta una capacitat emulgent molt elevada, superior a la de les globulines.

La capacitat escumant de les proteïnes del plasma millora quan el pH s'allunya del seu punt isoelèctric i les globulines són les que tenen una millor capacitat escumant .

Taula 1.2. Possibles usos del plasma en la indústria alimentària i les proteïnes que conté (Álvarez et al., 2009).

Aplicacions	Proteïna adequada	Propietat funcional
Productes de fleca	Plasma	Escumant, gelificació i solubilitat
Productes de pastisseria	Fibrinogen i plasma	Emulsionant
Productes carnis	Globulines	Emulsionant, solubilitat i gelificació
Iogurt	Plasma i albúmina	Solubilitat i gelificació
Ou i derivats	Plasma	Escumant

Finalment, aquestes proteïnes i el plasma en general tenen capacitat per formar gels. Una proteïna amb baixa solubilitat i baixa capacitat emulgent difícilment formarà gels. Totes les proteïnes del plasma tenen capacitat de gelificació però a diferents temperatures; aquest rang va des dels 45°C (globulines) fins als 67°C (albúmina) mentre que el plasma en general s'ha situat als 71°C aproximadament.

Aquestes propietats fan que el plasma s'apliqui com a ingredient en el cas de productes carnis sotmesos a tractaments tèrmics, convertint-lo en un bon candidat per reemplaçar proteïnes d'altres fonts com poden ser les proteïnes de soja, els caseïnats, el sèrum de la llet i, fins i tot, els polifosfats (Hurtado *et al.*, 2012)

1.6 Antecedents del treball

Aquest treball s'ha realitzat en el marc d'una línia del grup de recerca de Tecnologia Alimentària, de l'Institut de Tecnologia Agroalimentària (INTEA) de la Universitat de Girona (UdG) relacionada amb l'aprofitament de subproductes de la indústria càrnia, i en concret, de les proteïnes de la sang obtinguda d'animals sacrificats a l'escorxador.

S'han realitzat estudis previs al laboratori de recerca de Tecnologia dels Aliments de la UdG (Hurtado et al., 2011; 2012; i Parés et al., 2012). En les quals es va fer una simulació de la producció de productes carnis com salsitxes frankfurt i pernil cuit, a escala de laboratori, comparant diferents dosis de plasma afegit en substitució dels

fosfats i del caseïnat de sodi, amb el producte fabricat amb la fórmula convencional i mesurant la minva produïda durant la cocció.

En aquests estudis es va concloure que la substitució d'ingredients com ara els polifosfats pel plasma sanguini era una opció interessant ja que les diferències entre els productes elaborats amb a partir de la fórmula convencional, és a dir, amb fosfats i caseïnat, presentava poques diferències significatives amb els productes elaborats amb plasma sanguini.

Anteriorment, també s'ha treballat en processos de fraccionament i concentració de les proteïnes plasmàtiques mitjançant a tecnologies de separació per membrana (Parés et al., 2012; 2014).

L'objectiu proposat en aquest treball, doncs, va ser establir una fórmula que permetés fabricar pernills cuïts utilitzant plasma de sang de porc concentrat per ultrafiltració com a ingredient de la salmorra i, a la vegada, obtenir un producte sense tants additius i més econòmic.

1.7 Tecnologies de separació per membrana

Els processos de separació per membrana es fonamenten en la permeabilitat selectiva d'un component o més del líquid a través de la membrana i en un gradient de pressió.

Aquests processos tenen diversos avantatges per a l'obtenció d'aliments ja que es realitzen a temperatura que no afecten les propietats nutritives i organolèptiques de les mostres que es processen. Tot i això, la inversió inicial per el material és elevada i la seva neteja i manteniment pot comportar problemes si no es realitza de forma adequada (Raventós, 2003) (Taula 1.3).

Hi ha 3 parts a distingir en els processos de filtració per membrana:

- Cabal d'alimentació: és la mostra, solució o aliment a tractar.
- Permeat: és el corrent que ha travessat la membrana i conté molècules que també l'han travessada a part del solvent.

- **Retentat:** és el corrent que no ha travessat la membrana. Conté també una part del solvent i les molècules que no travessen la membrana a una concentració més elevada que la inicial.

Taula 1.3. Avantatges i inconvenients de les tecnologies de separació per membrana (Raventós, 2003).

Avantatges	Inconvenients
<ul style="list-style-type: none"> - No s'escalfa l'aliment - No cal un canvi de fase - Menys despeses de manteniment i mà d'obra que l'evaporació - Poques exigències d'espai 	<ul style="list-style-type: none"> - Inversió inicial important - Variacions del flux del producte que es vol filtrar - Obstrucció de la membrana - Concentració i desenvolupament de microorganismes si el temps de permanència i la temperatura de treball no són els adequats

El fonament dels processos de separació és la permeabilitat selectiva de la membrana utilitzada. Aquesta permeabilitat és la propietat que té la membrana per permetre el pas només a certes partícules a través d'elles i que permet realitzar operacions de concentració, purificació o fraccionament d'una solució inicial.

Hi ha molts tipus diferents de separació per membrana però en tots els casos es necessita una força impulsora. Aquesta força d'impulsió pot ser la pressió, temperatura, electricitat o una afinitat química i, segons quina sigui, es descriuen diversos tipus de separació per membrana (Taula 1.4).

Taula 1.4. Processos de separació per membrana segons la seva força d'impulsió.

Força impulsora	Procés
Pressió	Ultrafiltració, microfiltració, nanofiltració i osmosi inversa.
Electricitat (diferència de potencial)	Electrodiàlisi
Afinitat química	Pervaporació i diàlisi
Temperatura	Destil·lació per membrana

A part de la força impulsora, en aquest procés s'han de tenir en compte diversos paràmetres que s'expliquen a continuació.

Primer, el flux que travessa la membrana. Una filtració es pot aconseguir amb un valor de força d'impulsió constant o bé amb una taxa de permeació constant. En el primer cas la taxa de permeació disminuirà amb el temps; i en el segon, la força d'impulsió haurà d'augmentar a mesura que avança la filtració.

Això pot ser degut a l'anomenat *fouling* o colmatació de la membrana. El *fouling* és bàsicament un embrutiment de la membrana, cosa que fa que el flux disminueixi, el temps de filtració augmenti i, si no s'augmenta la força d'impulsió, es pot afavorir el creixement de microorganismes a la membrana (Raventós, 2003). Això fa que la neteja de les membranes sigui un punt crucial ja que si es realitza de forma correcta se'n pot allargar la vida útil.

També existeix la polarització de la membrana. Es produeix quan les molècules del solut no passen a través de la membrana. L'efecte és també una baixada del rendiment a l'hora de la filtració, ja que es poden formar una capa de proteïnes gelificades a la superfície de la membrana, cosa que n'augmenta el gruix i actua com a una resistència extra al pas del cabal d'alimentació i, per tant, el temps de filtració també augmenta.

El factor de concentració és també un paràmetre a tenir en compte. Aquest valor és la relació entre el volum de l'alimentació i el volum del concentrat (V_o / V_c).

La pressió transmembrana o el gradient de pressió és la diferència de pressió que hi ha entre l'interior i l'exterior de la membrana. Aquest gradient és el que afavoreix la filtració. A més gradient, menys temps de filtració i més ràpida colmatació de la membrana.

La filtració, també es pot diferenciar segons la direcció del flux respecte a la membrana de filtració. Així es distingeixen dos tipus de filtració (Figura 1.2):

a) La filtració frontal: és la filtració en la qual el flux va perpendicular a la superfície filtrant. D'aquesta manera, es produeix una acumulació de matèria sobre la membrana que afavoreix una ràpida colmatació.

b) La filtració tangencial: es caracteritza per tenir el flux d'alimentació circulant de forma paral·lela a la membrana. En aquest cas també es produeix colmatació de la membrana però no de forma tant ràpida com en la frontal, ja que com que el flux va

paral·lel a la superfície de filtració, ell mateix ajuda a la neteja de les partícules que es van dipositant sobre la membrana.

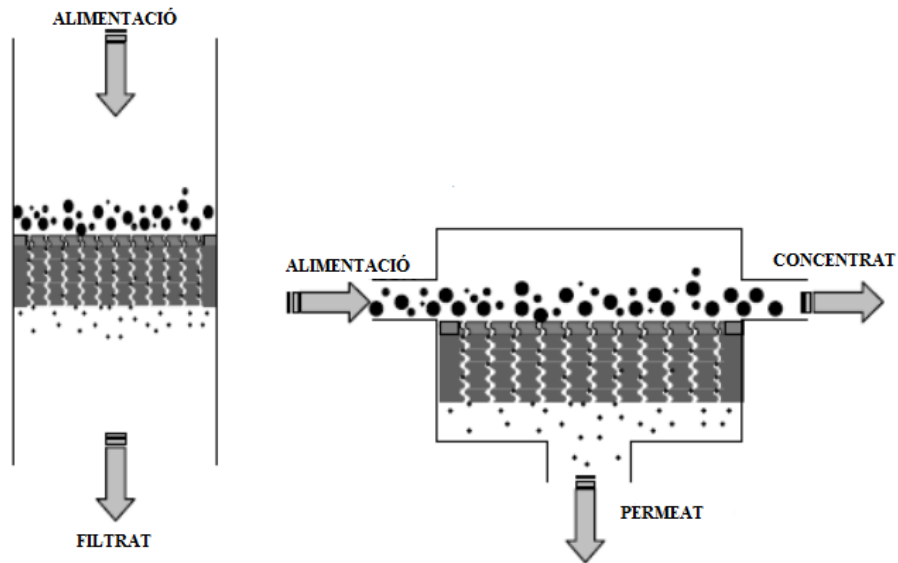


Figura 1.2. Esquema de la filtració frontal (esquerra) i filtració tangencial (dreta)

Font: <http://oaji.net/articles/2015/1783-1426290968.pdf>

1.7.1 Tipus de membranes

Hi ha quatre tipus de mòduls de membranes aptes per als diferents tipus de filtració, ja sigui microfiltració, ultrafiltració, nanofiltració o osmosi inversa. Les membranes es diferencien en aspectes com la forma, la pressió a la qual treballen o si el flux ha de ser laminar o les aplicacions que tenen (Raventós, 2003). A la Taula 1.5 es mostren els principals aspectes i característiques de cadascuna cada tipus de mòdul.

Les membranes tubulars estan constituïdes per carcasses cilíndriques amb un nombre variable de membranes tubulars. El suport de les membranes acostuma a ser un tub de polièster o d'acer inoxidable. L'alimentació es bombeja per l'interior de les membranes produint-se, per tant, una filtració tangencial. Es poden utilitzar per microfiltració, ultrafiltració, diàlisi i osmosi inversa.

Les membranes planes són membranes disposades de forma horitzontal o vertical que condueixen el flux i s'utilitzen per a la recuperació i concentració de productes amb un alt valor afegit.

Els cartutxos o membranes en espiral tenen forma de làmina i es col·loquen una sobre l'altra sobre un eix central. El flux de permeat va des de l'exterior a l'interior de la membrana. Els soluts queden retinguts a la capa activa, i quan el permeat ha passat aquesta capa, una malla porosa el condueix cap al centre de la membrana.

Les membranes de fibra buida estan formades per un feix de fibres asimètriques. El corrent s'impulsa radialment cap al feix i el transport s'efectua des de l'interior de les fibres cap a l'exterior.

Taula 1.5. Característiques dels quatre tipus principals de configuració dels mòduls de la filtració per membranes. (Raventós, 2003)

Característiques	Tubular	Pla	En espiral	Fibres buides
Superfície de membrana (m ² /m ³)	25-100	200-500	500-2000	1500-6000
Flux (m ³ /m ² dia)	0,3-1	0,3-1	0,3-1	0,004-0,1
Pèrdua de pressió (atm)	2-3 Turbulent	1-2 Laminar	1-2 Laminar	0,3 Laminar
Velocitat necessària (cm/s)	100-500	100-300	25-50	0,5
Pretractament	Filtre	Filtre	Coagulació i filtre 50 µm	Coagulació i filtre 50 µm
Facilitat de neteja	Bona	Poca	Poca	Nul·la, risc d'embussament
Canvi de membranes	Fàcil	Fàcil	Difícil	Impossible
Cost	Elevat	Elevat	Baix	Baix
Aplicació	UF, diàlisi, MF (ceràmic), OI (polímers)	UF, OI, PV, cost energètic més baix pel mateix volum de líquid retingut	UF, OI, NF, les més aplicables	UF, OI, diàlisi, tractaments d'aigua, sucs, llet, solucions de sucre, molt desenvolupades, poliamides asimètriques

Es poden fer moltes classificacions de les membranes, com per exemple segons la porositat de la membrana (poroses, microporoses i no poroses) o segons l'estructura de la membrana (homogènia, asimètrica o composta) entre d'altres. Una de les més importants, però, és segons el material d'elaboració.

Les membranes orgàniques o polimèriques poden estar fetes a partir de molts polímers. Dins d'aquest grup hi ha les membranes hidròfiles, fetes a partir d'esters de cel·lulosa,

poliamides o policarbonats. I les hidròfobes, fetes a partir de polietilè, polipropilè, polisulfona, polivinil de fluor, entre d'altres materials. Tenen una vida útil d'entre 1 i 3 anys.

Les semiceràmiques estan constituïdes per una matriu polimèrica amb una capa d'un material inorgànic.

Les membranes inorgàniques o ceràmiques principalment estan fetes d'alúmina (Al_2O_3), òxid de zirconi (ZrO_2), òxid de silici (SiO_2) o òxid de titani (TiO_2). Tenen una vida útil aproximada d'uns 10 anys. Aquestes, a més, tenen més resistència als productes químics i a la temperatura i la seva neteja és més fàcil que en el cas de les orgàniques, ja que es poden esterilitzar. El preu, però, és més elevat.

1.7.2 Processos de filtració per membrana

Els principals processos de filtració per membrana que utilitzen la diferència de pressió per realitzar la separació són la microfiltració (MF), la ultrafiltració (UF), la nanofiltraió (NF) i l'osmosi inversa (OI). Aquests quatre processos es diferencien per la pressió a la que es realitza el procés i per la grandària dels porus. En la Figura 1.3 es mostren els quatre tipus de filtració per membrana i els elements que retenen i passen en el seu procés (Martínez, 2011).

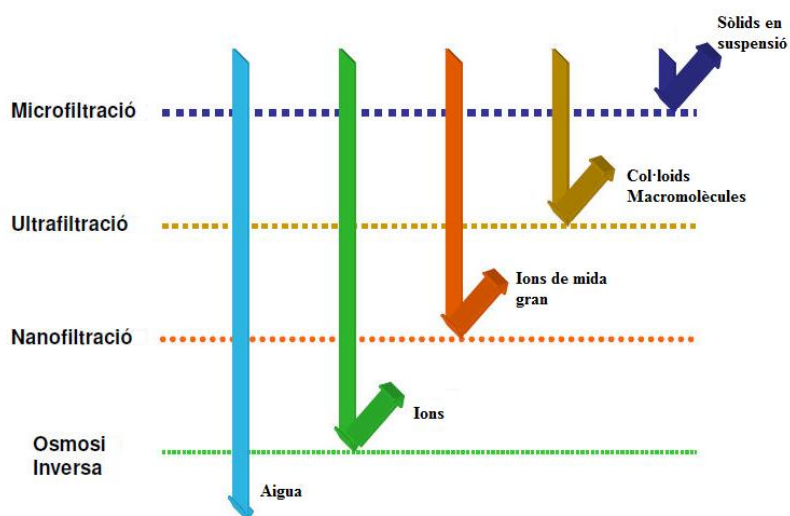


Figura 1.3. Esquema de la semipermeabilitat de les membranes en els principals processos de filtració.

Font: <http://blog.condorchem.com/membranas-tratamiento-aguas-residuales/>

La microfiltració (MF) és la que utilitza una mida de porus superior i una pressió més baixa. En concret, les membranes utilitzades per a la MF tenen porus amb una mida d'entre 0,1 i 10 µm, i les pressions a les que es treballa van des dels 0,1 als 2 bar. La MF permet retenir els bacteris i altres microorganismes com els llevats de la solució inicial, realitzar processos de clarificació o concentració de proteïnes entre d'altres (Martínez, 2011). La MF és més un procés per descontaminar o higienitzar que no pas per concentrar un component en particular.

La ultrafiltració (UF) s'utilitza per a la concentració de macromolècules que tenen un pes molecular d'entre 1 i 500 kDa i es treballa a pressions d'entre 2 i 5 bar. Aquest procés s'utilitza per a la clarificació de sucus o concentrar proteïnes, entre molts d'altres objectius.

La nanofiltraació (NF) utilitza membranes amb una mida de porus d'entre 1 i 10 nm i a una pressió d'entre 5 i 20 bar. Mitjançant aquest procés es pot dessalinitzar parcialment una solució.

Finalment, l'osmosi inversa (OI) és la que treballa a una pressió més alta (entre 10 i 100 bar) i amb unes mides de porus més petites (inferiors a 1 nm). La OI només permet el pas de l'aigua per la membrana de filtració, per tant, s'utilitza per la concentració d'aliments líquids, per l'eliminació de contaminants, per a la desalcoholització de begudes com el vi o la cervesa, o per a la potabilització de l'aigua de mar (Martínez, 2011).

1.8 Elaboració del pernil cuit

Segons el Real Decret 474/2014, de 13 de juny, pel que s'aprova la norma de qualitat dels derivats carnis (BOE núm. 147, 2014), el pernil cuit és un tipus de derivat carni pasteuritzat. Aquests són productes carnis sotmesos a un tractament tèrmic de pasteurització, bé mitjançant cocció o un altre tractament tèrmic equivalent, que requereixen refrigeració per a la seva conservació.

El grup dels derivats carnis pasteuritzats l'integren els derivats carnis sotmesos a tractament tèrmic de pasteurització, bé mitjançant cocció o un altre tractament tèrmic

equivalent, que requereixen refrigeració per a la seva conservació. Segons si s'obtenen de peces càrnies, carns picades o a partir de sang, greix o menuts, es divideixen en:

- a) Peces: productes constituïts a partir de peces de carn identificables anatòmicament o els seus trossos, en els quals siguin reconeixibles els paquets musculars, corresponents a l'especejament normal de carnisseria, que són sotmesos a un salmorrat i posteriorment a un massatge o repòs, seguit, opcionalment, d'un modelat per donar-li la forma adequada i un tractament tèrmic o equivalent. Pertanyen a aquest grup productes com el pernil cuit, l'espàtlla cuita o el llom cuit.
- b) Carns trossejades o picades: constitueixen aquest grup els productes elaborats a partir de trossos de carn no identificables anatòmicament o a partir de carns o carns i greix, que s'han sotmès a un procés de picat més o menys gruixut, o bé un procés de picat intens fins a formar una pasta fina i homogènia, i posterior embotiment o envasament. Pertanyen a aquest grup productes com les pastes càrnies com les mortadel·les, botifarra o salsitxes cuites.
- c) Altres: són productes elaborats amb sang, sal, espècies, i altres ingredients i additius autoritzats que, amb caràcter general, s'han sotmès a un procés de picat, fregit o cocció, envasament, refredament i, si s'escau, reenvasament. Pertanyen a aquest grup productes com el cap de senglar o els llardons.

1.8.1 La carn

En la carn que s'utilitza per elaborar productes carnis cuits s'han de tenir en compte diversos factors.

Primer, la capacitat de retenció d'aigua (C.R.A.) de la carn és la capacitat que té la carn per retenir l'aigua present a la seva estructura. Això determinarà si la carn pot retenir l'aigua (o salmorra) que se li afegeix abans d'iniciar el procés de cocció.

I ja en la cocció pròpiament dita, s'observen dos fenòmens que també tenen molt a veure amb la capacitat de retenció que té la carn. Les pèrdues (minves) degudes a la cocció és la quantitat d'aigua, greix i/o gelatina que es perd degut al procés. Com més capacitat tingui la carn per retenir aquests elements, menys pèrdues hi haurà cosa que

farà que el rendiment de la peça final incrementi obtenint un major benefici econòmic al moment de la venda. I finalment, les peces de carn s'han d'unir correctament per conformar la peça final després de la cocció.

Molts factors poden afectar les característiques de la carn. Des de l'alimentació dels animals vius, passant pels transports, el maneig tant dels animals com de la carn o bé el mètode utilitzat per matar els porcs. Aquestes variables poden causar que la carn tingui millors o pitjor característiques que repercutiran en el producte final, tot i que també hi ha diverses races que tenen certa predisposició a donar un tipus de carn en concret, sobretot pel què fa a la carn anomenada PSE (*pale, soft and exudative*).

Així, es poden distingir principalment tres tipus de carn de porcí que s'obtenen de l'escorxador. Les principals diferències entre aquests tipus de carn són el pH final i característiques com la textura, el color o la CRA.

La primera és la carn normal, obtinguda a partir d'un procediment correcte des del sector primari fins a l'escorxador. En el moment del sacrifici el pH de la carn se situa al voltant de pH=7,2 i en 24 h baixa progressivament fins a pH=5,5 a causa de l'acció de l'àcid làctic. La seva brillantor (luminositat o valor L*) mesurada segons el sistema CIE LAB se situa entre 44 i 50.

El segon tipus de carn és la PSE (pàl·lida, tova i exsudativa). Aquesta carn és molt més pàl·lida del normal, amb un valor de L* inferior a 40. A més, després del sacrifici, el seu pH baixa a pH=5,8 amb només 1 h aproximadament. Això fa que la seva textura sigui molt més tova del normal i que exsudi bona part de l'aigua que hauria de retenir, ja que té unes pèrdues d'aigua superiors al 6%.

El tercer tipus és la DFD, de l'anglès *dark, firm and dry* (fosca, ferma i seca). A aquesta carn li passa el contrari que la PSE. És molt fosca, ja que té uns valors de L* superiors a 50, aquest inconvenient és degut a que l'aigua retinguda per la carn priva el pas a l'oxigen, que és el responsable de la variació del color de la carn quan entra en contacte amb la mioglobina. El pH al cap de 24 h del sacrifici només ha baixat a pH=6,2 aproximadament, això pot ser degut a una gran estrès de l'animal poc abans que entri a l'escorxador, cosa que fa que consumeixi l'àcid làctic abans d'hora i que el pH de la carn no disminueixi. La carn DFD no exsuda aigua i, com a conseqüència, té una textura molt més ferma del normal.

Totes aquestes característiques afectaran paràmetres com la cohesió o la CRA i faran que el producte final sigui de més o menys qualitat.

1.8.2 Altres ingredients i additius

Els ingredients, a part de la carn, i additius utilitzats en l'elaboració dels pernills cuits són els següents:

- **Aigua:** l'aigua afegida incrementa el rendiment del producte i encara que una part es perd a causa de la cocció, en millora la textura per fer-la més sucosa.
- **Sal:** la sal és un additiu que s'utilitza en molts processos i aliments. En el cas del pernil cuit la funció principal és l'augment de la CRA. La sal ajuda al pernil a retenir els ingredients aportats a la salmorra. A més, té altres funcions com limitar el creixement microbià i millorar l'adhesió de la carn, cosa que també afecta a la seva textura final. També és un important potenciador del gust.
- **Fosfats:** els fosfats actuen de forma similar a la sal, millorant la capacitat de la carn de retenir l'aigua afegida. Tot i això, quan s'afegeixen juntament amb la sal actuen de forma sinèrgica augmentant molt el rendiment del producte i disminuint les pèrdues per cocció. Aquesta acció és menys efectiva en productes esterilitzats. Els fosfats més efectius són el pirofosfat i el tripolifosfat. Tanmateix, hi ha evidències que una ingesta excessiva de fosfats al dia pot afectar a la ràtio òptima de calci/fòsfor del nostre cos. I, conseqüentment, ser responsable de problemes en la salut com per exemple afectant el sistema de calcificació dels ossos (Hurtado et al., 2011). A més, també és un estabilitzant del color i un antioxidant (Grèbol et al., 2013).
- **Nitrits:** les propietats dels nitrits que interessen en la cocció del pernil, són bàsicament dues. Primer, la inhibició del creixement del *Clostridium botulinum*, un microorganisme patogen que produeix una substància neurotòxica molt perillosa (toxina botulínica) fet que fa que aquest ingredient sigui d'ús obligatori. El segon efecte que té és millorar el color del pernil cuit, obtenint el característic color rosat del pigment nitrosilmioglobina.

Un dels principals inconvenients dels nitrats, però, són la possible formació de nitrosamines si reaccionen amb determinades amines. La majoria d'elles han estat descrites com a cancerígenes per als animals.

- **Ascorbat:** aquesta substància s'utilitza sobretot per accelerar la producció del color en els productes processats com el pernil cuit.
- **Carragenat:** és un agent gelificant.
- **Dextrosa:** s'utilitza per donar sabor, estabilitzar la mescla i com a depressor de l'activitat de l'aigua (Freixanet, 2013).

1.8.3 La cocció

En els productes carnis cuits, s'entén per pasteurització el procés pel qual es destrueixen les formes vegetatives dels microorganismes patògens dels aliments, i es destrueix i s'inactiva gairebé la totalitat de la flora banal, sotmetent els aliments a temperatures variables, en funció del temps de tractament, de manera que no experimentin variacions essencials en la seva composició a temperatura adequada durant un període de temps no inferior a les 48 hores (BOE núm. 147, 2014).

La cocció dels productes carnis té diversos avantatges com ara fer més tendra la carn, donar el típic color rosat (amb l'ajut dels ingredients descrits anteriorment) o desenvolupar diversos sabors i aromes.

Tot i això, al ser un procés en el qual s'augmenta la temperatura interna de l'aliment fins a 70°C al centre en el cas dels pernills cuits, es produeix la desnaturalització de proteïnes, i per tant, la pèrdua d'una part de les vitamines que contenia la carn inicialment.

Les pèrdues per cocció són un dels punts principals a tenir en compte d'aquest procés. Es produeixen a causa de la contracció del teixit connectiu de la carn i varien segons si la cocció ha estat ràpida o lenta.

El color de la carn també canvia passant a rosat. A aquest canvi hi influeix tant la desnaturalització de la mioglobina (a una temperatura d'entre 65-75°C) com l'acció dels nitrits (Ranken, 2003).

També es produeix una pèrdua de greix, ja que es fon a temperatures d'entre 37-40°C. I per tant, s'afegeixen a les pèrdues que ocasiona la cocció.

A part d'aquest canvis físics, també se'n produeixen de sensorials, relacionats amb el sabor i la olor. Com que la carn es torna més tendra, els sabors es perceben millor. També es produeix inosina, una substància producte de la degradació de l'ATP que augmenta els sabors per sensibilitzar el paladar (Ranken, 2003).

2. OBJECTIUS

2. OBJECTIUS

L'objectiu general d'aquest treball va ser establir una fórmula que permetés elaborar pernil cuit utilitzant plasma concentrat procedent de sang de porc com a ingredient de la salmorra (en substitució dels polifosfats i l'aigua) i, a la vegada, obtenir un producte sense tants additius i més econòmic.

Amb aquesta finalitat ens vam plantejar els objectius específics següents:

- 1- Concentrar el plasma per ultrafiltració tangencial, fins a un factor de concentració de 2, amb un equip de planta pilot de filtració per membrana amb una membrana espiral de poliacrilonitril de 30 kDa de pes molecular de tall i una superfície de filtració de 0,32 m². Realitzar un seguiment del procés d'ultrafiltració, determinant l'evolució el flux de permeat i de la temperatura del retentat.
- 2- Realitzar la caracterització físico-química del plasma ultrafiltrat i comparar-la amb la del plasma control. Determinar els recomptes de bacteris aeròbics mesòfils de les dues mostres.
- 3- Elaborar pernills cuits, substituint els polifosfats i l'aigua de la salmorra per plasma concentrat congelat i pernills amb la formulació estàndard (control).
- 4- A continuació, determinar la composició físico-química, la capacitat de retenció d'aigua i la textura (TPA) dels pernills elaborats amb plasma ultrafiltrat i comparar-los amb pernills control.
- 5- Finalment, realitzar un tast d'acceptabilitat dels productes finals obtinguts (pernil amb plasma ultrafiltrat i pernil control) a través d'un panell de consumidors no ensinistrat.

3. MATERIAL I MÈTODES

3. MATERIAL I MÈTODES

3.1 Disseny experimental

El present projecte consta de dues parts. En primer lloc l'obtenció de plasma concentrat per ultrafiltració tangencial i la caracterització físico-química del producte obtingut, i en segon lloc, l'elaboració de pernilets cuits, substituint els polifosfats de la salmorra per plasma concentrat congelat.

L'esquema del procediment experimental que es va seguir per tal d'obtenir el plasma concentrat al 50% a partir de la sang de porc, del qual després es van elaborar els pernilets cuits, és el que es detalla a continuació (Figura 3.1).

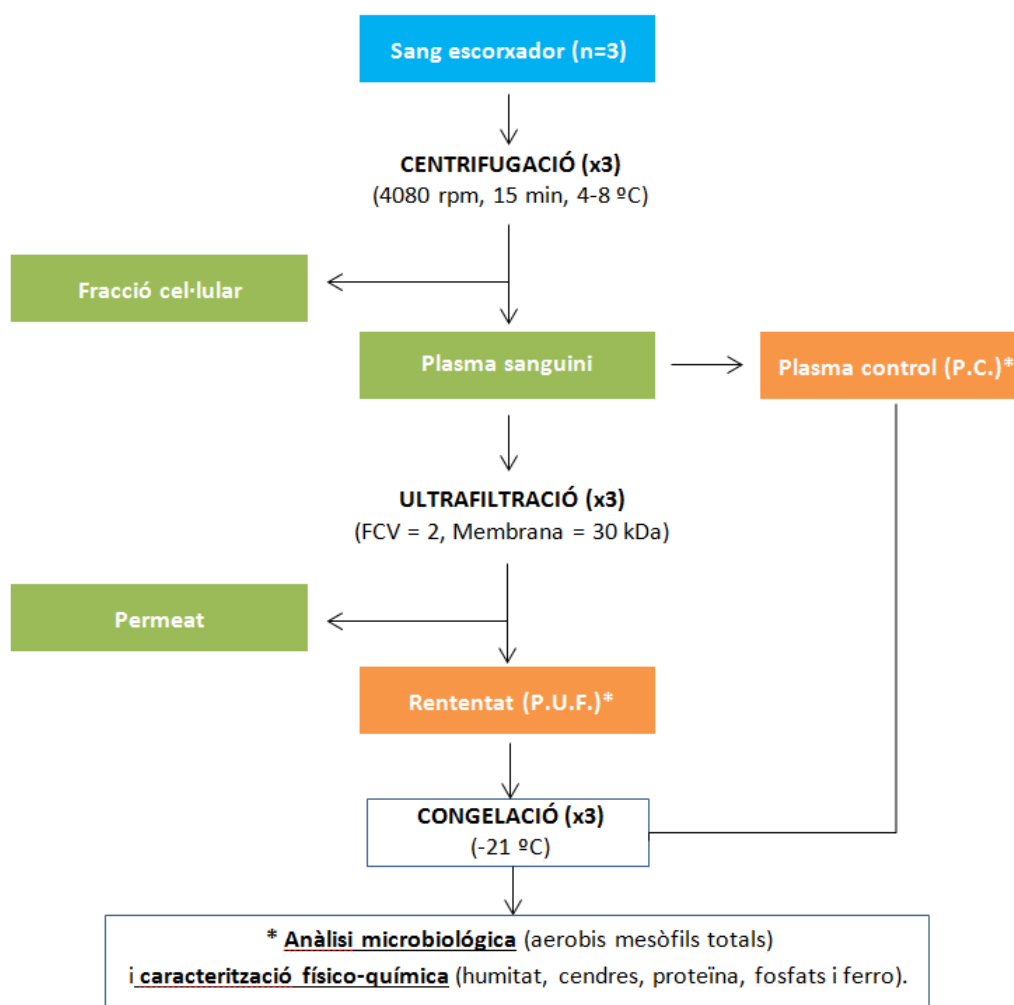


Figura 3.1. Esquema del procés d'obtenció del plasma ultrafiltrat realitzat en el treball.

Aquest procediment es va repetir tres vegades, utilitzant mostres de sang de porc recollides en tres setmanes diferents però en les mateixes condicions (n=3). L'obtenció del plasma concentrat començava per la centrifugació de la sang i separació del plasma per decantació, del qual se'n guardava una part per a posteriors anàlisis (plasma control o P.C.).

Seguidament, es va procedir a la ultrafiltració per obtenir el plasma concentrat al 50%. El permeat es va descartar i es va guardar el retentat que correspon al plasma concentrat per ultrafiltració (P.U.F.). Tant aquest com el P.C. es van congelar a una temperatura de -21 °C fins al dia del seu ús. De les tres mostres de P.U.F i P.C. obtingudes es va analitzar el contingut en humitat, proteïna, cendres, fòsfats i també es va fer el recompte de microorganismes aerobis mesòfils totals.

La segona etapa del treball va consistir en l'obtenció de pernills cuits elaborats amb plasma UF enlloc d'afegir polifòsfats en la formulació de la salmorra i comparar les seves característiques amb pernills control (fórmula estàndard amb polifòsfats). El procediment seguit es mostra a la Figura 3.2.

Primer es preparava la salmorra amb els ingredients corresponents per als pernills control i els pernills elaborats amb plasma UF obtingut en la primera part del treball. Després s'hi va afegir la carn, es va amassar i es va refrigerar de 16 a 24 hores abans de procedir a la cocció. Després, els pernills es refredaven i es guardaven en refrigeració fins l'hora de fer-ne els anàlisis corresponents. De les dues formulacions indicades se'n van fer 3 produccions diferents en les mateixes condicions (n=3).

Per evitar qualsevol variació no atribuïble als ingredients assajats, i després de comprovar la homogeneïtat en la composició físico-química del plasma UF, es va utilitzar una alíquota homogènia de les 3 mostres de plasma UF congelat obtingut en la primera part del treball.

Dels dos tipus de pernills cuits obtinguts es va fer una caracterització físico-química (humitat, proteïnes, cendres, contingut en fòsfats, pèrdues per cocció, pH, color CIE $L^*a^*b^*$, activitat de l'aigua, capacitat de retenció d'aigua, i una anàlisi del perfil de textura (TPA).



Figura 3.2. Diagrama de flux del procés d'obtenció dels pernils cuits realitzat en el treball.

3.2 Recollida de la sang

La sang de porc utilitzada en aquest treball es va recollir en l'escorxador industrial Norfrisa, S.A., situat a Riudellots de la Selva, al Gironès. Les mostres de sang contenien tripolifosfat sòdic al 4% (p/v) com a anticoagulant i es recollien higiènicament en recipients estèrils de 5 L de capacitat que es mantenien en refrigeració durant el transport fins al seu processament al laboratori. Després, al laboratori, la sang es centrifugava per separar el plasma de la fracció cel·lular.

3.3 Separació del plasma

Per separar el plasma de la fracció cel·lular, la sang se centrifugava en una centrífuga Sorvall RC-SC plus (Dupont Co, Newton, Connecticut, USA) a 4080 rpm durant 15 minuts i procurant que la temperatura dins la centrífuga estigués sempre entre els 4 i els 8°C. Després de la centrifugació només calia recuperar el sobrenedant (fracció plasmàtica) per decantació.

El plasma representa un 60% aproximadament del total de la sang, és a dir, que de 10 L se n'obtenien aproximadament uns 6 L.

Abans d'iniciar el procés d'ultrafiltració, es guardava en refrigeració una alíquota del plasma inicial (control) en recipients estèrils per, posteriorment, fer-ne la caracterització físico-química i microbiològica i comparar-lo amb el plasma ultrafiltrat.

3.4 Concentració del plasma per ultrafiltració

A posteriori, el plasma es concentrava fins al 50%, concretament de 4 L a 2 L, mitjançant un procés de concentració per ultrafiltració tangencial. L'objectiu d'aquesta etapa era el de concentrar les proteïnes del sèrum. Per dur-ho a terme es va utilitzar un equip de planta pilot de filtració per membrana MMS Bench System model SW18 (MMS AG Membrane Systems, Urdorf, Alemanya) amb una membrana espiral de poliacrilonitril modificat (GE MW1812-34D) de 30 kDa de pes molecular de tall i amb una superfície de filtració de 0,32 m² (Figures 3.3 i 3.4)



Figura 3.3. Instal·lació d'ultrafiltració MMS SW 18 (MMS AG Membrane Systems) utilitzada per concentrar el plasma.
Font:http://www.mmsx.com/content/products/Bench_Systems.php

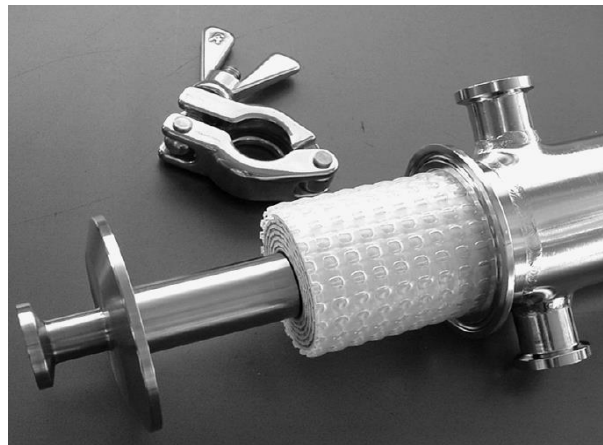


Figura 3.4. Detall d'una membrana en espiral.
Font:http://www.mmsx.com/content/products/Bench_Systems.php

Les membranes es conserven en una solució d'àcid cítric a l'1% a un pH entre 2 i 3 per mantenir-les netes i preparades per a la filtració. Aquesta solució conservant també contenia un 0,3% de bisulfit sòdic, un compost que actua com a agent antimicrobià.

Aquest equip pot treballar amb fluxos d'entre 300 i 1200 L/h, a una pressió de fins a 40 bar i a una temperatura de 60°C com a màxim. A més, se li poden col·locar diferents membranes que permeten realitzar tractaments de microfiltració (MF), ultrafiltració (UF), nanofiltració (NF) i osmosi inversa (OI) i amb diferents tipus de mòduls de filtració. La instal·lació consta dels següents elements: un dipòsit pel líquid a filtrar, una bomba amb variador de freqüència, un receptacle per col·locar-hi la membrana, dos manòmetres per mesurar la pressió a l'entrada i a la sortida de la membrana, un fluxímetre i una sèrie de vàlvules per controlar el pas del producte, la pressió a la qual es realitza la filtració i la purga un cop finalitzada la filtració. A més, també disposa d'una sonda de temperatura per controlar aquest paràmetre mentre es realitza el procés.

El funcionament es detalla a continuació. Abans de començar amb la filtració pròpiament dita, és convenient fer circular aigua per eliminar la solució conservant de la membrana i per neutralitzar el pH àcid abans de fer-hi passar el producte. Quan a la sortida del permeat surt aigua amb pH neutre, l'equip està preparat per a la filtració. A més, en aquesta etapa es mesura el flux d'aigua mitjançant el fluxímetre; aquest paràmetre servirà per saber l'eficàcia de la neteja de l'equip un cop finalitzat el procés. El flux després de la neteja s'ha de mesurar amb aigua i en les mateixes condicions de pressió i temperatura inicials.

El procés de concentració del plasma es va dur a terme segons el procediment descrit per Parés *et al.* (2014). Es va començar amb un volum inicial de 4 L que s'ultrafiltrava fins al 50% (per obtenir un factor de concentració volumètric de 2), amb recirculació del producte a un flux de 400 L/h i a temperatura ambient, amb una pressió transmembrana de 2 bar. Per separar el plasma en permeat i retentat, primer calia regular la vàlvula RV-2 per aconseguir una pressió de 2 bars a la sortida de la membrana i les altres vàlvules regulades per a recircular el producte cap al dipòsit d'alimentació, i es mantenia així fins a aconseguir 2 L de permeat i 2 L de retentat. El pes del permeat es pesava cada 2 minuts per saber quan havia finalitzat la filtració. A més, també es feia el seguiment de l'evolució de la temperatura del retentat durant el procés, també mesurada cada 2 minuts.

Amb el registre del pes de permeat es va calcular el flux de permeat i el factor de concentració. El flux de permeat es defineix com el volum de permeat que flueix a través d'una unitat de superfície de membrana en un període de temps unitari i el factor de concentració volumètric (FCV) indica el grau de reducció del volum inicial d'alimentació abans de l'ultrafiltració.

Posteriorment, es guardava una alíquota del plasma UF (retentat) en un recipient estèril i en refrigeració, per fer-ne la caracterització i comparar els resultats amb l'alíquota del plasma inicial (sense concentrar).

Finalment, i amb l'objectiu de conservar el plasma en bones condicions fins a la seva utilització en l'elaboració dels pernils, les mostres de plasma UF i plasma control es congelaven fins a $-21\text{ }^{\circ}\text{C}$ i es mantenien en aquest estat fins al seu ús.

3.5 Determinacions analítiques del plasma

Els paràmetres que es van determinar de les diferents mostres de plasma control i concentrat van ser el percentatge d'humitat, el contingut en proteïnes, les cendres, el contingut en fosfats i el contingut en ferro. També es van fer recomptes microbiològics tant del P.C. com del P.U.F, per conèixer l'efecte de la concentració per UF sobre la microbiota contaminant del plasma.

3.5.1 Humitat

El contingut en humitat es determinava per gravimetria, mitjançant dessecació de la mostra en una estufa (Selecta S.A., Arbrera, Barcelona) a 105°C durant unes 24 hores o fins a pèrdua de pes constant (A.O.A.C., 1995).

El resultat es va expressar en percentatge d'humitat respecte el pes inicial de la mostra. Es van realitzar tres repeticions de cada mostra.

3.5.2 Contingut en cendres

El percentatge de sals minerals es determinava gravimètricament després de la incineració de les mostres, prèviament dessecades a l'estufa a $105 \pm 2^\circ\text{C}$, en un forn mufla fins a uns 550°C durant el temps necessari per assolir un pes constant, segons la norma ISO R-936 (A.O.A.C., 1995). Cada determinació es feia per triplicat sobre cada mostra i s'utilitzava un forn mufla (Naber Industriesfenbau, Bremen, Alemanya) i una balança analítica (Sartorius Basic) de 0,1 mg de precisió.

3.5.3 Contingut en proteïnes

La determinació del nitrogen total de les mostres es va fer pel mètode Kjeldahl (norma I.S.O-937; A.O.A.C. (1995)). Les mostres s'introduïen en tubs de digestió, on s'afegien 10 mL d'àcid sulfúric al 96% i una pastilla de catalitzador Kjeldahl que contenia sulfat de coure i seleni. La digestió es feia en un digestor Selecta Bloc-digest (Selecta, S.A., Arbrera, Espanya) a 375°C durant unes 3 hores, incrementant la temperatura de forma progressiva per evitar la pèrdua de mostra per evaporacions sobtades: primer 30 min a 150°C , seguit de 30 min més a 200°C i aproximadament dues hores més a 375°C fins que la digestió era completa. Els tubs es deixaven refredar i s'addicionaven uns 90 mL d'aigua destil·lada.

La destil·lació es feia en un destil·lador Kjeldahl automàtic (Selecta Dosi-Gen S-511). Es preparaven uns erlenmeyers amb 25 mL d'àcid bòric al 4% i unes gotes d'indicador mixt. També s'afegien unes gotes d'indicador i hidròxid de sodi al 40% als tubs digerits. Es posava en marxa el destil·lador fins obtenir uns 125 mL de destil·lat.

Finalment, es valorava l'amoniac del destil·lat amb àcid clorhídric 0,25 N. Per a la determinació de les proteïnes, es va utilitzar un factor de conversió de percentatge de nitrogen a percentatge de proteïna de 6,25. Cada determinació es va fer per duplicat per cada mostra.

3.5.4 Anàlisi microbiològica

Per tal d'avaluar l'efecte del tractament de concentració per UF sobre la microbiota contaminant del plasma es van realitzar recomptes dels microorganismes aerobis mesòfils totals de les mostres de P.C i P.U.F. Les mostres es recollien en recipients de plàstic estèrils i es guardaven en refrigeració fins que eren analitzades. Les anàlisis microbiològiques es feien sempre el mateix dia en què es concentraven les mostres de plasma, en una cabina de flux laminar Telstar BV-100 (Telstar S.A., Terrassa, Barcelona), que havia estat prèviament esterilitzada amb raigs ultraviolats.

Es va utilitzar la tècnica de la sembra en massa. Per realitzar les sembres, es va partir d'una solució d'1 mL de mostra problema en 9 mL del diluent aigua de triptona (Oxoid Ltd., Basingtoke, Anglaterra) i, a partir d'aquesta dilució es va fer el banc de dilucions decimals corresponent. Es sembrava 1 mL de cada dilució massa sobre una placa de petri estèril i s'hi abocaven uns 15-20 mL del medi de cultiu de recompte general *Plate Count Agar* (Oxoid Ltd., Basingtoke, Anglaterra). Les plaques s'incubaven a 31°C durant 48-72 h i posteriorment es realitzava el recompte de les unitats formadores de colònies per mL.

3.5.5 Contingut en fosfats

El contingut en fosfats es va determinar per espectrofotometria. Aquest mètode és una de les tècniques experimentals més utilitzades per a la detecció específica de molècules. Es basa en la formació d'un heteropoliàcid amb el reactiu vanado-molibdat (de color groc i soluble en aigua) l'absorció de llum del qual es mesura a 420 nm.

Per l'ortofosfat, l'altre reactiu utilitzat, la formació d'aquest complex té lloc seguint la reacció següent:



Per a l'anàlisi del contingut de fosfats en les mostres de plasma es va seguir el mètode del patró extern. Per dur-lo a terme cal la realització d'una corba de calibració prèviament a l'anàlisi del contingut en fosfats. Així doncs, es van preparar diverses solucions amb concentracions conegudes de l'analit i un blanc. El blanc contenia només l'anomenada matriu, és a dir, tots els reactius i dissolvents excepte l'analit d'interès. En l'interval de resposta lineal s'obté una recta de calibrat a partir de la qual es calcularà la concentració, en el nostre cas de fosfats, presents a la mostra.

Aquest rang de linealitat de la recta de calibrat ve determinat per la Llei de Lambert-Beer. El fonament d'aquesta Llei és que quan una substància absorbeix radiació electromagnètica a una determinada longitud d'ona, el valor de l'absorbància és $A = \epsilon \cdot c \cdot l$. On "ε" és una constant (coeficient d'absorbància), "c" és la concentració molar de la substància que absorbeix i "l" la longitud de la cubeta, que normalment és d'1 cm. Per tant, tot i no conèixer el valor de "ε" es pot relacionar l'absorbància amb la concentració mitjançant l'ajust de la recta de calibrat.

La limitació és deguda a que la Llei només es pot complir quan no hi ha reflexió interna ni refracció. I això només es compleix quan "c" és baixa, és a dir, la zona on es compleix la linealitat. No hi ha valors fixos, s'ha de determinar analíticament cada cas fent una recta de calibrat i veure on es comença a perdre la linealitat. Per tant, si es dona un valor d'absorbància superior al patró més alt s'haurà de diluir la mostra. Mai es pot extrapolat el resultat.

Per dur a terme aquest procediment, doncs, es van preparar 3 reactius: el vanado-molibdat d'amoni, la dissolució patró d'ortofosfat i, a partir d'aquesta, la dissolució de treball d'ortofosfat.

Per preparar el vanado-molibdat d'amoni, es van dissoldre 20 grams d'heptamolibdat amònic en 400 mL d'aigua destil·lada. A part, s'havia preparat una dissolució de metavanadat amònic en aigua destil·lada i àcid nítric concentrat. Seguidament es van barrejar les dues dissolucions en un matràs aforat d'1 L de capacitat i es va enrasar amb aigua destil·lada. Posteriorment es va preparar dissolució patró d'ortofosfat d'1 g/L, i a partir d'aquesta es va preparar la dissolució de treball d'ortofosfat, de 0,1 g/L.

Posteriorment, es va preparar el calibrat extern. En matrassos aforats de 25 mL es van pipetejar alíquotes de la dissolució de treball de forma que la concentració final de fosfat era de 0, 3, 5, 10, 15, 20, 30, 40 i 50 mg/L. S'hi van afegir 10 mL de la dissolució de vanado-molibdat a cadascuna d'elles i es va enrasar amb aigua destil·lada.

Les mostres problema es van obtenir a partir de les cendres del plasma, a les quals es van afegir 10 mL del reactiu vanado-molibdat i es van enrasar amb aigua destil·lada en un matràs aforat de 25 mL de capacitat. Cada determinació es va fer per triplicat per cada mostra.

Finalment, es van llegir les absorbàncies en l'espectre visible (a 420 nm) en un espectrofotòmetre Cecil CE-7400 (Cecil Instruments Ltd., Cambridge, Anglaterra) i es va calcular el contingut de fosfats en les mostres a partir de la recta de calibració que s'havia realitzat prèviament.

3.5.6 Contingut en ferro

Finalment, l'últim anàlisi de la caracterització del plasma va ser determinar el contingut en ferro de les mostres.

La tècnica utilitzada va ser l'espectroscòpia d'absorció atòmica. Aquesta es basa en l'absorció de la radiació per part dels àtoms lliures. Aquesta tècnica implica convertir la mostra a analitzar en vapor atòmic i mesurar l'absorbància a la longitud d'ona característica de l'element a determinar.

Els sistemes més comuns de vaporització són els forns de grafit i les flames (com en aquest cas). Després, la radiació d'una font passa a través del vapor atòmic que selectivament l'absorbeix, de manera que es pot quantificar l'element degut a que l'absorció atòmica segueix la llei de Lambert-Beer.

Els instruments necessaris són la font de radiació, el monocromador, el detector i el sistema de lectura (Figura 3.5).

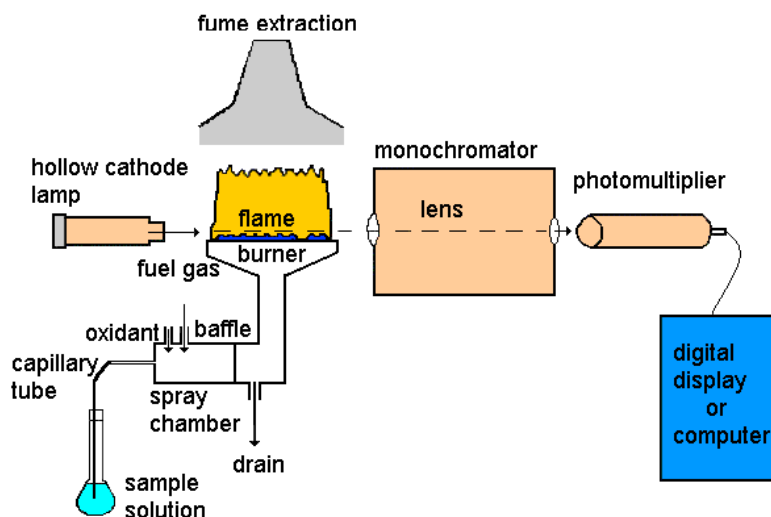


Figura 3.5. Diagrama esquemàtic d'un espectrofotòmetre d'absorció atòmica.

Font: http://www.fisica.unam.mx/liquids/atomic_absorption.php

De fonts de radiació n'hi ha varies, però les més usades i també les que es van utilitzar en aquesta determinació són les làmpades de catòde buit (Figura 3.6). Són làmpades de descàrrega en les quals el catòde està constituït per l'element a analitzar de manera que emet radiació d'una freqüència característica per a cada element. La làmpada, de pyrex, amb una finestra frontal de quars permet un bon pas de la radiació i conté un gas inert (neó o argó) a baixa pressió.

A la figura 3.6 es pot apreciar la disposició dels diferents elements a la làmpada.

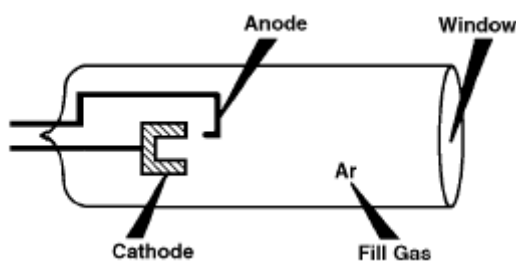


Figura 3.6. Elèctrode utilitzat en la determinació del contingut de ferro.

Font: <http://www.perkinelmer.com>

Quan s'aplica una diferència de potencial entre els elèctrodes d'aproximadament 500 V, la descàrrega, degut al disseny de la làmpada, es concentra a l'interior del catòde. Aquest potencial ionitza el gas inert, que és atret cap al catòde amb una força tal que en

xocar amb els àtoms del metall que el formen són expulsats de la superfície; i s'exciten en les col·lisions posteriors amb electrons o ions.

Quan l'estat excitat no és estable, els àtoms tornen a l'estat fonamental donant un espectre d'emissió característic de l'element que forma el càtode. En la Figura 3.7 es pot veure el procés descrit.

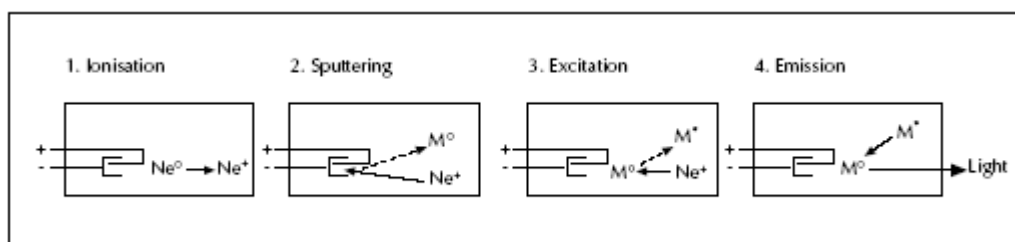


Figura 3.7. Procés des de la ionització fins l'emissió, que segueixen els àtoms en el procés d'espectroscòpia d'absorció atòmica. Font:http://www.chemsoc.org/pdf/LeamNet/rsc/AA_txt.pdf

Per què es doni l'absorció atòmica és necessari produir àtoms lliures en estat fonamental. Tradicionalment, el produir àtoms lliures en el seu estat fonamental s'ha aconseguit mitjançant l'ús de flames de diferents tipus.

La mostra normalment es presenta de forma líquida i quan passa a través del nebulitzador forma un *spray* que es barreja amb els gasos combustible i oxidant en la cambra de polvorització abans d'entrar en el cremador amb una flama a una temperatura d'entre 2000-3000 °C, on s'evapora el dissolvent de manera que queden petites partícules sòlides que es fonen i es vaporitzen.

El vapor resultant consta d'una barreja de compostos que tendeixen a descompondre's en els àtoms individuals. A la temperatura de la flama, la immensa majoria dels àtoms es troben en l'estat fonamental de mínima energia, i en absorbir radiació passen a un estat excitat. Aquesta absorció és la que es mesura.

Per preparar la mostra de plasma es va seguir el següent procediment: es van pesar 5 g de la mostra i es van assecar a l'estufa a $100 \pm 2^\circ\text{C}$ fins a pes constant. Posteriorment es van posar a la mufla a 550°C fins a obtenir cendres, tal com s'ha descrit a l'apartat 3.5.2. Al residu de cendres obtingut després de la incineració es van afegir 3 mL de HNO_3 i 9 mL de HCl concentrat a cada mostra i es van transvasar a vasos de precipitats.

Després es van posar a digerir en una placa calefactora en ebullició durant 20 minuts amb boles de vidre i vigilant que la mostra no s'evaporés afegint aigua mil·li-Q quan calia. A continuació, les mostres es refredaven, es filtraven i s'enrasaven a 50 mL amb aigua mil·li-Q.

Les determinacions es realitzaven en un espectrofotòmetre d'absorció atòmica model Varian Atomic Absorption-1275 series Spectrophotometer (Varian, Inc.). Abans de l'anàlisi de les mostres es va realitzar una calibració de l'equip entre 1 i 5 ppm d'analit, amb patrons ja preparats de concentració de ferro (Fe) conegudes. Les condicions de lectura de les mostres i paràmetres de l'espectrofotòmetre són els que es detallen a continuació. Es va llegir a una longitud d'ona de 248,3 nm. La flama era d'aire-acetilè; l'escletxa, de 0,2 nm; la corrent activa, de 10 mA i la làmpada, de càtode de ferro. Es van fer dues repeticions de les mostres de plasma i una lectura per a cada repetició.

3.6 Elaboració dels pernils cuits

El procediment d'elaboració dels pernils cuits va ser el mateix tant pels elaborats segons la fórmula estàndard (control amb polifosfats) com pels que tenien el plasma ultrafiltrat com a ingredient de la salmorra (sense polifosfats afegits). Només hi havia diferència en els ingredients utilitzats, que es detallen a continuació. Per elaborar els pernils cuits es van fer servir els ingredients que es mostren a la Taula 3.1.

Per elaborar la salmorra pels pernils, una vegada pesats els ingredients corresponents, aquests es van afegir a l'aigua (o bé al plasma UF descongelat) en l'ordre següent i barrejant la salmorra després de cada addició:

- 1- Tripolifosfat-Na (si s'escau)
- 2- Sal comú
- 3- Nitrit-Na
- 4- Carragenat + dextrosa
- 5- Ascorbat-Na

Taula 3.1. Ingredients utilitzats en l'elaboració de la salmorra per la fabricació dels pernills control i amb plasma UF. Valors dels ingredients en grams.

	Control	Amb plasma UF
Aigua	53,750	---
Plasma	---	53,750
Tripolofosfat-Na	0,937	---
Sal comú	5,625	5,625
Nitrit-Na	0,050	0,050
Carragenat	0,156	0,156
Dextrosa	1,562	1,562
Ascorbat-Na	0,156	0,156

Posteriorment, es van pesar 250 g de carn de pernil de porc tallada a daus dins d'un recipient, s'hi va afegir la salmorra i es va amassar durant 15 min amb una batidora Multimix Braun a velocitat 1. Una vegada finalitzada aquesta part, es va transferir tot el contingut a una bossa de buit de 17x30 cm que es tancava i guardava en refrigeració durant 20 min.

Seguidament, s'envasava en condicions de buit normal amb una envasadora TECNOTRIP EVT-7-6-TD-SD i es tornava a posar en refrigeració durant 16-24 h.

Quan havia passat el temps suficient, el contingut de la bossa de buit es transferia a una flamera d'acer inoxidable de diàmetre superior 9 cm, diàmetre inferior 5,5 cm i alçada 6 cm, de la qual s'havia anotat el pes prèviament. Es va dipositar la carn amassada a la flamera i també s'anotava el pes conjunt per, després de la cocció, poder calcular les minves que presentaven els pernills. Després s'envasava al buit normal (igual que s'havia fet anteriorment) en una bossa resistent als tractaments de cocció.

La cocció dels pernills es realitzava en un bany d'aigua a 75-76°C (Figura 3.8), fins que s'assolia una temperatura de 70°C al centre del pernil (durant 54-56 min). Aquesta temperatura es mesurava en un pernil que es preparava exclusivament per a aquest control de temperatura i que posteriorment no s'utilitzava per a cap anàlisi. Per mesurar la temperatura es va utilitzar una sonda de temperatura Crison Thermometer 638 PT. A partir del registre de la temperatura al centre del productes durant la cocció es va

calcular el valor P de pasteurització (P_{70}) assolit en els 3 tractaments tèrmics per validar els processos de cocció.



Figura 3.8. Cocció dels pernils en un bany d'aigua calenta.

Una vegada finalitzada la cocció, els pernils es deixaven refredar fins a T^a ambient en un bany d'aigua freda i després es mantenien en refrigeració fins les anàlisis corresponents.

Es van realitzar 3 produccions de pernils ($n=3$) en setmanes diferents però en les mateixes condicions, és a dir, es van elaborar 3 pernils amb plasma ultrafiltrat i 3 pernils normals.

3.7 Determinacions analítiques dels pernils cuits

Posteriorment a l'elaboració dels pernils cuits, també es feia la caracterització dels productes obtinguts.

Per cada producció es van determinar les pèrdues per cocció, pH, el color CIE $L^*a^*b^*$, l'activitat de l'aigua, la humitat, el contingut en proteïnes, les cendres, la capacitat de retenció d'aigua (CRA), el contingut en fosfats i es va fer un anàlisi del perfil de textura

(TPA), a partir del qual es van determinar paràmetres com la duresa, adhesivitat, cohesivitat, elasticitat i masticabilitat dels pernils obtinguts.

3.7.1 Pèrdues per cocció

Les minves per cocció es van mesurar a partir de la diferència de pes del producte abans i després de la cocció, ja que en aquest procés hi havia certa exsudació de líquid per part del pernil cuit.

Per mesurar-ho, es va treure el pernil cuit de la bossa de cocció i es va pesar juntament amb la flamera d'acer inoxidable. Al valor obtingut se li va restar el pes de la flamera i es va obtenir el pes final del producte. Comparant-lo amb el pes inicial es van poder calcular les pèrdues per cocció del pernil, que s'expressaven en percentatge sobre el pes inicial.

3.7.2 pH del pernil

La determinació del pH es feia amb un pH-metre Crison GLP 22 equipat amb una sonda Crison 52-32. Es van prendre tres mesures de cada pernil i se'n va fer la mitjana aritmètica.

3.7.3 Color

Els paràmetres de color del pernils obtinguts es va determinar seguint l'espai de color CIE $L^*a^*b^*$ amb un colorímetre Minolta CR-300 (Minolta Co, Ltd., Osaka, Japó) equipat amb un il·luminant universal estàndard D_{65} i un observador estàndard de 2° .

L'espai de color CIE $L^*a^*b^*$ s'anomena així ja que es determinen tres coordenades (L^* , a^* i b^*) que corresponen a un determinat color si es miren els eixos tridimensionals corresponents a aquest sistema, que es mostren en la Figura 3.9.

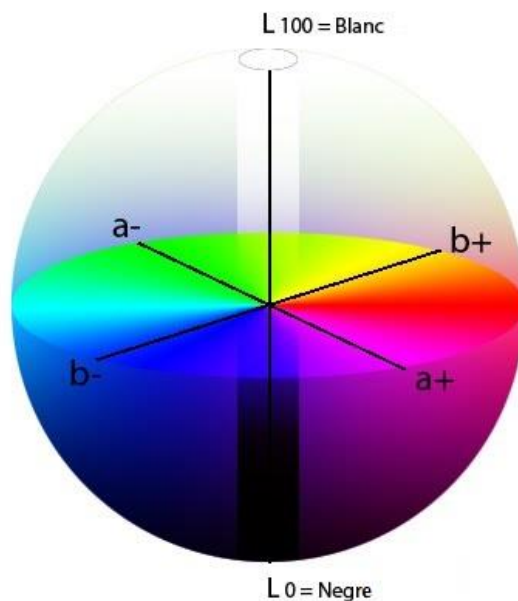


Figura 3.9. Espai de color LAB.

Font: <https://adelossantos.wordpress.com/2013/06/30/colores-lab-ventajas-y-desventajas/>

Aquest és un sistema de representació de colors desenvolupat l'any 1976. Aquest sistema caracteritza un color determinat amb l'ajuda d'un paràmetre d'intensitat corresponent a la lluminositat i dos paràmetres de cromàtic.

El component L^* és la lluminositat, que va del valor 0, que correspon al color negre; al valor 100, corresponent al blanc. Els paràmetres a^* i b^* conjuntament representen el to i la saturació del color.

El component a^* representa la gamma d'eixos vermell-verd (oscil·la de +60 a -60). On els valors positius corresponen al color vermell i els negatius al verd. Guanyant en intensitat de color com més positiu o negatiu és aquest paràmetre.

El component b^* representa la gamma d'eixos groc-blau (de +60 a -60). On els valors positius corresponen al groc i els negatius al blau. També guanyant en intensitat com més positiu o negatiu és el valor de b^* .

El component C^* és el cromàtic, que va del valor 0 al 100, i representa la saturació del color. I es calcula de la forma següent: $C^*=(a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$.

Abans, però, de procedir a determinar el color de les mostres, va caldre una calibració de l'aparell amb una placa de referència corresponent al color blanc. De cada mostra de pernil es feien tres mesures dels paràmetres del color a temperatura ambient.

3.7.4 Activitat de l'aigua

L'activitat de l'aigua (a_w) és un paràmetre molt important en els aliments i indica la disponibilitat de l'aigua. És la relació entre la pressió de vapor d'un aliment respecte la pressió de vapor de l'aigua pura a la mateixa temperatura. Està molt lligat a la humitat de l'aliment i, per tant, a la seva capacitat de conservació. Concretament, com més baixa sigui l'activitat de l'aigua d'un aliment, menys microorganismes s'hi poden desenvolupar i, per tant, més fàcil serà conservar el producte. Per contra, com més alta és, més perible és el producte. A més, l'activitat d'aigua també afecta a l'estabilitat química i bioquímica de l'aliment en relació a factors com l'enfosquiment enzimàtic, la degradació de nutrients, l'oxidació lipídica o les reaccions enzimàtiques.

L'activitat de l'aigua dels pernills es va determinar en l'aparell Novasina LabMaster-aw (Novasina AG, Suïssa) (Figura 3.10). Es tracta d'un higròmetre elèctric que mesura els canvis de conductivitat elèctrica del material en equilibrar-se a diferents humitats relatives, utilitzant com material de referència clorur de liti.



Figura 3.10. Equip Novasina Lab Master-aw utilitzat per mesurar l'activitat de l'aigua.

Font:https://www.grosseron.com/novasina-labmaster_56-1257-1-2397-0-9592.html

Les càpsules per mesurar l' a_w s'emplenaven amb mostres de pernil cuit triturat i es col·locaven a l'aparell fins que la lectura de l' a_w fos estable. Es feien dues mesures de l' a_w a 20°C per cada mostra.

3.7.5 Humitat

La humitat, com s'ha dit anteriorment, va molt lligada a l'activitat d'aigua d'un aliment. I també indica quan un producte serà perible o no, és a dir, si la seva humitat és elevada o no. La humitat dels pernills cuits es determinava per gravimetria tal com s'ha descrit en l'apartat 3.5.1. Els resultats estan expressats en tant per cent d'aigua respecte al pes fresc.

3.7.6 Contingut de proteïnes

Per determinar el contingut de proteïna dels pernills es va utilitzar el mètode Kjeldahl, igual que es va fer amb el plasma, com s'ha explicat en l'apartat 3.5.3. El contingut proteic del pernil es determinava per duplicat sobre cada mostra.

3.7.7 Contingut de cendres

El contingut de cendres de la mostra es va determinar per gravimetria, seguint el mateix procediment que en el cas del plasma (apartat 3.5.2). El contingut de cendres es dóna en percentatge de cendres respecte el pes de la mostra inicial. Es van realitzar dues repeticions per cada mostra.

3.7.10 Contingut en fòsfats

Per calcular el contingut en fòsfats de les mostres de pernil cuit es va seguir el mateix procediment que es va utilitzar per les mostres de plasma (apartat 3.5.5). Es van fer 3

lectures per a cada repetició i els resultats es van expressar com a mil·ligrams de fosfats per cada 100 grams de pernil.

3.7.8 Anàlisi del perfil de textura (TPA)

L'anàlisi del perfil de textura (TPA o *Texture Profile Analysis*) és una prova de compressió doble que dóna informació diversa respecte a les propietats sensorials de determinats productes. Durant l'assaig del TPA, la mostra es comprimeix 2 vegades usant un analitzador de textura, que imita l'acció de mossegar, per donar una idea del comportament de la mateixa quan es mastega. El TPA permet quantificar múltiples paràmetres de la textura en un sol experiment. En el nostre cas es van determinar paràmetres com la duresa, adhesivitat, cohesivitat, elasticitat i masticabilitat dels 2 tipus de pernills obtinguts a partir dels valors resultants de l'assaig del TPA, que l'aparell calcula automàticament. Aquestes anàlisis es van realitzar per triplicat per cada mostra.

Les anàlisis del TPA es feien sobre peces cilíndriques de pernil cuit de 1,4 cm d'alçada i 1,3 cm de diàmetre en un texturòmetre Texture Expert model TA-XT2 (Stable Micro Systems, Surrey, Anglaterra) (Figura 3.11) amb una sonda cilíndrica d'alumini (P50) de 50 mm de diàmetre en les següents condicions:

- Velocitat de pre-assaig: 1 mm/s
- Velocitat d'assaig: 1 mm/s
- Velocitat de post-assaig: 1 mm/s
- Deformació: 50%
- Temps d'espera entre el primer i el segon cicle compressió-descompressió: 2 s
- Àrea de contacte: 452,16 mm²

És a dir, la velocitat a la que baixa la sonda era la mateixa abans, durant i després de notar el contacte amb el producte i, per tant, de llegir els resultats. La deformació que el producte havia de suportar per donar per completat cada cicle és del 50%, i la sonda s'esperava 2 segons entre les dues lectures.



Figura 3.11. Texturòmetre Texture Expert model TA-XT2 (Stable Micro Systems).
Font:<http://texturetechnologies.com/texture-analyzer-upgrades/hardware-upgrades.php>

Les lectures donaven un gràfic semblant al que es mostra a continuació (Figura 3.12) on l'eix de les ordenades correspon a la força (N) i el de les abscisses al temps (s):

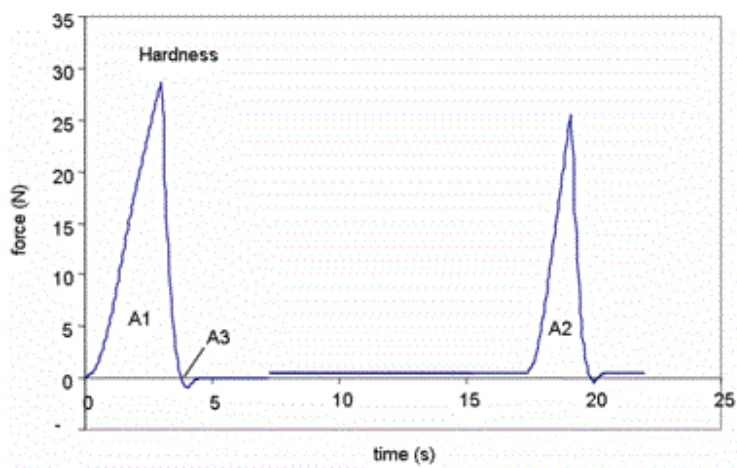


Figura 3.12. Àrees que s'obtenen en l'anàlisi del perfil de textura.
Font:http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-66322008000400008

En aquest assaig es fan dues compressions al producte. En la primera, depenent del producte que s'analitzi, és possible veure-hi un pic de fracturabilitat. El pic màxim determina la duresa del pernil i forma una àrea (Àrea 1) amb l'eix de les abscisses.

Si el producte té una alta adhesivitat es pot veure una àrea negativa abans de la segona compressió (Àrea 3). A continuació es fa una segona compressió del producte i s'obté un altre pic amb una àrea semblant a l'Àrea 1 (Àrea 2).

Les distàncies entre l'inici de cada compressió i el seu punt màxim també són d'importància a l'hora de realitzar els càlculs (Distància 1 i Distància 2). Així com també les unitats de força de l'eix de les ordenades (en Newtons) i el temps transcorregut en l'eix de les abscisses (en segons).

A partir dels gràfics es van calcular els paràmetres esmentats, de la següent forma:

- Duresa = Newtons de força màxima realitzats en la compressió del producte.
- Adhesivitat = valor de l'àrea negativa (Àrea 3) mesurat en newtons per segon (N·s).
- Cohesivitat = Àrea 2 / Àrea 1. No té unitats (adimensional).
- Elasticitat = Distància 2 / Distància 1. Es mesura en mil·límetres.
- Masticabilitat = Duresa x Cohesivitat x Elasticitat. Es mesura en newtons per mil·límetre.

3.7.9 Capacitat de retenció d'aigua (CRA)

Aquest paràmetre també és important de conèixer en el cas del pernil cuit, ja que determina propietats organolèptiques que el consumidor valora, com ara la textura i la sucositat. La CRA es va determinar per gravimetria, concretament a partir de la diferència de pes entre una peça de pernil cuit abans i després de centrifugar.

Primer es tallava una peça cilíndrica de pernil d'uns 10 g de pes i s'anotava el pes amb precisió de 0,1 mg. A continuació es posava dins d'un vas de precipitats de 100 mL tapat amb un vidre de rellotge i aquest es va submergir fins la meitat en un bany d'aigua a 90°C durant 10 min, procurant que no hi entrés aigua.

Passats els 10 minuts, es refredava, i es treia la mostra amb unes pinces i s'embolicava amb una gassa. La mostra embolicada es va introduir dins un tub de centrífuga de

policarbonat de 50 mL de capacitat amb cotó al fons per retenir l'aigua que perdria la mostra durant el procés de centrifugació.

Seguidament, la mostra es centrifugava a 7700 rpm durant 10 minuts i a una temperatura de 4°C en una centrífuga Sorvall RC-SC plus (Dupont Co, Newton, Connecticut, USA). Un cop finalitzada la centrifugació, la mostra es pesava amb precisió de 0,1 mg. La CRA s'expressava com a percentatge d'aigua retinguda respecte el contingut d'aigua inicial. Aquest procés es realitzava per triplicat per cada mostra de pernil.

3.8 Anàlisi estadística dels resultats

L'anàlisi estadística dels resultats es va realitzar amb el programa SPSS versió 23 per a Windows (IBM SPSS *Statistical software* Inc., Chicago, IL, Estats Units). Per al tractament estadístic de les dades obtingudes es van comparar les mitjanes utilitzant el T-Test (t de Student) per mostres aparellades. Es va avaluar l'efecte del tractament de concentració per UF sobre els diferents paràmetres avaluats en el cas del plasma, així com l'efecte de la substitució de polifosfats per plasma ultrafiltrat congelat en el cas dels pernils. El nivell de significació per els tests es va establir en $P < 0,05$.

3.9 Anàlisi sensorial

L'anàlisi sensorial va ser l'últim que es va realitzar i va consistir en la determinació de les principals característiques del pernil a càrrec d'un panell de consumidors no ensinistrat de 23 persones, homes i dones, de diferents edats. Aquesta prova es va dur a terme a l'Escola Politècnica Superior de la UdG.

Als consumidors se'ls van facilitar 3 mostres de cada tipus de pernil i un qüestionari com el que es mostra a la taula 7.4 dels Annexos, de manera que van poder puntuar els diferents aspectes dels pernils de la següent forma:

Gens = 0 punts; poc = 1 punt; ni sí ni no = 2 punts; força = 3 punts; i molt = 4 punts.

Per últim, també es va preguntar als consumidors si comprarien els pernils en el cas que estiguessin a la venda, amb tres possibles respostes

- No
- Ns/Nc
- Sí

4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

4. RESULTATS I DISCUSSIÓ

4.1 Obtenció del plasma sanguini concentrat per ultrafiltració

4.1.1 Seguiment del procés

La ultrafiltració és un tipus de filtració tangencial que utilitza membranes de permeabilitat selectiva i permet la separació de substàncies d'elevat pes molecular (com proteïnes i polisacàrids), les quals queden en el retentat o concentrat. Els compostos de pes molecular més baix com les sals minerals, sucres i l'aigua passen a través de la membrana (permeat). L'objectiu d'aquest procés era el de concentrar les proteïnes del plasma de sang de porc.

Durant el procés de concentració per ultrafiltració del plasma es va fer el seguiment del pes de permeat i la temperatura del retentat cada dos minuts. En la Figura 4.1 es mostra aquesta evolució.

En totes tres repeticions es va partir del plasma a una temperatura d'entre 12 i 14 °C i es va veure que al finalitzar la ultrafiltració aquesta havia augmentat aproximadament uns 8°C respecte al valor inicial. L'evolució de la temperatura en les tres produccions és molt similar.

Com es pot veure, el temps que s'ha necessitat per dur a terme la concentració del plasma fins al 50%, amb un FCV (factor de concentració volumètric) de 2, és semblant en els tres casos, ja que està comprès entre els 55 i 61 minuts aproximadament.

Totes les repeticions es comporten gairebé de forma lineal i amb un pendent molt semblant, sobretot si es compara la primera i la segona repetició. En la tercera el pendent ha estat una mica inferior però sense diferències importants.

També es pot observar que a mesura que avança el temps, el procés s'alenteix lleugerament. Això és degut a fenòmens de colmatació de la membrana de filtració tangencial.

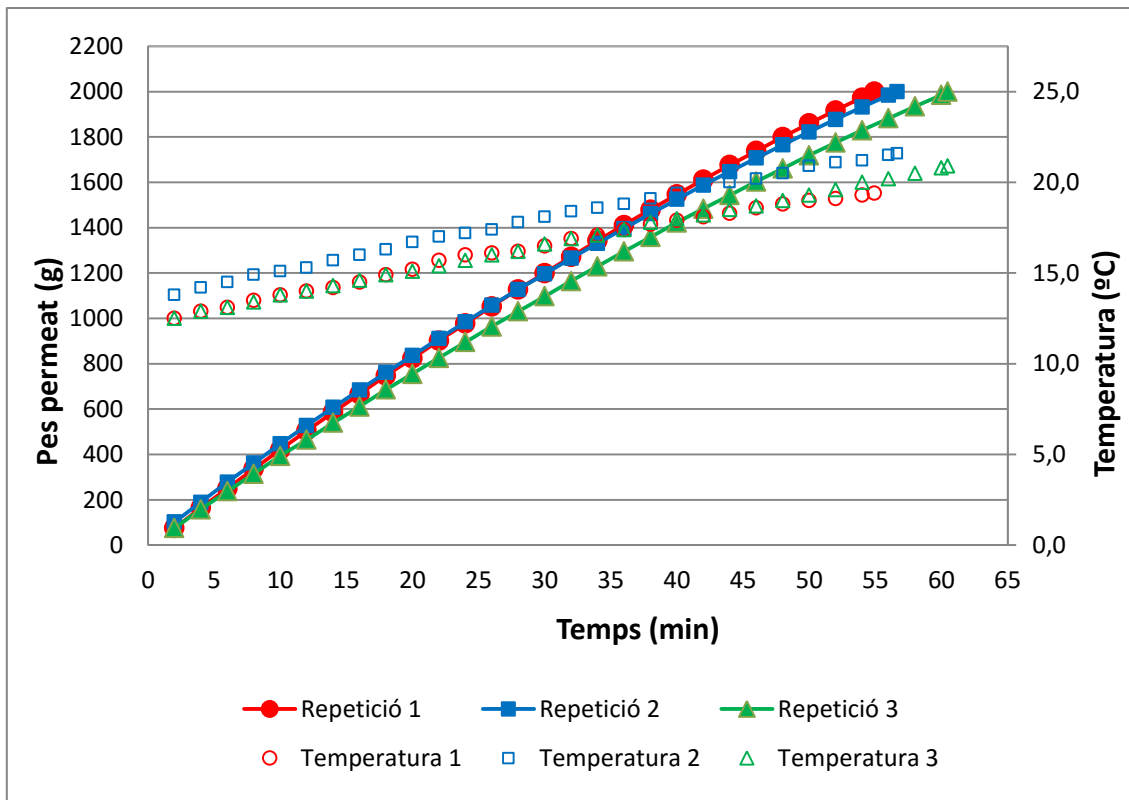


Figura 4.1. Evolució del pes del permeat i la temperatura del retentat respecte el temps durant la concentració del plasma per UF.

Aquesta disminució del flux de filtrat s'observa més clarament a la Figura 4.2, on es mostra l'evolució del flux del permeat (velocitat de flux del permeat per unitat de superfície de membrana) durant el procés de filtració tangencial.

El flux de permeat està relacionat amb la mida dels porus de la membrana filtrant. Com més petits són els porus, menor és el flux de permeat per a una mateixa pressió aplicada al procés (Parés et al., 2014)

Els fluxos inicials estan compresos entre els 7,6 i els 9 L/(m²·h), mentre que al final del procés oscil·len entre els 6,2 i els 6,9 L/(m²·h). Tant els valors inicials com els finals són molt semblants entre les tres repeticions a excepció del flux inicial de la segona repetició que és una mica més alta que en el cas de la repetició 1 i 3. Això pot ser degut a variables com ara una millor neteja o a una diferència de temperatura del retentat, ja que en el cas de les repeticions 1 i 3 el plasma estava a 12,5°C de temperatura inicial; mentre que en la segona repetició estava a 13,8°C. La temperatura final en els tres casos va estar compresa entre els 19,5°C i 21,5°C aproximadament.

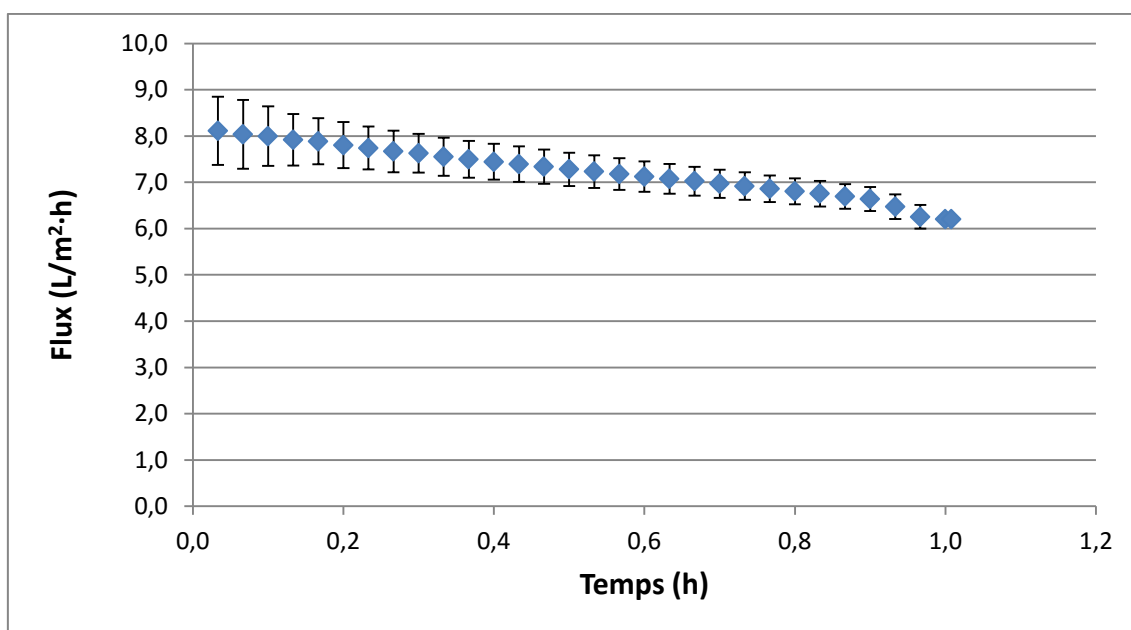


Figura 4.2. Evolució del flux de permeat (mitjanes \pm desviació estàndard, $n=3$) durant el procés de concentració per ultrafiltració del plasma.

Aquests valors són semblants als obtinguts en estudis anteriors realitzats al grup de recerca, sobre concentració de productes derivats del plasma de sang porcina mitjançant filtració tangencial, com per exemple el de Casals (2011), en el qual també hi havia un descens del flux de permeació durant el procés d'ultrafiltració, en el seu cas, de sèrum obtingut a partir del plasma de sang porcina.

En l'estudi de Parés et al. (2014) es va trobar que les taxes de permeació també disminuïen considerablement a mesura que s'allargava el procés de concentració, degut a una colmatació de la membrana filtrant i a l'increment de la viscositat del retentat. Si es comparem els resultats obtinguts es pot veure que partint del mateix volum inicial; amb una FCV = 2 en ambdós casos, i amb el mateix tipus de membrana i la mateixa pressió transmembrana, aquesta disminució de flux a través de la membrana evoluciona d'una forma molt semblant, acabant en tots dos estudis amb un valor de flux pròxim als $6 \text{ L/m}^2 \cdot \text{h}$, quan el valor inicial havia estat bastant superior.

4.2 Caracterització del plasma concentrat

Posteriorment a la realització del procés d'ultrafiltració es va realitzar una anàlisi microbiològica i també es van determinar les característiques físico-químiques del plasma concentrat per UF respecte les del plasma control.

4.2.1. Recompte de microorganismes aerobis mesòfils viables

A la taula 4.1 es mostren els resultats dels recomptes de microorganismes aerobis mesòfils totals del plasma control i de l'ultrafiltrat. Els bacteris aeròbics mesòfils viables són aquells capaços de desenvolupar-se en presència d'oxigen a una temperatura de 30-37 °C. El recompte total de microorganismes pot orientar sobre les condicions higièniques de l'elaboració i la seguretat potencial de l'aliment. Uns recomptes elevats de bacteris mesòfils en un aliment indiquen condicions de fabricació poc higièniques.

Taula 4.1. Resultats de l'anàlisi microbiològica en els dos tipus de plasma. Es mostren els valors de la mitjana \pm desviació estàndard (n=3) dels logaritmes de les ufc/mL. Les lletres diferents mostren diferències significatives entre tractaments ($P < 0,05$).

	Aerobis mesòfils sobre extracte humit (log (ufc/mL))	Aerobis mesòfils sobre extracte sec (log (ufc/mL))
Plasma control	5,26 \pm 0,14a	6,33 \pm 0,14a
Plasma UF	5,70 \pm 0,03b	6,59 \pm 0,03a

Els recomptes totals del plasma UF (expressats sobre extracte humit) són significativament superiors ($P > 0,05$) als del control. Tanmateix, els logaritmes de les ufc/mL expressats sobre l'extracte sec de cada producte no eren significativament diferents, fet que demostra que la UF no produeix un augment de la contaminació microbiològica dels plasma. Aquest paràmetre és important ja que un dels possibles riscos del procés de concentració és la concentració dels microorganismes presents al plasma.

Globalment, aquests recomptes són semblants als nivells de contaminació observats en el plasma i la sang de porc en estudis anteriors (Dàvila et al., 2006; Saguer et al., 2007), ens els quals es va observar que la sang de porc pot contenir recomptes d'aeròbics mesòfils de l'ordre de 10^6 ufc/mL, mentre que els recomptes obtinguts en l'anàlisi microbiològica del plasma control eren de l'ordre de 10^5 ufc/mL.

A més, el plasma és un ingredient que s'incorporarà a un producte al que es farà un tractament tèrmic de conservació tipus cocció o pasteurització i, per tant, disminuirà la seva contaminació microbiològica.

Malgrat això, també cal treballar seguint unes bones pràctiques higièniques d'elaboració tant en la preparació de la salmorra com dels productes carnis cuits, que assegurin l'obtenció de pernills amb una contaminació microbiològica baixa.

4.2.2. Caracterització físico-química

A la taula 4.2 es mostren els resultats obtinguts de la caracterització físico-química del plasma control i del plasma concentrat per UF. En general, els resultats de la composició química del plasma són els esperats, molt semblants als obtinguts en estudis anteriors (Casals, 2011).

Taula 4.2. Resultats de la caracterització físico-química del plasma concentrat per UF i el plasma control. Es mostren els valors de la mitjana \pm desviació estàndard (n=3). Les lletres diferents indiquen diferències significatives entre tractaments ($P < 0,05$).

	Humitat (%)	Proteïna (%)	Cendres (%)	Fosfats (ppm)	Ferro (ppm)
Plasma control	91,50 \pm 0,15a	6,77 \pm 0,24a	1,21 \pm 0,08a	80,91 \pm 2,17a	0,55 \pm 0,20a
Plasma UF	86,93 \pm 0,44b	11,23 \pm 0,47b	1,10 \pm 0,07b	81,11 \pm 2,49a	0,75 \pm 0,33a

Pel que fa als resultats obtinguts per l'efecte de la UF sobre la composició química, hi ha diferències significatives ($P < 0,05$) en el percentatge d'humitat dels dos tipus de plasma. Concretament, s'observa una disminució d'uns 4,5 aproximadament, en el plasma ultrafiltrat respecte el control. Aquesta variació és deguda al procés de concentració de les substàncies presents en el plasma, proteïna majoritàriament i part de les sals minerals, que és superior en el plasma ultrafiltrat.

Com és d'esperar, també es van observar diferències significatives ($P < 0,05$) tant en el contingut en proteïnes com en les sals minerals (cendres) dels dos tipus de mostres. El plasma control té un 6,8% de proteïna mentre que el plasma UF un 11,2% de proteïna. Això suposa un increment del contingut de proteïna de gairebé un 66%. Aquest increment del contingut en proteïna és molt interessant de cara a un possible interès comercial del producte i les aplicacions tecnològiques com a ingredient tecnofuncional.

Pel que fa al contingut en cendres del plasma control i del plasma concentrat, aquest és de l'1,2% i 1,1 %, respectivament. La diferència no és gaire elevada, però significativa. Aquesta variació, es pot explicar perquè en el procés d'ultrafiltració les sals presents en el plasma passen a través dels porus de la membrana i es queden al permeat. Per tant, és lògic que el plasma concentrat tingui un contingut en cendres significativament inferior ($P < 0,05$) que el plasma control.

Finalment, tant en el contingut de fosfats com en el de ferro, no es van trobar diferències significatives ($P > 0,05$) per l'efecte del tractament d'UF en els 2 tipus de mostres de plasma. Malgrat que en les mostres concentrades s'aprecia un lleuger augment, si els resultats obtinguts s'expressen sobre la matèria seca corresponent a cada producte (Taula 4.3), s'observa que el plasma ultrafiltrat té un contingut menor tant de fosfats com de ferro; i és lògic, ja que són compostos de pes molecular inferior als 30 kDa de la membrana filtrant utilitzada en el procés de concentració per ultrafiltració tangencial.

Taula 4.3. Resultats de les anàlisis dels fosfats i del ferro expressats sobre extracte sec del plasma concentrat per UF i el plasma control. Es mostren els valors de la mitjana± desviació estàndard (n=3). Les lletres diferents indiquen diferències significatives entre tractaments ($P<0,05$).

	Fosfats sobre ES (ppm)	Ferro sobre ES (ppm)
Plasma control	951,88 ± 25,53a	6,47 ± 2,35a
Plasma UF	620,58 ± 19,05a	5,74 ± 2,52a

4.3 Cocció dels pernils

4.3.1. Tractaments de cocció

Durant el procés de cocció dels pernils, per immersió en un bany d'aigua calenta a 75°C, es va seguir l'evolució de la temperatura al centre del producte fins a arribar a la temperatura de 70°C al centre. Aquesta evolució es mostra en la figura 4.3.

Tal i com es pot observar, la temperatura inicial en les repeticions va ser molt similar (16-17°C) i es van necessitar entre 54-56 minuts per assolir el valor de 70°C al centre dels pernilets.

El perfil de l'evolució de la temperatura era molt similar en els tres casos. Com era d'esperar, aquesta augmenta més ràpidament al principi, ja que la diferència de temperatura entre el producte i el medi és superior, i no és fins que s'arriba a uns 62°C que el pendent se suavitzava fins a arribar als 70°C.

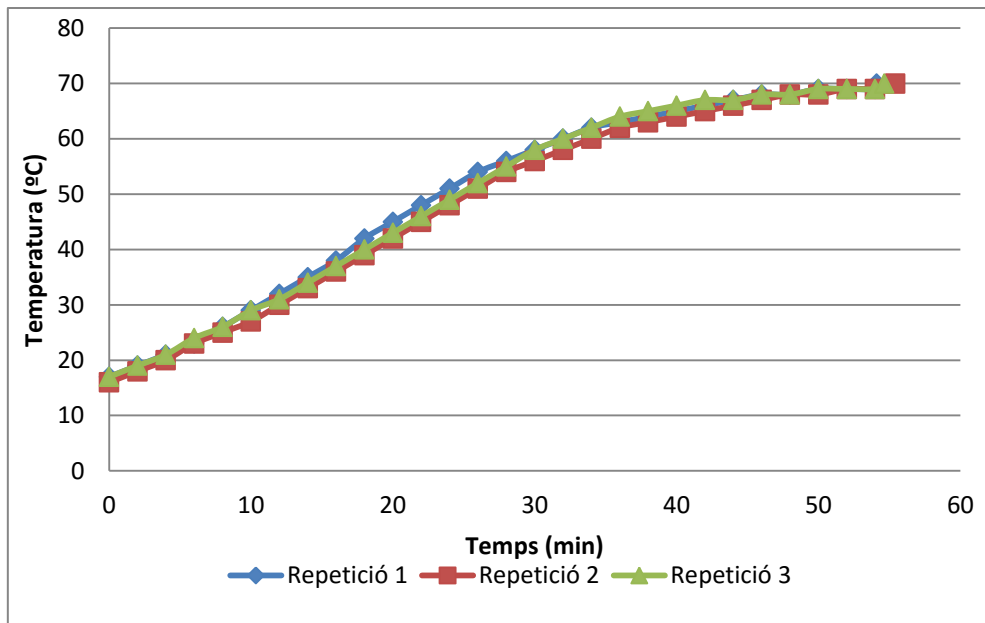


Figura 4.3. Seguiment de l'evolució de la temperatura al centre dels pernills durant els tractaments de cocció en cada repetició.

4.3.2 Validació dels tractaments de cocció

Segons el Real Decret 474/2014, de 13 de juny, pel que s'aprova la norma de qualitat dels derivats carnis (BOE núm. 147, 2014), el pernil cuit és un tipus de derivat carni pasteuritzat.

S'entén per pasteurització el procés pel qual es destrueixen les formes vegetatives dels microorganismes patògens dels aliments, i es destrueix o s'inactiva la gairebé totalitat de la microbiota banal, sotmetent els aliments a temperatures variables, en funció del temps de tractament, de manera que no pateixin modificacions essencials en la seva composició i se n'asseguri la conservació a temperatura adequada durant un període de temps no inferior a 48 hores (BOE núm. 147, 2014).

La pasteurització, com a procés tèrmic que és, té com a un dels objectius principals la seguretat del producte pel què fa a microorganismes patògens. Per tant, és una mesura de control per reduir la càrrega microbiana d'un producte fins a nivells acceptables.

En productes carnis cuits preparats llestos per al consum, el tractament de referència que s'aplica és el que disminueix en 6 logaritmes la població de *Listeria monocytogenes* (bacteri patògen de referència en productes carnis cuits llestos pel consum). Aquesta

referència s'utilitza per saber si el tractament realitzat al un producte en particular ha estat suficient o no (Grèbol et al., 2013)

Per calcular-ho s'han de conèixer diversos paràmetres:

- Valor D: és el temps de reducció decimal d'un microorganisme, és a dir, el temps (min) necessari per reduir un 90% (1 cicle \log_{10}) la població inicial d'un microorganisme a una temperatura determinada. Per exemple, el valor D a 70°C de *Listeria monocytogenes* és de **D = 0,34 min**. Per tant, si s'han de disminuir 6 logaritmes = $6 \times D = 6 \times 0,34 = 2,04 \text{ min}$.
- Valor P: valor de pasteurització (letalitat d'un tractament), és el temps (min) necessari, a una temperatura constant (T), al qual cal sotmetre una població microbiana per provocar una reducció en el nombre de microorganismes per un múltiple equivalent al valor D. Quan la T^a varia al llarg del procés, el valor P equival al sumatori de la letalitat a totes les temperatures del procés. Aquest sumatori ha de ser igual o superior al valor D multiplicat pels logaritmes a disminuir.
- Valor z: temperatura de reducció decimal o constant de resistència tèrmica que varia per cada microorganisme, és la diferència de T^a (°C) necessària perquè la velocitat de destrucció tèrmica augmenti o disminueixi 10 vegades. El valor z de *Listeria monocytogenes* és de 7,5 °C.

Amb els resultats obtinguts del seguiment de l'evolució de la temperatura al centre del pernil durant el procés de pasteurització (Taula 7.3 dels Annexos) es va calcular el valor P₇₀ dels tractaments aplicats. A la taula 7.3 es mostra els resultats de la mesura de la letalitat a cada temperatura durant el procés de pasteurització dels pernils i el resultat del càlcul de la letalitat total acumulada del procés (valor P₇₀), per a cadascuna de les 3 repeticions (Taula 4.4).

Taula 4.4. Resultats del càlcul del Valor P_{70} dels tractaments de pasteurització en les 3 produccions de pernills realitzades en el treball, suposant que un valor P_{70} de *L. monocytogenes*, amb $z=7,5$ i $D_{70}=0,34$ min és de 2,04 min.

Tractaments	ValorP_{70} (min) Letalitat acumulada	Nombre de reduccions decimals (n x D)
Producció 1	9,41	27,7
Producció 2	9,25	27,2
Producció 3	10,49	30,9

Com es pot observar, la letalitat augmenta amb la temperatura i en tots tres casos el valor P_{70} , o el que és el mateix, la letalitat acumulada del procés de pasteurització sobrepassa amb escreix els 2,04 minuts que s'estableix com a límit inferior a partir del qual un tractament de pasteurització en productes carnis cuits elaborats amb nitrats es considera efectiu. Així doncs, en tots tres casos la reducció de la població del microorganisme *Listeria monocytogenes* és força superior als 6 logaritmes i, per tant, el producte obtingut es considera apte per al consum humà.

4.4 Caracterització dels pernills

Finalment, es va realitzar la caracterització físico-química, del color i de la textura dels pernills control i els pernills elaborats amb plasma ultrafiltrat a la formulació de la salmorra. Els resultats obtinguts es mostren en les taules següents (Taulas 4.5 a 4.8).

4.4.1 Caracterització físico-química

A la taula 4.5 es mostren els resultats de les anàlisis físico-químiques realitzades als pernills. Malgrat que l'efecte de la substitució del polifosfat sobre el contingut en humitat (%) i la capacitat de retenció d'aigua (CRA) no era significativa ($P>0,05$), les petites diferències registrades es poden atribuir al diferent comportament observat entre els dos tipus de mostres respecte a les pèrdues (minves) per cocció.

Taula 4.5. Resultats de les anàlisis físico-químiques (humitat, minves, activitat de l'aigua, CRA, i pH) realitzades als pernils control i als elaborats amb plasma. Es mostren els valors de la mitjana \pm desviació estàndard (n=3). Les lletres diferents mostren diferències significatives entre tractaments ($P < 0,05$).

	Humitat (%)	Pèrdues per cocció (%)	a_w (20°C)	CRA (%)	pH
Pernil control	75,21 \pm 1,74a	3,33 \pm 0,68a	0,95 \pm 0,02a	68,88 \pm 3,28a	6,14 \pm 0,14a
Pernil amb plasma	73,31 \pm 2,47a	8,08 \pm 1,33b	0,96 \pm 0,02a	67,73 \pm 2,43a	6,15 \pm 0,19a

Pel què fa a les pèrdues que ha sofert el pernil durant el procés de cocció, sí que la diferència és significativa ($P < 0,05$). Els pernils control presentaven unes minves del 3,3% mentre que les dels pernils amb plasma eren d'un 8,1% de mitjana.

Aquest increment en les pèrdues per cocció es podria deure a que, tot i que la concentració de polifosfats entre els pernils control i els elaborats amb plasma no presenta diferències significatives tal i com es mostra a la taula 4.6, els polifosfats que aporta el plasma no actuen a les proteïnes del múscul, de manera que no ajuden a retenir la salmorra. Això es podria explicar perquè els polifosfats afegits inicialment a la sang de porc amb la funció d'anticoagulant segresten el calci (Rangel et al., 1995), formant fosfat de calci i quan el plasma s'incorpora a la formulació de la salmorra aquests fosfats poden continuar lligats al calci, cosa que els impediria d'actuar sinèrgicament amb la sal per augmentar la capacitat de la carn de retenir la salmorra. Tot i que és només una hipòtesi i convindria estudiar-ho en profunditat en estudis posteriors.

L'activitat d'aigua és gairebé idèntica i sense diferències significatives entre els dos tipus de mostres. Aquest paràmetre està dins el rang òptim per un producte com el pernil cuit, ja que com s'ha dit anteriorment, el pernil cuit és un producte amb una activitat d'aigua superior a 0,95.

Els valors del pH dels dos tipus de pernil també es mouen dins la normalitat, concretament es troba prop del 6,2, i no hi ha diferències significatives.. Aquest valor és també normal pel tipus de producte que s'està tractant, ja que el pH habitual del pernil cuit està al voltant del 6,0 (Marcos, 2007).

Referent als resultats que es mostren a la taula 4.6, una de les diferències més interessants d'apreciar és l'augment significatiu ($P < 0,05$) del contingut en proteïnes del pernil elaborat amb plasma ultrafiltrat respecte el pernil control. Concretament un augment de més de 2 punts de mitjana. Això és degut a l'aportació extra de proteïnes per part del plasma concentrat, que s'afegeixen a les que la carn del pernil ja té de forma natural. Aquest és un punt a explotar de cara a una possible sortida al mercat, perquè es tracta de proteïna afegida d'origen carni.

Taula 4.6. Resultats de les anàlisis físico-químiques (proteïna, cendres, i fosfats) realitzades als pernills control i als elaborats amb plasma. Es mostren els valors de la mitjana \pm desviació estàndard ($n=3$). Les lletres diferents mostren diferències significatives entre tractaments ($P < 0,05$).

	Proteïnes (%)	Cendres (%)	Fosfats (mg/100g pernil)
Pernil control	17,72 \pm 1,29a	2,98 \pm 0,22a	322,13 \pm 47,77a
Pernil amb plasma	19,86 \pm 1,40b	3,17 \pm 0,12a	406,61 \pm 83,60a

El contingut en cendres és més elevat en el pernil elaborat amb plasma, però sense diferències significatives respecte al control.

Tampoc hi ha diferències significatives pel què fa a la concentració de fosfats del pernil control i del pernil elaborat amb plasma tot i que l'empresa que proporciona la sang n'afegia com a anticoagulant.

Anteriorment, s'havien realitzat diversos estudis com els d'Hurtado et. al. (2011) i (2012). En el primer es va utilitzar el plasma per substituir els fosfats i el caseïnat de la fórmula de producció de salsitxes tipus frankfurt, un producte semblant al pernil cuit; i en el segon només es van substituir els polifosfats. Els resultats obtinguts, tot i tractar-se de productes diferents, són semblants ja que tant en la humitat com en el contingut en cendres els resultats obtinguts de la caracterització de la mostra elaborada amb plasma són inferiors al control. I el contingut en proteïnes augmenta degut a l'addició de les que el plasma sanguini aporta al producte original.

Tanmateix, les variacions observades no són les mateixes, ja que per exemple, el pernil cuït és un producte amb una humitat més alta que no pas la salsitxa de tipus frankfurt.

4.4.2 Paràmetres CIE L*a*b* del color

A la taula 4.7 es mostra la variació del color dels pernills amb plasma respecte dels controls.

Taula 4.7. Valors dels paràmetres CIE L*a*b* del color dels pernills cuïts control i dels elaborats amb plasma. Es mostren els valors de la mitjana \pm desviació estàndard (n=3). Les lletres diferents mostren diferències significatives entre tractaments ($P<0,05$).

	Valor L* (lluminositat)	a* (vermell)	b* (groc)	Croma (C*) (saturació)
Pernil control	64,31 \pm 2,87a	+12,91 \pm 1,60a	+5,62 \pm 0,71a	171,85 \pm 39,99a
Pernil amb plasma	63,01 \pm 4,55a	+14,32 \pm 2,34a	+7,31 \pm 0,44b	216,55 \pm 60,25b

El paràmetre L*, la lluminositat, es redueix una mica en el cas de les mostres amb plasma però no de forma significativa.

El valor de la coordenada a*, associada al color vermell si els valors són positius (de 0 a +60), tampoc augmenta de forma significativa, però la mitjana és superior en el cas del pernil amb plasma. A la figura 4.4 es pot observar que el pernil elaborat amb plasma ultrafiltrat presenta una coloració rosada més intensa que en el cas del pernil control. Aquesta petita diferència és deguda a l'addició del plasma, que potencia aquest color ja que encara que se n'hagi separat la fracció cel·lular, el plasma sanguini obtingut no és totalment transparent, sinó que té un color rosat degut al contingut residual d'hemoglobina (pigment vermell de la sang) que ha restat al plasma.



Figura 4.4. Imatge de pernil elaborat amb plasma concentrat per ultrafiltració tangencial (esquerra) i de pernil control (dreta) obtinguts en aquest treball.

També es pot observar que en el cas del paràmetre b^* , associat al color groc quan els valors són positius (de 0 a +60), aquest és significativament superior ($P < 0,05$) en el cas del pernil amb plasma. Aquesta diferència voldria dir que el pernil amb plasma tindria un color més groguenc que el control, tot i que a simple vista no s'apreciava aquesta característica.

Pel que fa al cromà, també s'aprecia una diferència significativa ($P < 0,05$) entre els dos tipus de pernil. Els resultats indiquen que els pernills elaborats amb plasma presenta un color vermellós més saturat i intens que els pernills control. Una diferència que s'aprecia a simple vista si s'observa la figura 4.4.

En estudis anteriors, com els d'Hurtado et. al. (2011) o Parés et. al. (2012), també es va mesurar el color dels productes finals obtinguts. Els resultats són semblants als obtinguts en la mesura del color del pernil cuit, ja que en els productes fabricats amb plasma el paràmetre L^* disminueix, mentre que els paràmetres a^* i b^* augmenten respecte el control. Això significa una lluminositat o brillantor inferiors i unes tonalitats vermella i groga una mica més intenses. Aquestes variacions són naturals a causa de la coloració rosada del plasma ultrafiltrat.

4.4.3 Anàlisi del perfil de textura (TPA)

A la Taula 4.8 es presenten els resultats dels paràmetres obtinguts en les anàlisis del perfil de textura (TPA) dels dos tipus de pernils avaluats.

Taula 4.8. Resultats de l'anàlisi TPA realitzat als pernils control i als elaborats amb plasma. Es mostren els valors de la mitjana \pm desviació estàndard (n=3). Les lletres diferents mostren diferències significatives entre tractaments ($P < 0,05$).

	Duresa (N)	Elasticitat (cm)	Cohesivitat	Adhesivitat (N·s)	Masticabilitat (N)
Pnrl control	3934,07 \pm 844,44a	1,25 \pm 0,04a	0,56 \pm 0,04a	-5,13 \pm 3,01a	2787,07 \pm 700,05a
Pnrl amb plasma	3876,14 \pm 1378,75a	1,40 \pm 0,04a	0,58 \pm 0,02a	-5,62 \pm 2,30a	3152,19 \pm 1151,96a

En tots aquests paràmetres avaluats no es van trobar diferències significatives entre els dos tipus de pnil segons el test Student ($P > 0,05$). Tanmateix, els resultats dels paràmetres del TPA presenten una elevada variabilitat entre repeticions. La desviació estàndard dels valors de duresa, adhesivitat i masticabilitat són força altes.

4.5 Anàlisi sensorial

4.5.1 Resultats de l'anàlisi microbiològica dels pernils cuits

Abans de dur a terme les probes sensorials, i per tal d'assegurar que els pernils que provarien els consumidors tenien una garantia sanitària, es va realitzar una anàlisi microbiològica dels pernils que s'havien fabricat en condicions higièniques, especialment per aquesta prova. Els resultats del recompte de bacteris aeròbics mesòfils viables es mostren a la Taula 4.9.

Es van obtenir uns recomptes de l'ordre de 10^2 , inferiors als màxims que estableix el Reial Decret 3484/2000, pel qual s'estableixen les normes d'higiene per a l'elaboració, la distribució i el comerç de menjars preparats (BOE núm. 11, 2001) i, per tant, eren productes aptes per al consum humà.

Taula 4.9. Recomptes de microorganismes aerobis mesòfils totals en els dos tipus de pernil elaborats per fer el tast d'acceptabilitat.

	Aerobis mesòfils totals (ufc/g)
Pernil control	$1,6 \cdot 10^2$
Pernil amb plasma UF	$1,5 \cdot 10^2$

4.5.2 Tast d'acceptabilitat

Finalment, es va dur a terme una prova sensorial per avaluar la possible acceptabilitat mitjançant un panell de consumidors no ensinistrat. Aquest constava de 23 persones de diferents sexes i edats als quals se'ls va donar una mostra del pernil control i una del pernil amb plasma sense indicar-los quin era cadascun.

Els consumidors van determinar si les característiques dels productes a degustar agradaven: gens, poc, ni sí ni no, força o molt; segons el qüestionari que es mostra a la taula 7.4 de l'Annex.

Es van obtenir els resultats que es comenten a continuació. En el tast d'acceptabilitat va obtenir els resultats que es mostren a la Figura 4.5.

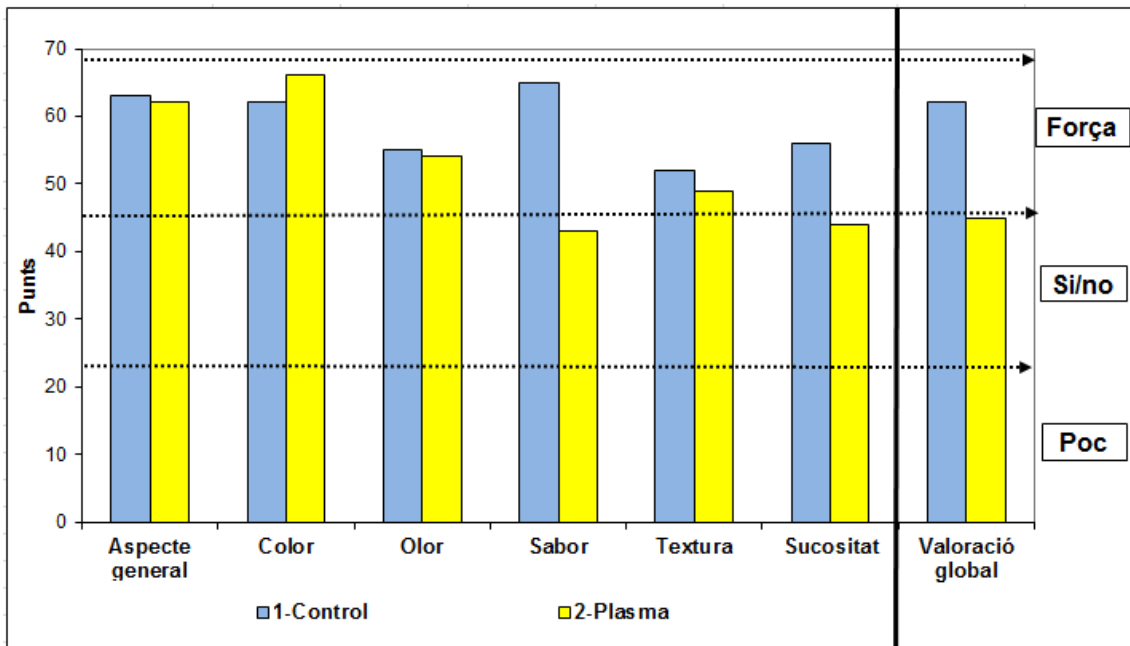


Figura 4.5. Resultats del tast d'acceptabilitat segons el panell de consumidors no ensinistrat.

Com es pot observar, en general les puntuacions obtingudes en les diferents característiques tant del pernil control com del pernil amb plasma ultrafiltrat (PPU) es poden considerar satisfactòries. El pernil control té totes les valoracions força elevades i el PPU només el supera en el cas del color, perquè presentava una coloració rosada lleugerament més intensa per la presència del plasma a la fórmula d'elaboració, tal com s'ha comentat en l'apartat 4.4.2 sobre els resultats dels paràmetres CIE $L^*a^*b^*$ del color dels 2 tipus de pernills. Els consumidors no només no van considerar això com un desavantatge respecte al pernil control, sinó que van puntuar-ho de forma clarament superior.

Les valoracions dels altres paràmetres del PPU també són força elevades excepte en el cas del sabor i la sucositat. Pel que fa a la menor puntuació obtinguda en els pernills amb plasma respecte als control en el paràmetre "sabor (gust)", es pot explicar a causa d'una major intensitat de flavor "de porc" (animal) que comporta l'addició del plasma. Aquesta major intensitat de flavor animal també s'ha observat en altres estudis sobre l'addició de plasma a productes carnis realitzats anteriorment pel grup de recerca (Hurtado *et al.*, 2012; Parés *et al.*, 2012).

En el cas de la sucositat, aquest resultat està relacionat amb els resultats de les minves degudes al tractament de cocció que, tal i com es mostra a la Taula 4.4 de l'apartat 4.4.1, en el cas del pernil amb plasma van ser significativament superiors a les del control. Tanmateix, la valoració global dels pernills amb plasma per part del panell de consumidors se situa a la banda més alta dels puntuats com a “Ni sí ni no”.

Les valoracions dels altres paràmetres, com l'aspecte general, la textura o la olor, són molt semblants en tots dos casos i es poden considerar com a resultats positius.

Per últim, referent a la pregunta sobre si comprarien o no els pernills en el cas que estiguessin a la venda, el sabor i la sucositat són els paràmetres que van variar més segons el criteri dels consumidors i són també els que van repercutir en el resultat més negatiu del pernil elaborat amb plasma respecte al control tal i com es pot observar tant a la valoració global de la figura 4.5 com en els resultats de la pregunta de si el comprarien o no, que es mostren a la figura 4.6.

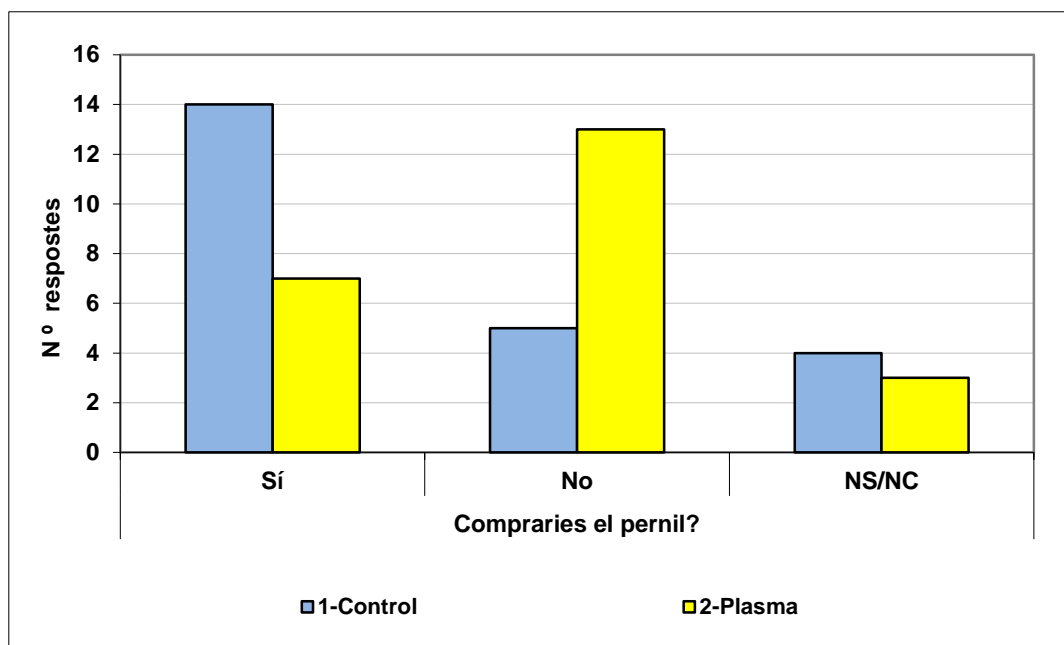


Figura 4.6. Resultats del tast d'acceptabilitat pel que fa a si comprarien el producte segons el panell de consumidors no ensinistrat.

Com es pot veure, el pernil control va tenir més èxit entre els consumidors ja que 14 de 23 (un 61% aproximadament) van declarar que el comprarien i només a 5 (un 22% aproximadament) no els va agradar.

Pel què fa als resultats del pernil elaborat amb plasma ultrafiltrat, només 7 consumidors dels 23 que conformaven el panell van dir que el comprarien (un 30% aproximadament).

Malgrat que és un resultat negatiu respecte al control, aquest percentatge és prou bo per a un producte nou, i tot i que aquest tast no és suficientment representatiu per decidir si seria apte o no per a la sortida al mercat, mostra que podria tenir compradors i que, per tant, seria una possible sortida per a la sang obtinguda a empreses com els escorxadors que convindria estudiar amb més profunditat de cares a una possible aplicació a nivell industrial.

Caldria dur a terme més estudis per millorar la formulació dels productes elaborats amb plasma per disminuir tant les pèrdues d'aigua durant la cocció com la presència del flavor animal.

5. CONCLUSIONS

5. CONCLUSIONS

1. El plasma de sang de porc s'ha concentrat per ultrafiltració tangencial fins al 50%, mitjançant un equip de planta pilot de filtració per membrana amb una membrana de 30 kDa de pes molecular de tall.
2. El procés de concentració per ultrafiltració tangencial comporta un augment significatiu del contingut en proteïna del plasma ultrafiltrat respecte al control. A més, també s'han observat diferències significatives en la humitat i les cendres entre els dos tipus de mostres, degut a que les sals i part de l'aigua passen al permeat. No s'han observat diferències ni en el contingut en fosfats ni en el contingut en ferro.
3. Els recomptes d'aerobis mesòfils del plasma control i ultrafiltrat han estat de 5,3 i 5,7 log (ufc/mL), respectivament. El procés de concentració per ultrafiltració no produeix un increment significatiu de la contaminació microbiològica del plasma, si els valors s'expressen sobre l'extracte sec.
4. La letalitat acumulada del procés de cocció dels pernils sobrepassa un tractament de P_{70} de 2,04 minuts, que s'estableix com a un tractament de referència per la pasteurització de productes carnis cuits.
5. S'han elaborats pernils cuits utilitzant plasma porcí concentrat com a substitut de l'aigua i els polifosfats en la salmorra. S'han obtingut diferències significatives en aspectes com les pèrdues degudes al procés de cocció i al contingut en proteïna, degudes a la presència de plasma ultrafiltrat. També han augmentat significativament els paràmetres b^* i C^* del color, donant un color rosat més intens en els pernils amb plasma.
6. El tast d'acceptabilitat ha revelat que aproximadament un 30% dels consumidors que el van realitzar comprarien el pernil elaborat amb plasma ultrafiltrat. Del pernil elaborat amb plasma s'han valorat positivament el color, l'aspecte general, i l'olor, mentre que els aspectes amb una valoració més negativa respecte als controls han estat el sabor i la sucositat.

6. BIBLIOGRAFIA

6. BIBLIOGRAFIA

Alais, C. i Linden, G. 1990. *Bioquímica de los alimentos*. Editorial Mansson S.A. (Barcelona) Espanya.

Álvarez, C.; Bances, M.; Rendueles, M.; Díaz, M. 2009. Functional properties of isolated porcine blood proteins. *International Journal of Food Science and Technology*, 44: 807-814.

AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis of AOAC International* (16th ed.), Arlington, VA, Washington DC 1141 pp.

BOE. Reglament (CE) N° 1069/2009 del Parlament Europeu i del Consell de 21 d'octubre de 2009, per el que s'estableixen les normes sanitàries als subproductes animals i els productes derivats no destinats al consum humà i pel que es deroga el Reglament (CE) N° 1774/2002 (Reglament sobre els subproductes animals). (BOE [en línia], núm. 300, 14-11-2009, pàg. 1-33). Accessible a: <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-2009-82155> [Consulta: 22 novembre 2015].

BOE. Reglament (UE) N° 142/2011 de la Comissió, de 25 de febrer de 2011, per el que s'estableixen les disposicions d'aplicació del Reglament (CE) N° 1069/2009 del Parlament Europeu i del Consell per el que s'estableixen les normes sanitàries aplicables als subproductes animals i els productes derivats no destinats al consum humà, i la Directiva 97/78/CE del Consell pel què fa a determinades mostres i unitats exemptes dels controls veterinaris a la frontera en virtut de la mateixa. (BOE [en línia], núm. 54, 25-02-2011, pàg. 1-254). Accessible a: <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-2011-80346> [Consulta: 22 novembre 2015].

BOE. Real Decret 142/2002, de l'1 de febrer, pel que s'aprova la llista positiva d'additius diferents de colorants i edulcorants pel seu ús en l'elaboració de productes alimentaris, així com les seves condicions d'utilització. (BOE [en línia], núm. 44, 20-2-2002). Accessible a: <https://www.boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-2002-3366> [Consulta: 15 març 2016]

BOE. Real Decret 474/2014, 2/2008, de 13 de juny, pel que s'aprova la norma de qualitat dels derivats carnis. (BOE [en línia], núm. 147, 18-6-2014, pàg. 46058-46078). Accessible a: https://www.boe.es/diario_boe/txt.php?id=BOE-A-2014-6435 [Consulta: 14 març 2016].

BOE. Real Decret 3484/2000, de 29 de desembre, per el que s'estableixen, les normes d'higiene, per l'elaboració, distribució i comerç de menjars preparats. (BOE. [en línia], núm. 11, 12-01-2001, pàg. 1435-1441). Accessible a: https://www.boe.es/diario_boe/txt.php?id=BOE-A-2001-809 [Consulta: 15 març 2016].

Booren, A.M.; Weiss, G.M. 1988. Lean skeletal meat trimmings incidental to slaughter. A: Pearson, A. M.; Dutson, T. R. Ed. Edible meat by-products. Advanced in meat research. Vol. 5. Elsevier Science Publishers Ltd. London-New York. 219-230.

Casals, A. 2011. Obtenció i caracterització físico-química de sèrum de sang porcina. Treball de final de carrera. Departament d'Enginyeria Química, Agrària i Tecnologia Agroalimentària, Universitat de Girona.

Dàvila, E.; Saguer, E.; Toldrà, M.; Carretero, C.; Parés, D. 2006. Preservation of porcine blood quality by means of lactic acid bacteria. *Meat Science*, 73: 386-393.

Departament d'Agricultura, Ramaderia, Pesca i Alimentació. 2014. Informe anual del sector porcí 2014 [en línia]. Accessible a: http://agricultura.gencat.cat/web/.content/de_departament/de02_estadistiques_observatoris/08_observatoris_sectorials/04_observatori_porci/informes_anuals/fitxers_estatics/CAT_Informe-sector-porci-2014_GGP_UdL_2.11.15.pdf [Consulta 15/5/2016]

Freixanet, L. Aditivos e ingredientes en la fabricación de productos cárnicos cocidos de músculo entero. *Metalquimia Artículos tecnológicos*. Metalquimia, S.A. pp. 34-49.

Grèbol, N.; Fauquet, A.; Aymerich, T.; Bover-Cid, S.; Garriga, M. 2013. Control del proceso de elaboración de productos cárnicos cocidos. Manual de seguridad alimentaria del sector cárnico porcino: como gestionar los principales peligros. INNOVAC. [en línia] Accessible a: https://www.gencat.cat/salut/acsa/html/es/dir3509/05_control_carn_coc.pdf [Consulta: 28/3/2016]

Hsieh, Y.-H.P., Ofori, J.A. 2011. Food-Grade Proteins from Animal By-Products: Their Usage and Detection Methods. Handbook of Analysis of Edible Animal By-Products. Eds. Nollet, L., Toldrà, F. CRC Press, New York.

Hurtado, S.; Dagà, I.; Espigulé, E.; Parés, D.; Saguer, E.; Toldrà, M.; Carretero, C. 2011. Use of porcine blood plasma in “phosphate-free frankfurters”. *Procedia Food Science*, 1: 477-482.

Hurtado, S.; Saguer, E.; Toldrà, M.; Parés, D.; Carretero, C. 2012. Porcine plasma as polyphosphate and caseinate replacer in frankfurters. *Meat Science*, 90: 624-628.

MAGRAMA. 2014. Caracterización del sector porcino español. Año 2014. [en línea]. Accessible a: http://www.magrama.gob.es/es/ganaderia/temas/produccion-y-mercados-ganaderos/caracterizaciondelsectorporcinoespanol2014_tcm7-379599.pdf [Consulta 15/5/2016]

Marcos, B. 2007. Mejora de la seguridad alimentaria en productos cárnicos listos para el consumo mediante la aplicación combinada de tecnologías de conservación emergentes. Tesis Doctoral. Universitat de Girona.

Martínez, A. 2011. Filtración tangencial por tecnología de membranas. [en línea] Accessible a: http://www.anfaco.es/fotos/biblioteca/docs/congresos/secado2011_1.pdf [Consulta: 3/10/2015]

Ockerman, H.W., Hansen, C. L. 2000. Animal by-product processing and utilization. Technomic Publishing company Inc., USA.

Ofori, J.A., Hsieh, Y.-H.P. 2012. The Use of Blood and Derived Products as Food Additives. A: El-Samragy, Y. (Ed.). Food Additive. InTech Publisher. 268 pp. Disponible a: <http://www.intechopen.com/books/food-additive/the-use-of-blood-and-derived-products-as-food-additives>

Parés, D.; Saguer, E.; Pap, N.; Toldrà, M. Carretero, C. 2012. Low-salt porcine serum concentrate as functional ingredient in frankfurters. *Meat Science*, 92: 151-156. Parés, D.; Toldrà, M.; Saguer, E.; Carretero, C. 2014. Scale-up of the process to obtain functional ingredients based in plasma protein concentrates from porcine blood. *Meat Science* 96: 304-310.

Rangel, L.; Archile, A.; Castejón, O.; Izquierdo, P.; Márquez, E. 1995. Utilización de tripolofosfato como anticoagulante y su efecto sobre las propiedades emulsificantes del plasma. *FCV-LUZ*, 2: 111-116.

Ranken, M.D. 1980. *Applications of Blood Proteins*. A: Grant, R.A. (ed.). Applied Protein Chemistry. Applied Science Publishers Ltd., London. pp. 169-180.

Ranken, M.D. 2003. *Manual de industrias de la carne*. AMV Ediciones. Madrid.

Raventós, M. 2003. *Indústria alimentària. Tecnologies emergents*. Edicions UPC. Barcelona.

Saguer, E.; Carretero, C.; Parés, D.; Toldrà, M. 2015. El plasma de sang de porc, un subproducte amb aplicacions al sector carni. [en línia] Accessible a: <https://www.carndeporc.cat/print/915> [Consulta 2/2/2016]

Saguer, E.; Dàvila, E.; Toldrà, M.; Fort, N.; Baixas, S.; Carretero, C.; Parés, D. 2007. Effectiveness of high pressure processing on the hygienic and technological quality of porcine plasma from biopreserved blood. *Meat Science*, 76: 189-193.

Toldrà, M., Parés, D., Saguer, E., Carretero, C. 2011. Hemoglobin hydrolysates from porcine blood obtained through enzymatic hydrolysis assisted by high hydrostatic pressure processing. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12 (4): 435–442.

7. ANNEX

7. ANNEX

Taula 7.1. Resultats de l'anàlisi T-Test (t-Student) sobre l'efecte del tractament d'ultrafiltració sobre el contingut en humitat, proteïna, les cendres, els recomptes de microorganismes aerobis mesòfils totals sobre extracte humit i sobre extracte sec, sobre el contingut en fosfats i sobre el contingut en ferro del plasma de sang de porc (Ct: plasma control; UF: plasma ultrafiltrat).

		t	df	Significació
Parella 1	HumitatCt-HumitatUF	17,975	2	0,003
Parella 2	ProteïnaCt-ProteïnaUF	-13,810	2	0,005
Parella 3	CendresCt-CendresUF	5,261	2	0,034
Parella 4	MicroCt-MicroUF	-4,629	2	0,044
Parella 5	MicroCt_ES-MicroUF_ES	-2,799	2	0,107
Parella 6	FosfatsCt-FosfatsES	-0,314	2	0,783
Parella 7	FerroCt-FerroES	-1,392	2	0,299

Taula 7.2. Resultats de l'anàlisi T-Test (t-Student) per l'efecte de la substitució dels polifosfats per plasma concentrat per UF en l'obtenció de pernil cuit sobre les pèrdues per cocció, el pH, el color (L*a*b*), el croma (C), l'activitat d'aigua, la humitat, el contingut en proteïna, les cendres, la duresa, l'adhesivitat, la cohesivitat, l'elasticitat, la masticabilitat, la CRA i el contingut en fosfats dels pernills. (Ct: plasma control; UF: plasma ultrafiltrat).

		t	df	Significació
Parella 1	MinvesCt-MinvesUF	-8,214	2	0,015
Parella 2	pH_Ct-pH_UF	-0,468	2	0,686
Parella 3	L_Ct-L_UF	-0,927	2	0,452
Parella 4	a_Ct-a_uf	-2,804	2	0,107
Parella 5	b_Ct-b_UF	-6,821	2	0,021
Parella 6	C_Ct-C_UF	-5,048	2	0,037
Parella 7	aw_Ct-aw_UF	-0,621	2	0,598
Parella 8	HumitatCt-HumitatUF	1,235	2	0,342
Parella 9	ProteïnaCt-ProteïnaUF	-12,914	2	0,006
Parella 10	CendresCt-CendresUF	-1,030	2	0,411
Parella 11	DuresaCt-DuresaUF	0,158	2	0,889
Parella 12	AdhesivitatCt-AdhesivitatUF	1,185	2	0,358
Parella 13	CohesivitatCt-CohesivitatUF	-0,714	2	0,549
Parella 14	ElasticitatCt-ElasticitatUF	-4,271	2	0,051
Parella 15	MasticabilitatCt-MasticabilitatUF	-1,122	2	0,379
Parella 16	CRA_Ct-CRA_UF	2,904	2	0,101
Parella 17	FosfatsCt_FosfatsUF	-4,052	2	0,056

Taula 7.3. Registre de la temperatura al centre del pernil durant el procés de cocció i càlcul de la letalitat durant el procés i la letalitat acumulada amb el càlcul del valor P_{70} per a cada repetició.

Repetició 1			Repetició 2			Repetició 3		
Temps (min)	Temperatura (°C)	Letalitat (min)	Temps (min)	Temperatura (°C)	Letalitat (min)	Temps (min)	Temperatura (°C)	Letalitat (min)
0	17	---	0	16	---	0	17	---
2	19	3,17E-07	2	18	2,33E-07	2	19	3,17E-07
4	21	5,86E-07	4	20	4,31E-07	4	21	5,86E-07
6	23	1,08E-06	6	23	1,08E-06	6	24	1,47E-06
8	26	2,72E-06	8	25	2,00E-06	8	26	2,72E-06
10	29	6,83E-06	10	27	3,70E-06	10	29	6,83E-06
12	32	1,72E-05	12	30	9,28E-06	12	31	1,26E-05
14	35	4,31E-05	14	33	2,33E-05	14	34	3,17E-05
16	38	1,08E-04	16	36	5,86E-05	16	37	7,96E-05
18	42	3,70E-04	18	39	1,47E-04	18	40	2,00E-04
20	45	9,28E-04	20	42	3,70E-04	20	43	5,02E-04
22	48	2,33E-03	22	45	9,28E-04	22	46	1,26E-03
24	51	5,86E-03	24	48	2,33E-03	24	49	3,17E-03
26	54	1,47E-02	26	51	5,86E-03	26	52	7,96E-03
28	56	2,72E-02	28	54	1,47E-02	28	55	2,00E-02
30	58	5,02E-02	30	56	2,72E-02	30	58	5,02E-02
32	60	9,28E-02	32	58	5,02E-02	32	60	9,28E-02
34	62	1,72E-01	34	60	9,28E-02	34	62	1,72E-01
36	63	2,33E-01	36	62	1,72E-01	36	64	3,17E-01
38	64	3,17E-01	38	63	2,33E-01	38	65	4,31E-01
40	65	4,31E-01	40	64	3,17E-01	40	66	5,86E-01

Continuació Taula 7.3. Registre de la temperatura al centre durant el procés de cocció dels pernills i càlcul de la letalitat durant el procés i la letalitat acumulada amb el càlcul del valor P_{70} per a cada repetició.

Repetició 1			Repetició 2			Repetició 3		
Temps (min)	Temperatura (°C)	Letalitat (min)	Temps (min)	Temperatura (°C)	Letalitat (min)	Temps (min)	Temperatura (°C)	Letalitat (min)
42	66	5,86E-01	42	65	4,31E-01	42	67	7,96E-01
44	67	7,96E-01	44	66	5,86E-01	44	67	7,96E-01
46	68	1,08E+00	46	67	7,96E-01	46	68	1,08E+00
48	68	1,08E+00	48	68	1,08E+00	48	68	1,08E+00
50	69	5,89E+00	50	68	4,33E+00	50	69	5,89E+00
52	69	1,47E+00	52	69	1,47E+00	52	69	1,47E+00
54	69	1,47E+00	54	69	1,47E+00	54	69	1,47E+00
54,1	70	1,00E-01	55,41	70	1,41E+00	54,64	70	6,40E-01
	Suma P70	9,41		Suma P70	9,25		Suma P70	10,49

Taula 7.4. Exemple del qüestionari que es va entregar al panell de consumidors no ensinistrat per a realitzar l'anàlisi sensorial del pernil control i del pernil elaborat amb plasma concentrat per ultrafiltració tangencial.

Pernil cuit 1					
M'agrada?					
Aspecte general	Gens	Poc	Ni sí ni no	Força	Molt
Color	Gens	Poc	Ni sí ni no	Força	Molt
Olor	Gens	Poc	Ni sí ni no	Força	Molt
Sabor	Gens	Poc	Ni sí ni no	Força	Molt
Textura	Gens	Poc	Ni sí ni no	Força	Molt
Sucositat	Gens	Poc	Ni sí ni no	Força	Molt
Valoració global	Gens	Poc	Ni sí ni no	Força	Molt
Compraria aquest producte?	<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Ns/Nc		

Pernil cuit 2					
M'agrada?					
Aspecte general	Gens	Poc	Ni sí ni no	Força	Molt
Color	Gens	Poc	Ni sí ni no	Força	Molt
Olor	Gens	Poc	Ni sí ni no	Força	Molt
Sabor	Gens	Poc	Ni sí ni no	Força	Molt
Textura	Gens	Poc	Ni sí ni no	Força	Molt
Sucositat	Gens	Poc	Ni sí ni no	Força	Molt
Valoració global	Gens	Poc	Ni sí ni no	Força	Molt
Compraria aquest producte?	<input type="checkbox"/> Sí	<input type="checkbox"/> No	<input type="checkbox"/> Ns/Nc		