

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA
Y ZOOTECNIA

ESPECTROSCOPIA DE REFLECTANCIA EN EL INFRARROJO
CERCANO PARA EVALUAR LA COMPOSICIÓN DE LA CARNE DE
BOVINO DE MÉXICO

TESIS
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

MÉDICA VETERINARIA ZOOTECNISTA

PRESENTA

REYNA PALOMA LEÓN GUZMÁN

TUTOR:
DRA. MARÍA DE LA SALUD RUBIO LOZANO
MC JUAN CARLOS RAMIREZ OREJEL

México, D. F.

2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

DEDICATORIA

A mi familia (papá, mamá, y las niñas) por apoyarme durante todos estos años de estudio, muchas veces por encima de sus posibilidades, haberme dado la formación como persona, guiarme y enseñarme en todo momento, por que lo que soy ahora es en gran parte gracias a ustedes. Los tengo muy presentes y los llevo en mi corazón.

Los amo.....

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar Gracias a Dios, por siempre estar conmigo, dándome esa fuerza interior para llegar a este momento.

Agradezco a todas las personas involucradas en mi formación como profesional, por su confianza y apoyo generoso.

A la Dra. María de la salud Rubio Lozano por darme esta oportunidad, confiar en mí y sobre todo es un verdadero placer trabajar a su lado.

A M.C Juan Carlos Orejel por su aprendizaje aportado, horas de dedicación, y entrega en esta tesis.

Al Ingeniero Luis Soto, por su asesoría constante en el uso del equipo NIR.

A Dr. Enrique Jesús Delgado Suárez por enseñarme su humildad en el ejercicio profesional.

Para Xóchitl Galeno, compañera y colega quien con su ayuda se consolido todo este proyecto.

Para mi amiga Fémina Tec. Laboratorista del Depto. de Bromatología, Toxicología y Nutrición Animal, por guiarme e instruirme en todo este proceso, desinteresadamente, gracias por dejarme aprender de ti.

Al Personal en general del Departamento de Bromatología Toxicología Y Nutrición Animal, le agradezco su hospitalidad brindada durante mi investigación.

CONTENIDO		Página
Capítulo		
1	RESUMEN.....	1
2	INTRODUCCIÓN.....	3
2.1	Revisión bibliográfica.....	6
2.2	Características de la carne.....	6
2.2.1	Valor nutritivo de la carne.....	6
2.2.2	Consumo de la carne en México.....	8
2.2.3	Transformación del músculo a carne.....	10
2.3	Principales componentes de la carne.....	12
2.3.1	El agua en la carne.....	13
2.3.2	Las proteínas en la carne.....	14
2.3.3	La grasa en la carne.....	17
2.3.4	La energía de la carne.....	18
2.3.5	Contenido de cenizas en la carne.....	19
2.4	Métodos oficiales para evaluar la composición química de la carne.....	20
2.5	Espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano.....	22
2.5.1	Antecedente históricos.....	23
2.5.2	Fundamento de la técnica.....	27
2.5.3	Tipos de análisis.....	29
2.5.4	Aplicación de técnica en carnes.....	30
3	MATERIAL Y METODOS.....	34
3.1	Objetivo general.....	34
3.1.1	Ubicación y duración del estudio	34

3.2	Materiales.....	35
3.3	Métodos.....	37
3.3.1	Análisis químico.....	37
3.3.2	Colección de los espectros.....	43
3.3.3	Tratamiento de los datos espectrales.....	45
3.4	Evaluación y selección de las constantes de calibración.....	45
3.5	Ensayo de valoración externa.....	46
3.6	Análisis Estadístico.....	47
4	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	48
4.1	Análisis químico.....	48
4.2	Desarrollo de la calibración para un equipo NIR.....	54
4.2.1	Colección de los espectros.....	54
4.3	Etapa de calibración.....	56
4.4	Valoración externa.....	61
5	CONCLUSIÓN.....	63
6	REFERENCIAS.....	64
7	FIGURAS.....	78
8	CUADROS.....	80

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AOAC: Association of Official Analytical Chemists

AQP: Análisis Químico Proximal

atm: Unidad de presión atmosférica

ATP: Adenosine TriPhosphate

bars: Unidad de presión

°C: Grados Celsius

C (HCL): Concentración de ácido clorhídrico

CEIPSA: Centro de Enseñanza Práctica e Investigación en Producción y Salud
Animal

C-H: Carbono e hidrogeno

CO²: Dióxido de carbono

Ea: Absorción de energía

Eo: Energía incidente

Er: Energía reflejada

Et: Energía transmitida

F-actina: Polímero de actina

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación

g: Gramo

G-actina: Monómero de actina en forma libre

H₂O: Molécula de agua

H₂SO₄: Ácido sulfúrico

HCL: Ácido clorhídrico

hr: Hora

IR: Infrarrojo

J: Joule

Kcal: Kilocaloría

Kj: Kilojoules

LCC: Laboratorio de Ciencias de la Carne

m: Milímetro

Ms: Materia seca

N: Normalidad

%N: Porcentaje de nitrógeno

Na₂SO₄: Sulfato de sodio

NaCl: Cloruro de sodio

NaOH: Hidróxido de sodio

N-H: Nitrógeno e hidrogeno

NH₃: Amoniacó

NH₄Cl: Cloruro de amonio

(NH₄)₂SO₄: Sulfato de Amonio

2NaOH: Hidróxido de sodio

NIR: Near Infrared

nm: Nanómetro

O-H: Oxígeno e hidrogeno

pH: Potencial hidrógeno o nivel de ácidos o bases en una sustancia

(r): coeficiente de correlación

s: segundo

SEC: Error estándar de calibración

S-H: Azufre e hidrogeno

SO₂: Dióxido de azufre

TIF: Tipo Inspección Federal

Tn: Tonelada

UNAM: Universidad Nacional Autónoma de México

VHCL: Volumen de ácido clorhídrico

1. RESUMEN

LEÓN GUZMÁN REYNA PALOMA. Espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano para evaluar la composición de la carne de bovino de México. (Bajo la dirección de: DRA. MARÍA DE LA SALUD RUBIO LOZANO Y MC JUAN CARLOS RAMIREZ OREJEL)

El objetivo del trabajo fue la evaluación de la composición de la carne de bovino de México con un equipo de espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIR), en estado físico congelado y descongelado. Se utilizaron 200 muestras de carne provenientes de Sinaloa, Baja California, Tabasco, Michoacán y Veracruz, recolectadas en rastros TIF. Se cortaron trozos de 2.5 cm del músculo *Longissimus dorsi* a la altura de la 12ava costilla. Estas muestras se molieron y congelaron, hasta los análisis. Cada muestra fue sometida en el laboratorio a análisis de humedad, grasa, proteína, cenizas totales y energía kcal/g. Para la evaluación por el método NIR se colectó la información de las muestras traducidas por el software a gráficos (espectros). El desarrollo de la metodología NIR fue dividido en dos etapas: 1) Etapa de calibración: se usaron las 200 muestras de carne, de las que se obtuvieron resultados con el NIR, los cuales fueron ajustados (eliminación de muestras fuera de lo normal) para ser usados en la siguiente etapa, 2) Etapa de valoración externa en la que se evaluaron 25 muestras. A los resultados se les aplicó un análisis de correlación y regresión lineal. Para la Etapa 1 los resultados en muestra congelada fueron de (r) de 0.64 de humedad, $r=0.69$ grasa, $r=0.70$ proteína, $r=0.13$ cenizas y $r=0.71$ para la energía entre el porcentaje de las muestras medidas en el laboratorio y por el NIR. Con respecto a las

muestras descongeladas se obtuvieron resultados de correlación $r=0.80$, $r=0.78$, $r=0.30$, $r=0.48$ y $r=0.58$ respectivamente a cada componente.

En la etapa de valoración externa los coeficientes del análisis entre laboratorio y método NIR en estado de congelación fue de (r) 0.64 en humedad, para la grasa 0.73, proteína 0.71, cenizas 0.69 y energía 0.93, en estado descongelado fue de $r=0.70$, $r=0.90$, $r=0.55$, $r=0.70$ y $r=0.45$ de acuerdo a cada componente entre el porcentaje de las muestras medidas en el laboratorio y por el NIR

En conclusión el análisis por espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano para determinar la composición de la carne de bovino en México, es un método alternativo que permite hacer la evaluación de manera rápida, y ha demostrado tener una correlación alta y positiva con el método de referencia de manera general, en cuanto a los mejores coeficientes de correlación para cada componente fueron en estado de congelación; proteína, cenizas y energía, en cuanto a la humedad y grasa demostraron ser mejor en estado descongelado.

2 INTRODUCCIÓN

La composición de alimentos es un tema de gran importancia en la actualidad, pues los consumidores se preocupan cada vez más por su salud. Este interés social ha dado lugar al nacimiento de nuevas políticas en diversos países que se traducen en la aparición de normativas y regulaciones que generan nuevos retos comerciales y analíticos para los laboratorios de alimentos¹.

Las estrategias tradicionales para conocer la composición de los alimentos se basan generalmente en el análisis químico, donde se determinan en la muestra uno o varios parámetros para después comparar con los valores establecidos de acuerdo con la procedencia y las normas vigentes.

Los parámetros de los alimentos pueden ser función de muchos factores incluyendo las variables en el proceso de producción².

El análisis químico proximal (AQP) en carne se realiza para conocer: la composición nutricional, valorar la efectividad de la dieta en animales, la investigación genética, reproductiva e incluso conocer los efectos del manejo del animal. Los estudios de AQP se realizan en diversos puntos de la cadena alimenticia, desde la recepción de materias primas hasta el producto terminado. Hoy en día, los estudios de composición de los alimentos son caros y toman largos periodos, por lo que durante la última década, a nivel mundial, se ha implementado el uso de diversas herramientas que permiten en un menor tiempo la obtención de resultados económicamente viables, para la predicción de parámetros analíticos, lo cual agiliza y simplifica el análisis de los alimentos. Un

ejemplo de esta tecnología es la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIR)³.

En la actualidad, la mayoría de los trabajos publicados a nivel mundial sobre el uso de la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano se basan en la determinación de la composición de carne de cerdo y res⁴.

Con el desarrollo y aplicaciones del NIR, basados en el AQP, se pretende crear una colección de datos confiables y seguros para su utilización en el desarrollo de una curva de calibración para un equipo NIR portátil (Marca ZELTEX Modelo ZX-550) y así poder evaluar la composición de la carne producida en México. Después de haber revisado la literatura de la aplicación del NIR en la identificación de parámetros de la calidad de la carne no se encontró información que avale dicha tecnología en México.

Obviamente, si la espectroscopia de infrarrojo cercano pudiera predecir con éxito los componentes químicos de la carne, simplificaría su análisis, además servirá de antecedente para hacer determinaciones de carne posteriormente.

Objetivo General

Evaluar la capacidad de espectroscopia de reflectancia en el Infrarrojo cercano (NIR) para determinar la composición química (humedad, proteína, grasa, cenizas y energía) de carne de bovino mexicana, a partir de muestras del músculo *Longissimus dorsi* (lomo) en estado físico de congelación y descongelado.

Objetivos Específicos

1. Realizar lecturas con el equipo NIR a muestras de carne de bovino.
2. Realizar el análisis químico proximal a las muestras para obtener la base de datos de referencia primaria.
3. Introducir los resultados del AQP al equipo NIR, para que el equipo NIR reconozca los valores con los que se trabajó la primera vez y así poder estimar la composición de la carne de res por este método (Tratamiento de los datos espectrales).
4. Hacer una regresión lineal simple y correlacionar los resultados obtenidos estadísticamente por ambos métodos.

2.1 Revisión bibliográfica

La revisión bibliográfica que se presenta a continuación se ha estructurado en dos apartados. En la primer parte se abordan las características químicas de la carne que más importancia tienen desde el punto de vista del consumidor, así como una descripción de los métodos de análisis convencionales y la segunda parte donde se revisan los trabajos más relevantes de la aplicación de la tecnología NIR en la predicción de dichas características de la carne.

2.2 Características de la carne

2.2.1 Valor nutritivo de la carne

La carne adquiere gran importancia si se considera que el propósito esencial del consumo de carne es el de obtener nutrientes necesarios para las necesidades del organismo, es así como durante los últimos años se ha presentado una continua preocupación e interés por el contenido nutricional de la carne y los productos cárnicos y el papel que juega este alimento en la dieta humana⁵.

Además en la actualidad la carne adquiere no solo un enfoque nutritivo si no también a través de sus características propias se puede evaluar las condiciones higiénico-sanitarias de su producción. El sector industrial está integrado por los rastros o establecimientos de sacrificio, algunos rastros son Tipo Inspección Federal (TIF), municipales o regionales, y empresas dedicadas a la transformación de la carne en otros productos (embutidos, cortes, etc.)⁶.

Existen características que el consumidor distingue de la carne, como la presentación a la venta, color, ausencia de olores, marmoleo y facilidad de preparación, principalmente; sin embargo, existen otros atributos que la diferencian y no pueden ser percibidos a primera vista como:

- Aspectos higiénicos que establecen o no su contaminación bacteriana, residuos de medicamentos y metales pesados, que tienen que ver con los conceptos de seguridad alimentaria y trazabilidad.
- Aspectos sensoriales referidos al color, ternura, jugosidad, sabor y contenido de grasa intramuscular de la carne.
- Calidad nutricional relacionada con la composición y contenido de proteínas, grasas, minerales y vitaminas.
- Aspectos tecnológicos valorados por la capacidad de retención de agua, pH, consistencia de la grasa y madurez de los tejidos.
- Valores éticos relacionados con el método de sacrificio de los animales y aspectos ambientales.

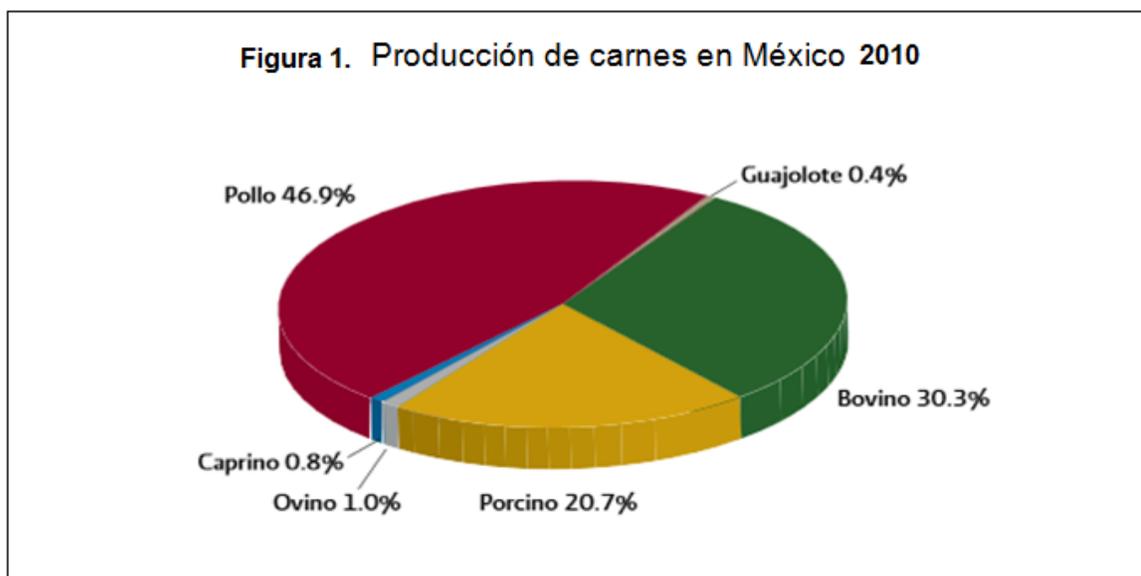
El productor de carne en México tiene una brecha, la cual se convierte en oportunidad de negocio al tomar en cuenta los atributos de la materia prima que requiere el industrial y los aspectos que percibe el consumidor final para mejorar la calidad de la carne en términos redituables.

Lograr alinear a todos los sectores requiere la estandarización y optimización de procesos productivos, en los cuales los resultados analíticos juegan un papel fundamental, desde la cría hasta el consumo de la carne⁷.

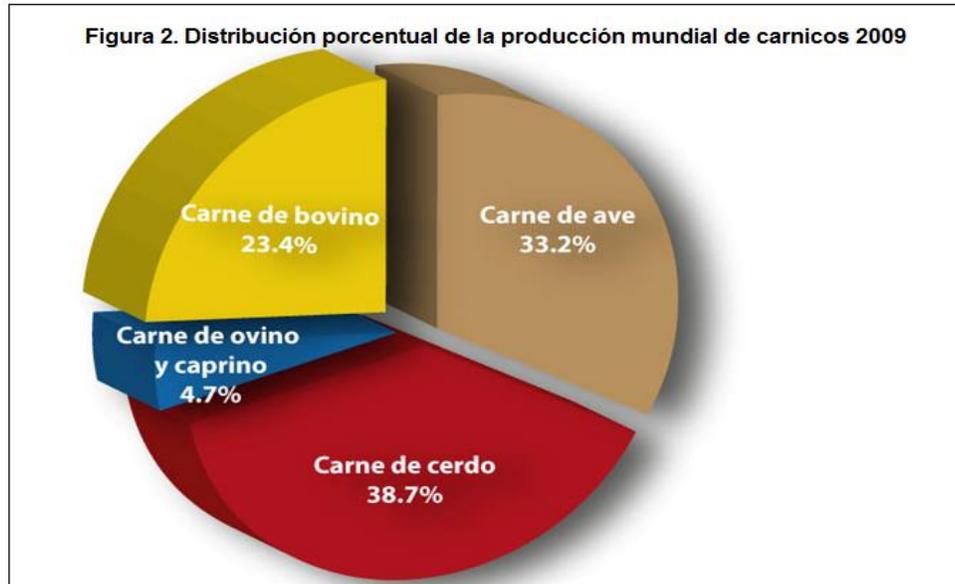
2.2.2 Consumo de carne en México

En México, la importancia de los distintos tipos de carne en el consumo nacional del producto, también se ve reflejado en los consumos per cápita, debido a que estos alcanzan los montos de 29.6 kg de carne de pollo, 16.8 kg de carne de cerdo y 17.6 kg de carne de bovino⁸.

En 2011 México fue el cuarto productor mundial de carne de ave (2.8 millones de toneladas), sexto de carne de bovino (1.8 millones) y décimo séptimo de carne de cerdo (1.2 millones)⁹.



Fuente: SIAP 2010.



Fuente: SIAP 2013.

De acuerdo con la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la alimentación (FAO, 2010), el consumo de carne per cápita a nivel mundial experimentó cambios importantes en las últimas décadas, pasando de una media de 26 kilos en 1970 a 41 kilogramos en los últimos años¹⁰.

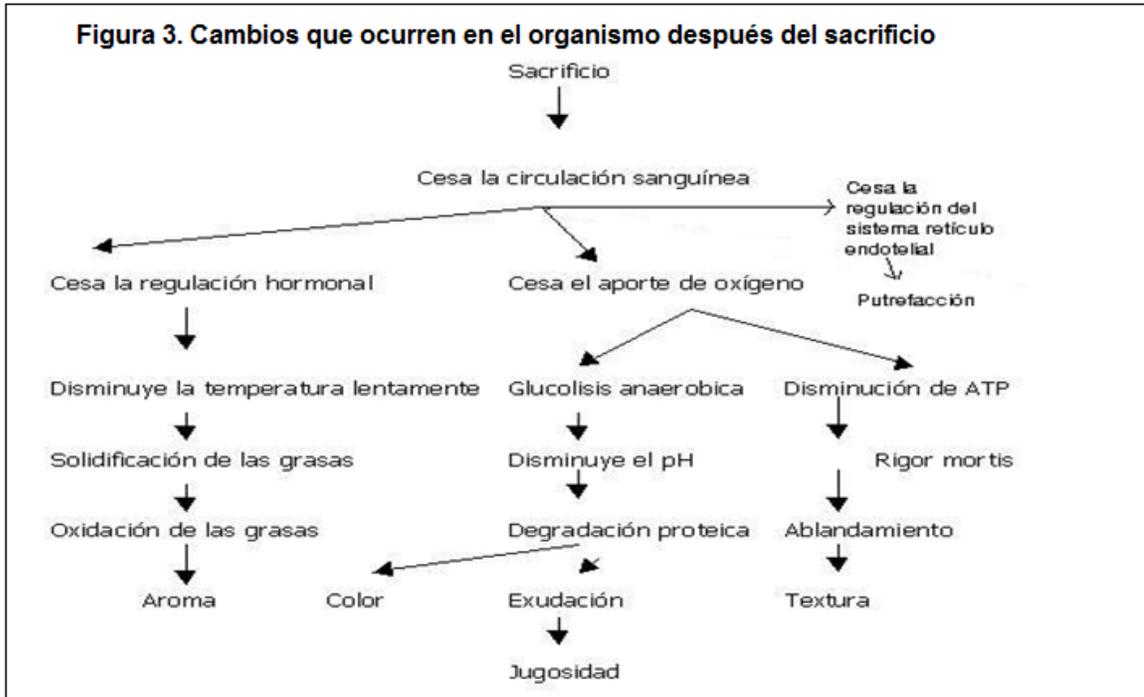
Hoy en día la industria cárnica ha ido evolucionando con técnicas en el procesamiento de los diversos productos que ofrecen, por lo que el volumen total producido en el país de los distintos tipos de carne fue en 2009 de 5,526.809 Tn, la carne de bovino ocupa el 28.0%, la de ave constituye el 41.0%, cerdo integra el 26.5%; en tanto que los otros tipos de carnes (ovino y caprino, principalmente), completan el restante 4.5 por ciento¹¹.

La palabra “carne” puede tener diversos significados según sea su contexto, la real academia de la lengua española la define como la parte muscular del cuerpo de los animales¹², desde un punto de vista bromatológico este concepto es distinto, es un producto que se obtiene cuando, tras el sacrificio, se somete la

canal a un periodo de tiempo en el que tienen lugar los cambios bioquímicos y estructurales necesarios que darán lugar a la transformación del músculo en carne¹³.

2.2.3 Transformación del músculo a carne

El músculo del animal recién sacrificado sufre cambios en las propiedades del tejido debido a procesos físicos, bioquímicos y enzimáticos, durante su almacenamiento. Al momento de la muerte se da el cese del flujo sanguíneo, se comienza en el cuerpo una respiración anaeróbica que trae como consecuencia la disminución de la energía ATP almacenada en el cuerpo y la formación de ácido láctico, causando la disminución del pH. En este proceso las proteínas miofibrilares y sarco-plasmáticas se desnaturalizan en grado mayor o menor. Las proteínas miosina y actina se unen irreversiblemente para formar actimiosina, durante el rigor mortis el complejo Mg-ATP, se degrada permitiendo la unión entre la actina y la miosina, causando el endurecimiento progresivo y la rigidez de los tejidos¹⁴.

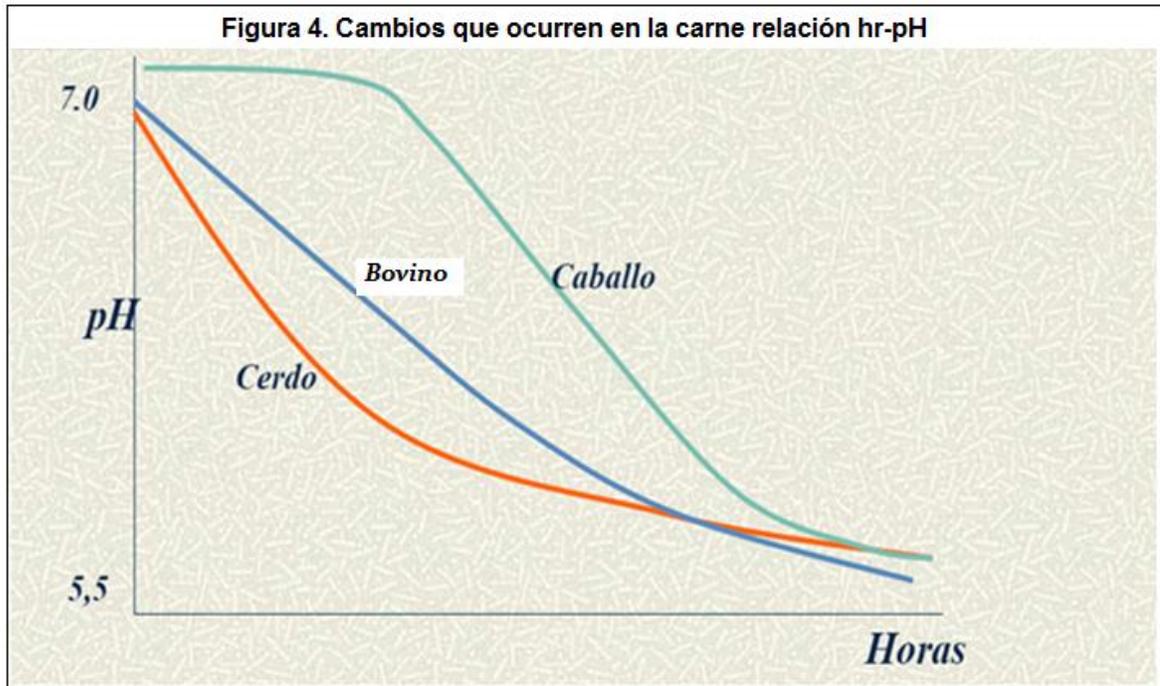


Fuente: <http://www.elergonomista.com/alimentos/carnemaduracion.htm>

El tiempo que dure hasta la implantación del rigor mortis varía según el tamaño del animal, el músculo, y la temperatura. Cuando la carne está a una temperatura de refrigeración el tiempo que alcanza el rigor en pollos es de 2-4 horas, en ternera de 10-14 horas, en cerdos de 4-18 horas¹⁵.

Aproximadamente a las 72 horas después de la muerte, comienza la carne a suavizarse a causa de la debilitación de los enlaces entre miosina y actina como efecto de varios procesos enzimáticos en este tiempo se comienza la maduración en la que se da la disminución de la dureza de la carne y la disminución del pH. También aumenta la capacidad de retención de agua debido a que las proteínas musculares absorben los iones de potasio que desplazan a los iones de calcio,

incrementando la carga eléctrica de las proteínas y la capacidad de retener agua, dando como resultado una carne más jugosa.



Fuente: Vitte Pedrozo 2009.

Después de cierto tiempo de almacenamiento de la carne en las condiciones ideales se obtiene una carne tierna y jugosa, la cual es lista para el consumo¹⁶.

2.3 Principales componentes de la carne

Los principales componentes químicos del músculo animal son agua, grasa, proteína y minerales. En términos generales, la carne de los mamíferos presenta un contenido de agua en torno al 65-80%, de proteína del 16-22%, de grasa intramuscular del 1,5-13,0% y alrededor de un 1,0% de cenizas. El resto lo constituyen carbohidratos, nitrógeno de origen no proteico y compuestos no

nitrogenados que, aunque cuantitativamente tienen poca importancia, son de gran valor desde el punto de vista nutritivo de la carne¹⁷.

En el caso de la carne de bovino los valores oscilan alrededor del 75% de agua, 22% de proteína y 3% de grasa intramuscular sobre una base de materia fresca¹⁸.

Cuadro1. Composición química en porcentaje de la carne

Carne	Humedad	Proteína	Grasa	Minerales	Contenido energético Kcal./100 g
Bovino	76	21	0.7	1.2	96
Tenera	76	21	0.6	1.3	93
Cerdo	75	21	1.9	1.2	108
Cordero	75	19	4.3	1.1	120
Cabra	70	19	7.9	1.0	153
Conejo	69	20	7.6	1.1	155
Pollo	72	20	5.6	1.1	136
Pavo	58	20	20.2	1.0	270
Pato	63	18	17.2	1.0	234

Fuente: Solís Rojas 2005

Para la determinación de estos valores generalmente se utiliza el músculo *Longissimus dorsi* (lomo), ya que éste es un buen indicador de la composición química de los principales músculos de la canal¹⁹.

2.3.1 El Agua en la carne

Todos los alimentos contienen agua en mayor o menor proporción. Las cifras de contenido en agua varían entre un 60 y un 95% en los alimentos naturales²⁰.

El agua es, cuantitativamente, el componente mayoritario de la carne, llegando a representar en carnes magras hasta un 80% del peso de la materia fresca. La proporción en la cual se encuentra el agua en los diferentes músculos va a estar condicionada por la cantidad de grasa intramuscular, ya que se sabe que ambos componentes están inversamente relacionados²¹.

2.3.2 Las proteínas en la carne

Desde el punto de vista químico, la proteína está compuesta por polímeros complejos de aminoácidos, unidos por enlaces peptídicos (uniendo carbono alfa y el nitrógeno del grupo amino), que forman polímeros denominados polipéptidos. Hay proteínas solubles y proteínas insolubles.

El miógeno y la albumina, pertenecen al grupo de solubles, puesto que al mezclarlas con agua se disuelven en esta.

Las insolubles son las proteínas denominadas proteínas estructurales, las cuales son responsables de la forma externa del músculo. Este grupo lo conforman la actina y la miosina.

La miosina es la proteína más abundante en los músculos. Forma el 60% del total de la proteína miofibrilar. Tiene forma de espiral, absorbe agua y forma una sustancia transparente gelatinosa y posee propiedades que permiten su unión con la actina²².

La actina representa el 30% del total de la proteína muscular. Se encuentra en dos formas fisicoquímicas: como monómero en forma libre (G-actina) y como

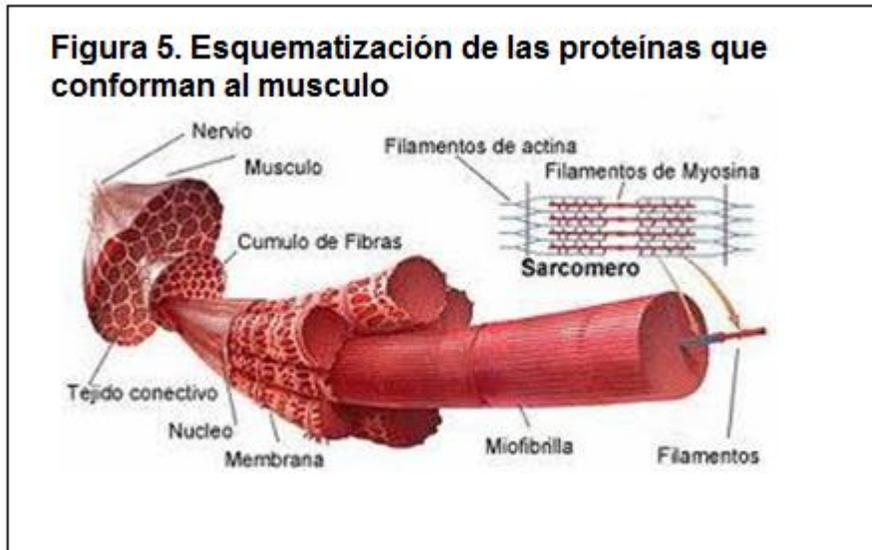
parte de polímeros lineales (F-actina). La G-actina se polimeriza en presencia de ATP y sales para formar F-actina. La F-actina es la que se combina con la miosina para formar la actomiosina en rigor mortis²³.

Las proteínas del sarcoplasma están compuestas por miógeno, globulina, mioglobulina y mioalbúmina.

El miógeno representa una proteína de alto valor nutritivo, debida a que posee todos los aminoácidos esenciales. La mioglobina es soluble en agua y es la que le da el color rojo a los músculos. La molécula mioglobina esta compuesta por cadenas polipeptídicas con una estructura similar a la cilíndrica

La reacción del oxígeno con la mioglobulina da como resultado la oximioglobina, la cual da a la carne un color rojo cereza. Durante una prolongada influencia, bajo el oxígeno del aire o el óxido de nitrógeno, el hierro del grupo "hemo" de la mioglobulina se oxida a hierro trivalente y la mioglobulina se convierte en metamioglobina, la cual tiene un color café.

La envoltura conectiva de las fibras musculares es denominada sarcolema o estroma, esta compuesto por proteínas y lípidos, es elástica y por esto puede sufrir cambios durante la contracción y relajación muscular. En la superficie del sarcolema se encuentran las terminaciones nerviosas²⁴.



Fuente: Biología Médica 2000.

El valor biológico de la proteína cárnica es alto ya que su contenido en aminoácidos esenciales es bueno, los aminoácidos presentes en las proteínas musculares son diversos dentro de los principales están la leucina, lisina y ácido glutámico^{25, 26}.

A continuación se muestran enlistados los aminoácidos presentes en las proteínas.

Cuadro 2. Contenido en porcentaje de los componentes de proteínas musculares

Aminoácido	Miosina	Actina	Miogeno	Mioglobina
Alanina	6	6	8	7
Glicina	1	5	5	5
Valina	2	4	7	4
Leucina-Isoleucina	15	15	11	16
Prolina	2	5	5	3
Fenilalanina	4	5	3	5
Triptófano	1	2	2	2
Cristina	1	1	1	0
Metionina	3	4	1	1
Arginina	7	6	6	2
Histidina	2	3	4	8
Lisina	12	7	10	15
Ácido aspártico	9	11	9	8
Ácido glutámico	22	14	11	16

Fuente: Manev 2000.

2.3.3 La grasa en la carne

El término grasa animal comprende usualmente todos los tipos de lípidos, incluyendo triglicéridos, fosfolípidos, esteroides y ésteres de esteroles y otros lípidos si están presentes.

La grasa es un componente mayoritario y el segundo más variable de la canal de los animales de abasto, superado sólo por el contenido de agua. La grasa es la forma energética más concentrada accesible a la vida animal. Los

lípidos se encuentran en el espacio intermuscular e intramuscular, en el tejido adiposo, en el tejido nervioso y en la sangre²⁷.

Las características de la grasa de la carne son de gran interés desde el punto de vista sanitario, tecnológico y gastronómico²⁸. La fracción lipídica es, generalmente, el componente más variable de la carne ya que su contenido depende de diversos factores, entre los que cabe destacar la raza²⁹, el sexo³⁰, la edad³¹ y el tipo de alimentación³².

Los lípidos, junto con las proteínas y carbohidratos, constituyen los principales componentes estructurales de los alimentos³³.

Los lípidos se definen como un grupo heterogéneo de compuestos que son insolubles en agua pero solubles en disolventes orgánicos tales como éter, cloroformo, benceno o acetona. Todos los lípidos contienen carbón, hidrógeno y oxígeno, y algunos también contienen fósforo y nitrógeno³⁴. Los lípidos comprenden un grupo de sustancias que tienen propiedades comunes y similitudes en la composición, sin embargo algunos, tales como los triacilglicerolos son muy hidrofóbicos. Otros, tales como los di y monoacilglicerolos tienen movilidad hidrofóbica e hidrofílica en su molécula por lo que pueden ser solubles en disolventes relativamente polares³⁵.

2.3.4 La energía de la carne

El aporte energético de la carne está dado por el contenido de lípidos³⁶.

Cuadro 3. Contenido nutricional en 100 g de carne

Fuente	Kcal	Proteína	Carbohidratos	Grasa
Pescado	110	25	0	5
Pollo	97	22	0	1
Cordero	250	30	0	14
Bovino	275	30	0	18

Fuente: Linda Van Horn et al. 2010.

2.3.5 Contenido de cenizas en carne

Las cenizas de un alimento son un término analítico equivalente al residuo inorgánico que queda después de calcinar la materia orgánica. Las cenizas normalmente, no son las mismas sustancias inorgánicas presentes en el alimento original, debido a las pérdidas por volatilización que ocurren cuando la muestra es expuesta a altas temperaturas o a las interacciones químicas entre los constituyentes.

El valor principal de la determinación de cenizas es un método sencillo para determinar la calidad de ciertos alimentos, por ejemplo en las especias y en la gelatina es un inconveniente un alto contenido en cenizas³⁷.

La determinación en seco es el método más común para cuantificar la totalidad de minerales en alimentos y se basa en la descomposición de la materia orgánica quedando solamente materia inorgánica en la muestra, es eficiente ya que determina tanto cenizas solubles en agua, insolubles y solubles en medio ácido. En este método toda la materia orgánica se oxida en ausencia de flama a

una temperatura que fluctúa entre los 550 -600°C; el material inorgánico que no se volatiliza a esta temperatura se conoce como ceniza³⁸.

2.4 Métodos oficiales para evaluar la composición química de la carne

El método convencional mas comúnmente utilizado para determinar la composición de la carne es el Análisis Químico Proximal, el cual se basa en la metodología de la Association of Official Analytical Chemists³⁹.

Cuadro 4. Clasificación de los métodos y condiciones para analizar carne según la AOAC

Referencia AOAC 2005	Describe	Método/condiciones
ID 920.30	Grasa	Soxhlet: 2g en cartucho celulosa, en un medio de disolvente (éter de petróleo), calentado a punto de ebullición, se volatiliza y condensa por 4 hrs.
ID 984.13	Proteína	Kjendahl: 1g en tubo con un catalizador y digestor ácido, calentada por 1 hr, destilación en un equipo especializado y titulación con ácido clorhídrico al 1.0 N.
ID 942.05	Cenizas totales	Mufla: 1g en crisol de porcelana, en un horno mufla a 550°C por 6 hras.

Fuente: AOAC 2005.

El procedimiento de referencia Kjeldahl determina la materia nitrogenada total, que incluye tanto las no proteínas como las proteínas verdaderas⁴⁰.

El método se basa en la determinación de la cantidad de nitrógeno orgánico contenido en productos alimentarios y comprende dos pasos consecutivos:

a) La descomposición de la materia orgánica bajo calentamiento en presencia de ácido sulfúrico concentrado.

b) El registro de la cantidad de amoniaco obtenida de la muestra

Durante el proceso de descomposición ocurre la deshidratación y carbonización de la materia orgánica combinada con la oxidación de carbono a dióxido de carbono. El nitrógeno orgánico es transformado a amoniaco que se retiene en la disolución como sulfato de amonio. La recuperación del nitrógeno y velocidad del proceso pueden ser incrementados adicionando sales que abaten la temperatura de descomposición (sulfato de potasio) o por la adición de oxidantes (peróxido de hidrógeno, tetracloruro o ácido crómico) y por la adición de un catalizador⁴¹.

El método de Kjeldahl consta de las siguientes etapas:

a) Digestión Proteína + H₂SO₄ → CO₂ + (NH₄)₂SO₄ + SO₂

b) Destilación (NH₄)₂SO₄ + 2NaOH → Na₂SO₄ + NH₃ + H₂O

c) Titulación NH₄Cl + HCl + NaOH → NH₄Cl + NaCl + H₂O

En la mezcla de digestión se incluye sulfato sódico para aumentar el punto de ebullición y un catalizador para acelerar la reacción, tal como sulfato de cobre. El amoniaco en el destilado se retiene o bien por un ácido normalizado y se valora por retroceso, o en ácido bórico y valora directamente. El método Kjeldahl no determina, sin embargo, todas las formas de nitrógeno a menos que se modifiquen adecuadamente; esto incluye nitratos y nitritos⁴².

Para convertir el nitrógeno a proteína se emplea el factor de 6.25 el cual proviene de la consideración de que la mayoría de las proteínas tienen una cantidad aproximada de 16% de nitrógeno.

$$\text{Factor} = \frac{100\text{g proteína}}{16\text{ g Nitrógeno}} = 6.25$$

Cuadro 5. Factores de conversión de nitrógeno a proteína en algunos alimentos

Alimento	%N en proteína	Factor
Huevo o carne	16.0	6.25
Leche	15.7	6.38
Trigo	18.76	5.33
Maíz	17.70	5.65
Avena	18.66	5.36
Soya	18.12	5.52
Arroz	19.34	5.17

Fuente: Nielsen 1998

La energía, este parámetro se determina mediante una bomba calorimétrica adiabática (Parr Instrument, Estados Unidos).

Esta metodología en general, requieren demasiado tiempo y gran cantidad de material específico para su determinación, así como reactivos caros y peligrosos algunos de los cuales generan residuos contaminantes que encarecen y complican el proceso^{43, 44, 45}.

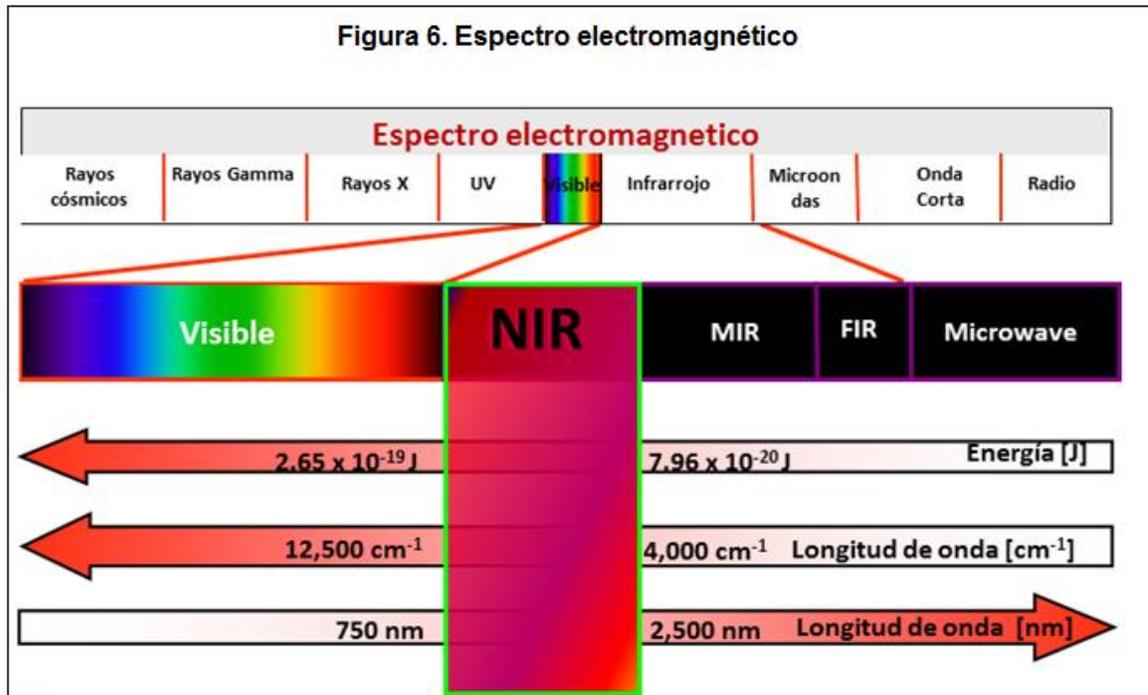
2.5 Espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano

Estas limitaciones hacen necesario desarrollar procedimientos alternativos que puedan ser utilizados de forma rutinaria. En este sentido, la espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano (tecnología NIR) ha demostrado ser un método analítico rápido, confiable y con un bajo costo de mantenimiento.

Además, presenta la posibilidad de realizar simultáneamente varios análisis y con el mínimo tratamiento previo de la muestra⁴⁶. Todo ello ha contribuido a que, durante las dos últimas décadas, su uso se haya extendido en la industria cárnica para el análisis de grasa, agua y proteína⁴⁷. Así, son numerosos los trabajos que demuestran la validez de la tecnología NIR para predecir la composición química de la carne de diferentes especies animales, ya sea en el laboratorio^{48, 49, 50, 51, 52, 53}, o en el propio rastro^{54, 55}.

2.5.1 Antecedentes históricos

La teoría de la espectroscopia de infrarrojo (IR) se conoce desde hace 200 años⁵⁶. La espectroscopia en el infrarrojo cercano es una técnica que forma parte del campo de estudio de la espectroscopia molecular, la cual estudia la interacción de la radiación electromagnética con la materia⁵⁷. De esta forma, el espectro electromagnético resultante, que se define como la representación gráfica de la interacción de la radiación electromagnética con la materia, abarca la energía contenida en fotones (unidades portadoras de radiación) desde longitudes de onda de varios metros de longitud hasta inferiores a los 10⁻² nm. Por esta razón, se divide en diferentes regiones, denominadas regiones espectrales, entre las cuáles se encuentra definido el NIR, como se esquematiza en la Figura 6.



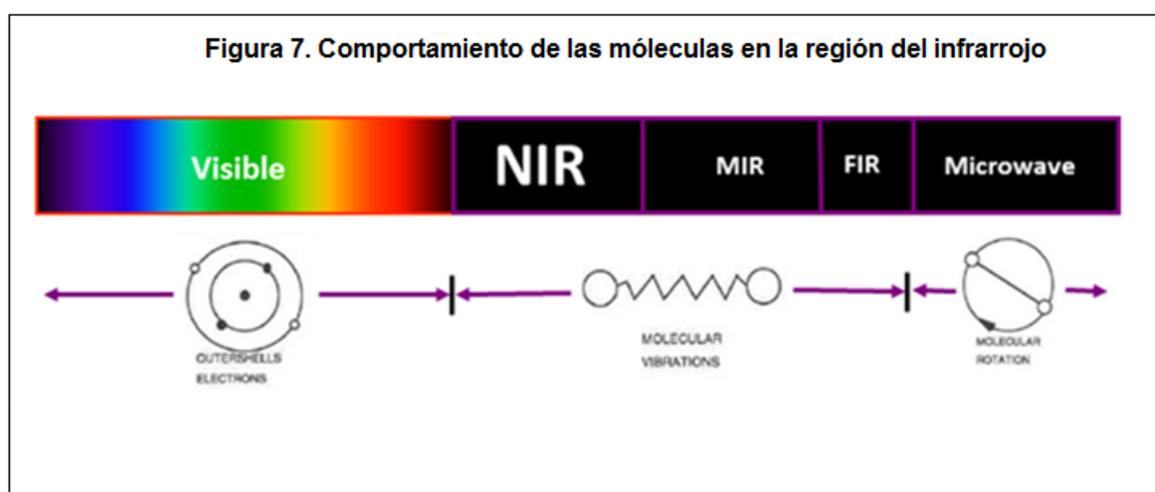
Fuente: Prieto 2006.

Como punto de referencia obligado, el espectro electromagnético global comprende la radiación visible detectable por el ojo humano, aproximadamente entre los 400 y los 750 nm. Las ondas de menor frecuencia y longitud de onda más larga se encuentran situadas a la izquierda (Ondas de radio), mientras que aquellas con la frecuencia más alta y longitud de onda más corta se localizan a la derecha (Rayos Gamma).

En cuanto a la radiación infrarroja se refiere, pueden diferenciarse tres zonas distintas: el infrarrojo cercano, que abarca radiaciones con longitudes de onda comprendidas entre los 750 nm y los 2500 nm; el infrarrojo medio, desde los 2500 a los 50 000 nm; y el infrarrojo lejano, entre los 50 000 nm y 1 mm⁵⁸.

El fundamento de la espectroscopia en el infrarrojo cercano consiste esencialmente en la emisión de un haz de luz monocromática sobre la muestra, la cual, en función de su composición y de la naturaleza de los enlaces presentes en sus moléculas, realizará una absorción selectiva de energía y reflejará otra determinada cantidad, la cual es cuantificada por unos detectores presentes en el instrumento NIR y será utilizada para cuantificar indirectamente la cantidad de energía infrarroja absorbida.

De esta forma, los espectros recogidos en la región infrarroja se representan gráficamente como la energía absorbida en función de la longitud de onda (Figura 7).

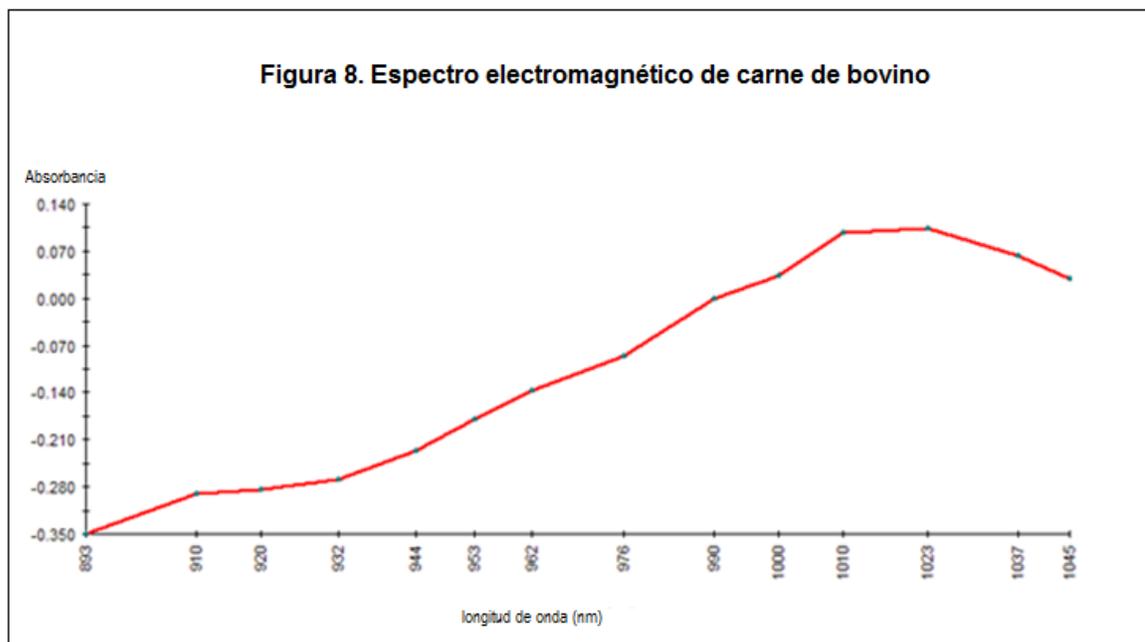


Fuente: Prieto 2006.

A este respecto cabe señalar que sólo las moléculas o parte de moléculas que vibren con una frecuencia similar a la de la energía incidente, absorberán radiación infrarroja, de manera que sus estados vibratorio y rotacional se modifican, teniendo lugar vibraciones de átomos ligeros con fuertes enlaces moleculares. Estas características se corresponden con los grupos funcionales C-

H, O-H y N-H de los compuestos orgánicos que forman parte tanto de los tejidos vegetales como animales^{59, 60} y por esta razón, la espectroscopia NIR está prácticamente orientada a la determinación y cuantificación de los compuestos orgánicos que presentan los grupos funcionales anteriormente descritos; en consecuencia, de los espectros obtenidos en la región infrarroja se puede obtener información sobre la composición química de la muestra analizada⁶¹. Por lo tanto, la relación de la energía absorbida con la composición analítica o características conocidas de las muestras de calibración, permite obtener modelos de predicción para el análisis automático e instantáneo de miles de muestras.

Representación del espectro en NIR, producido por un haz de luz en muestra de carne de bovino.



Fuente: Zeltex ZX-550, 2013.

La espectroscopia cercana infrarroja (NIR) es de tipo vibracional, y en sólidos se llama transmitancia, en polvos reflectancia difusa y en líquidos

trasflectancia⁶². Diversos autores coinciden en que es una buena herramienta para el análisis del control de calidad en diversos puntos de los componentes de la cadena productiva alimenticia^{63, 64}. Ben-Gera y Norris (1968) desarrollaron el primer espectrofotómetro NIR computarizado para el análisis de la carne con fundamentos de matemáticas, estadística y ciencias de la computación⁶⁵.

2.5.2 Fundamento de la técnica

La técnica se basa en que el espectro lumínico cercano al infrarrojo puede proporcionar información acerca de los principales elementos estructurales asociados a las sustancias orgánicas, donde los grupos funcionales que corresponden a este espectro son carbono e hidrógeno (C-H), oxígeno e hidrógeno (O-H), nitrógeno e hidrógeno (N-H) y probablemente azufre e hidrógeno (S-H) y carbono y oxígeno (C=O)^{66, 67, 68, 69, 70}.

En general, el método espectroscópico se basa en la cuantificación de la vibración de las moléculas, a partir de la energía absorbida por ellas y medida por un espectrofotómetro. El valor de la absorción de energía (E_a) se establece mediante la diferencia entre la intensidad de la energía transmitida (E_t) o reflejada (E_r), con la intensidad de energía incidente (E_o)⁷¹.

$$E_o = E_t + E_r + E_a$$

La interacción de la energía con la materia obedece a la ley de Beer-Lambert, que establece que la absorbancia a cualquier longitud de onda es proporcional al número o concentración de moléculas absorbentes presentes en el camino recorrido por la radiación^{72, 73}. Esto determina que para un material de

naturaleza química heterogénea el espectro obtenido en la región NIR sea una combinación de bandas de absorciones parciales sobrepuestas o muy cercanas, que suelen confundirse en una línea suavizada, en que se encuentran picos, valles y curvaturas. Esta técnica permite estimar la composición nutricional de una muestra en base a la relación matemática que se produce entre sus características de reflexión o transmisión de luz infrarroja y los parámetros que se desean predecir. Lo anterior permite llegar a resultados de manera rápida y exacta, siempre que se sigan los procedimientos adecuados y se logre generar calibraciones confiables para desarrollar las ecuaciones de predicción requerida⁷⁴.

Según Garrido *et al.*, (2000), la tecnología NIR tiene muchas ventajas que aconsejan su uso en evaluaciones de todo tipo de productos, aunque también existen algunas desventajas⁷⁵.

Entre las ventajas de la técnica NIR, respecto a los métodos tradicionales de análisis están:

- Rapidez del método, una vez que el instrumento ha sido correctamente calibrado, lo que permite velocidad de respuesta para la toma de decisiones.
- Posibilidad de llevar a cabo varias determinaciones sobre la misma muestra.
- Procedimiento no destructivo, lo que reviste gran importancia, particularmente en el caso de que se disponga de poca cantidad de muestra o ésta sea de alto valor.
- Técnica respetuosa del medio ambiente, ya que no requiere de reactivos al hacer las determinaciones, por lo que no genera ningún tipo de residuos.
- Presenta un bajo costo por muestra.
- Es necesaria una nula o escasa preparación.

- Presenta una precisión próxima a los métodos de referencia y reproducibilidad mejor que la de éstos.

Las principales limitaciones o desventajas, según una encuesta realizada a usuarios e investigadores de la técnica NIR es la dificultad en la calibración de los equipos y su alto costo de inversión en etapas iniciales⁷⁶. Esta técnica como es secundaria, necesita calibración frente al método de referencia y el espectro está influenciado por factores no químicos (temperatura, tamaño de partícula, humedad, etc.)⁷⁷.

2.5.3 Tipos de análisis

Los datos obtenidos con un instrumento NIR, pueden ser utilizados, tanto para el análisis cuantitativo como cualitativo. Garrido *et al.*, (1996) como se indica a continuación:

El análisis cuantitativo, más generalizado, estima la concentración de un componente en una muestra. Para ello se establece la relación, a través de una ecuación de regresión, existente entre los valores de absorbancia en la región NIR y la concentración de dicho componente, determinado mediante un método de referencia, en muestras de composición conocida.

Este proceso se conoce con el nombre de etapa de calibración, a la relación matemática desarrollada se le denomina ecuación de calibración y el grupo de

muestras de composición se designa como set o colectivo de calibración. Una vez establecida la ecuación de calibración, ésta permite predecir el contenido de otras muestras similares en características a las incluidas en el colectivo de calibración^{78, 79}.

El análisis cualitativo NIR, consiste en la comparación de un espectro de un producto desconocido, con una biblioteca espectral o con un espectro estándar, representativo de un determinado producto y del cual se posee información sobre sus atributos. La distancia dimensional, entre el espectro del producto desconocido y la media de los espectros contenidos en la biblioteca, o la existente con respecto al espectro estándar, permite clasificar cualitativamente el espectro del producto desconocido⁸⁰.

2.5.4 Aplicación de la técnica en carnes

La capacidad de la espectroscopia en el infrarrojo cercano para predecir la composición química de la carne ha sido examinada, a lo largo de los últimos años, por numerosos investigadores en diferentes especies de animales. Así, por ejemplo, se han llevado a cabo numerosos estudios en carne de bovino^{81, 82, 83, 84}, ovino⁸⁵, porcino^{86, 87} y carne de pollo^{88, 89, 90, 91}. También se pueden encontrar, aunque en menor medida, trabajos con carne de conejo⁹².

La mayoría de estos estudios han sido encaminados a la predicción de uno o más componentes tales como la proteína, grasa intramuscular y agua (Cozzolino *et al.*, 1996; Tøgersen *et al.*, 1999; Cozzolino *et al.*, 2000).

La suma de estos tres componentes (proteína, grasa intramuscular y agua) en el músculo es bastante constante, generalmente entre el 97 y 99% de la masa muscular. Por tanto, autores como Isaksson⁹³ concluyen que la estimación de cada uno de estos componentes mediante tecnología NIR no es independiente, sino que cada una de las calibraciones tiene en cuenta las relaciones entre ellos. Son varios los trabajos encontrados en la bibliografía revisada que han utilizado con óptimo resultado la tecnología NIR para estimar el contenido de proteína en muestras de carne. Por ejemplo, estudios como el de Masoero *et al.* (1994) comprobaron que los espectros NIR explicaban un 93% de la variabilidad relacionada con este parámetro en muestras de lomo de conejo. Alomar *et al.* (2003) y Calvo *et al.* (1997) también obtuvieron resultados aceptables en muestras de carne de bovino.

Es importante tener en cuenta que la forma de presentación de las muestras influye en la exactitud de las estimaciones obtenidas. Por ejemplo, Isaksson *et al.* (1996) recogieron los espectros NIR con una sonda de fibra óptica en la línea de sacrificio- de muestras de carne de bovino picadas a distintos tamaños (4, 8, 13 y 19 mm de diámetro). Estos autores pudieron comprobar que las mejores predicciones de proteína se obtuvieron cuando las muestras de carne fueron picadas con un tamaño pequeño (4 u 8 mm), ya que eran más homogéneas y esto permitía reducir los errores de muestreo. Existen otros trabajos que evidencian la conveniencia de utilizar muestras de carne picada para estimar el contenido de proteína con respecto a las muestras intactas (Cozzolino *et al.*, 1996; Cozzolino *et al.*, 2000; Cozzolino y Murray, 2002). Según estos autores, esta mejor predicción de los parámetros químicos en las muestras de carne picada

puede deberse a la mayor homogeneidad de las muestras y a la reducción de la dispersión de la luz ocasionada por la superficie de las mismas. Al mismo tiempo es necesario considerar que, en muestras intactas, factores tales como la organización del tejido modifican la absorbancia medida. En este sentido, algunos autores han indicado que se refleja más cantidad de luz cuando las fibras musculares se disponen paralelas a la superficie de la muestra que cuando lo hacen perpendicularmente⁹⁴. Por otro lado, la compresión del tejido a través de la ventana de cuarzo puede deformar los efectos de orientación de la fibra muscular y alterar la penetración de la luz en la muestra. Otros factores como la precipitación de proteínas (en particular de la mioglobina) en el sarcoplasma, las propiedades de reflectancia de la superficie macroscópica del corte de carne y la longitud del sarcómero también afectan la obtención del espectro NIR en muestras de carne intactas.

Otra forma de presentación que parece dar lugar a excelentes resultados en las estimaciones del contenido de proteína en carne es el picado y liofilizado de las muestras⁹⁵.

No obstante, y a pesar de que la forma de presentación fue apropiada en muchos casos (muestras emulsionadas, picadas), el porcentaje de variación explicado por los espectros NIR ha sido inferior al 80% en muchos de los trabajos consultados (Kruggel *et al.*, 1981; Lanza, 1983⁽⁹⁶⁾; Sanderson *et al.*, 1997; Abeni y Bergoglio, 2001; Solís *et al.*, 2001⁽⁹⁷⁾; Tøgersen *et al.*, 2003). Los autores de estos trabajos han atribuido el fracaso de estas predicciones a factores tales como los errores procedentes de la inexactitud del método de referencia, o el rango relativamente estrecho del parámetro de interés, en este caso la proteína.

Con relación a la predicción del contenido de grasa en muestras de carne mediante la utilización de la tecnología NIR, cabe decir que, en general, este parámetro ha sido estimado con una gran exactitud. Así, por ejemplo, Calvo *et al.* (1997) en carne de corderos, Solís *et al.* (2001) y Prevolnik *et al.* (2005)⁹⁸ en cerdos ibéricos o Lanza (1983) en carne de bovino y porcino han obtenido ecuaciones de predicción con elevados coeficientes de determinación ($R^2=0,99$) entre el contenido de grasa de las muestras y los espectros NIR. Sanderson *et al.* (1997) y Park *et al.* (1998)⁹⁹ también obtuvieron resultados aceptables en muestras de carne de bovino ($R^2=0,95$ y $0,90$, respectivamente).

Estudios realizados con carne de pollo y con carne de avestruz picada y liofilizada también han constatado la validez de este procedimiento para estimar el contenido de grasa.

No obstante, cabe destacar que al igual que en el caso de la proteína, la forma de presentación de las muestras para obtener el espectro infrarrojo influye directamente en la exactitud de las estimaciones obtenidas. Así, Hoving- Bolink *et al.* (2005)¹⁰⁰ sólo obtuvieron estimaciones exactas de este parámetro en muestras de carne de cerdo (Yorkshire y cruces con Pietrain) intactas cuando ampliaron la superficie escaneada y redujeron así el error de muestreo.

3 MATERIAL Y METODOS

3.1 Objetivo General

Evaluar la capacidad de espectroscopia de reflectancia en el Infrarrojo cercano (NIR) para determinar la composición química (humedad, proteína, grasa, cenizas y energía) de carne de bovino mexicana, a partir de muestras del músculo *Longissimus dorsi* (lomo) en estado físico de congelación y descongelado.

3.1.1 Ubicación y duración del Estudio

El estudio se realizó en el laboratorio del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM, entre Julio 2012 a Febrero 2013.

Para lograr el objetivo general; este estudio requiere una base de datos que le indique al equipo los valores determinados por un método de referencia oficial, para esta investigación se siguió la metodología sugerida por la AOAC 2005, en lo que al NIR se refiere se dividió en dos etapas, 1) etapa de calibración y 2) valoración externa.

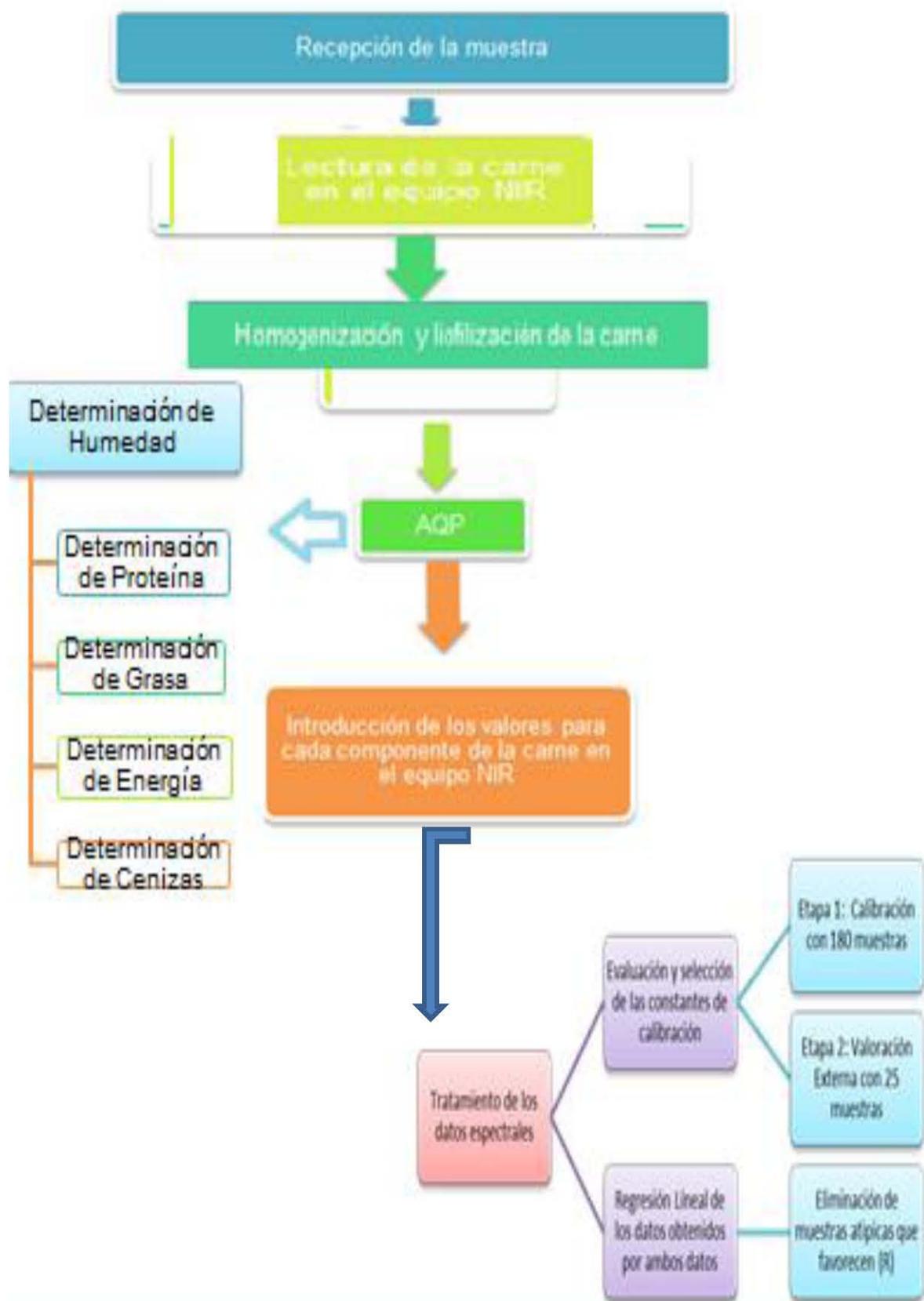
3.2. Materiales

Muestras

Las muestras de carne empleadas en el presente estudio se obtuvieron a partir de 200 canales de bovino, pertenecientes a los estados de Sonora, Baja California, Tabasco, Michoacán y Veracruz recolectadas en rastros TIF.

Las muestras se identificaron y cortaron a nivel de la 12^a costilla, horizontalmente evidenciando el musculo *Longissimus dorsi* (lomo) posteriormente se congelaron a una temperatura de -18°C para su traslado al “Laboratorio Ciencias de la Carne” (LCC), ubicado en CEIPSA, UNAM, donde las muestras se descongelaron y limpiaron de hueso y grasa, se trituraron en una picadora eléctrica de cuchillas, marca Torrey®, modelo trifásico un tiempo de 1 minutos; con el fin de obtener muestras homogéneas, parte de las muestras se colocaron en bolsas de polietileno de diferente tamaño (4 m x 12 m y 15m x 25m) para análisis por NIR y para análisis por AQP respectivamente, y se volvieron a congelar a 4°C para llevarlas al laboratorio del Departamento de Nutrición Animal y Bioquímica, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, UNAM y ser analizadas.

A continuación se muestra en un diagrama la descripción de las actividades realizadas para los métodos.



3.3 Métodos

3.3.1 Análisis químico

Se realizó el análisis químico proximal a las 200 muestras para obtener la base de datos de referencia primaria. Una vez trasladadas las muestras se trabajaron por duplicado, fueron pesadas en una balanza analítica y deshidratadas en una liofilizadora marca Edwards modelo Freeze dryer durante 3 días, se registró su peso y se calculó el contenido de humedad y de materia seca (MS),[Método ID 950.46, AOAC (2005)].

Determinación de Humedad

Calculo: $\% \text{ Humedad} = \frac{(\text{Peso muestra húmeda} - \text{Peso muestra seca})}{\text{Peso muestra húmeda}} \times 100$

Posteriormente las determinaciones analíticas de estas muestras liofilizadas se llevaron a cabo siguiendo los métodos convencionales recomendados por la AOAC (2005). Los resultados se expresaron siempre en función del contenido de MS.

Calculo: $\% \text{ MS} = 100 - \% \text{ humedad}$

MS=materia seca

Determinación de Grasa

En primer lugar, el contenido de grasa se determinó mediante un extractor Soxhlet utilizando como disolvente éter de petróleo [Método ID 920.30, AOAC (2005)].

Calculo:

$\% \text{ Grasa base seca} = \frac{\text{Peso extracto}}{\text{Peso muestra}} \times 100$

Peso muestra

$$\% \text{Grasa base húmeda} = \% \text{Grasa base seca} \times \% \text{MS} / 100$$

Determinación de Proteína

El análisis de nitrógeno se realizó según la técnica de Kjeldahl [Método ID 984.13, AOAC (2005)]. El contenido de proteína se obtuvo multiplicando el contenido de nitrógeno de la muestra por el factor de conversión 6,25. La metodología empleada para cada etapa fue la siguiente:

Digestión:

1 g de muestra, en un tubo de Kjeldahl, 1 tableta catalizadora (15 g de sulfato de cobre pentahidratado, 2.5 g de sulfato de potasio o sulfato de sodio) y 25 ml de ácido sulfúrico concentrado. El método de digestión se realizó parrilla de bloque de calentamiento en un equipo Büchi a una temperatura aproximada de 250°C, a la par se colocó una trampa de succión de gases, la digestión termina cuando la coloración de la materia orgánica es de tono verde transparente.

Destilación:

En un equipo de marca Büchi, siguiendo el manual de operaciones del fabricante.

Titulación:

Se titula con ácido clorhídrico al 0.1 N por goteo hasta que el color indicador cambie a amarillo.

Calculo:

$$\%N_{\text{base seca}} = \frac{V_{\text{HCL}} \times C(\text{Hcl}) \times 0.014}{\text{Peso muestra}} \times 100$$

$$\%N_{\text{base húmeda}} = \% N_{\text{base seca}} \times \% \text{MS} / 100$$

$\% \text{Proteína} = \% \text{N}_{\text{base húmeda}} \times 6.25$

N=nitrógeno total

V_{HCL} =volumen de Hcl consumido por la muestra en la valoración, menos el volumen del blanco de reactivos

C (HCL)= concentración de la solución de Hcl utilizada en la valoración

0.014=peso molecular del nitrógeno, dividido por 100 para llevar el volumen consumido en la valoración (V_{Hcl}) de ml a L

$\% \text{MS}$ =porcentaje de materia seca (100-% humedad)

6.25=es el factor que se deriva de asumir que las proteínas contienen 16% de nitrógeno ($100/16=6.25$)

Determinación de Cenizas

Las cenizas de cada muestra se determinaron por calcinación en un horno mufla mantenido a 500-550° C durante un tiempo mínimo de 6 horas [Método ID 942.05, AOAC (2005)].

La metodología fue la siguiente:

Los crisoles previamente se desecaron en una mufla a 600°C por 2 hrs. Una vez atemperados y a peso constante se colocó 1g de muestra en el crisol (la muestra no debe sobrepasar la mitad del crisol) previamente pesado. Se calcinó la muestra en una parrilla, bajo una campana de extracción hasta que no se desprendan humos y posteriormente se introdujeron a la mufla 6 hrs. cuidando que la temperatura no pase de 550°C. El método concluye cuando las cenizas tienen un color blanco o ligeramente gris, homogéneo. Enfriar en desecador y pesar.

Calculo:

$$\%CT = \frac{P.C. + M - P.C.S}{GM} \times \% MS$$

CT=Cenizas totales

P.C.+M = Peso en g del crisol con cenizas

P.C.S=Peso en g del crisol sin cenizas

GM= Peso en gramos de la muestra

%Ms= % Materia seca

Determinación de Energía

En relación con la energía, este parámetro se determinó mediante combustión de la muestra en una bomba calorimétrica adiabática (Parr Instrument, Estados Unidos)

Se peso 0.25g de muestra en forma de harina y se colocó en una pastilla previamente pesada, la cual se introdujo en una capsula para combustión con hilo de ignición dentro de la muestra y sobrando un tramo para conectar al alambre de ignición de la bomba, en la parte central del equipo se metió la capsula y se realizó la combustión, para lo cual se revisó que el equipo se encuentre en perfectas condiciones, ya que se debe obtener un cierre hermético. El cierre se realiza colocando el capuchón de la bomba sobre el anillo metálico y se gire éste hasta que coincida la rosca con el del capuchón, teniendo suministro de Oxígeno a presión (cilindro con mínimo 30 bars) , se procede a abrir la válvula de paso girando

de $\frac{1}{4}$ a $\frac{1}{2}$ la perilla y se debe obtener una presión dentro de la bomba balística de 25 bars (1 bar – 0.987 atm) en aproximadamente 20 a 30 s. Una vez alcanzada la presión, se cierra la válvula de paso y se procede a ajustar el galvanómetro primero con la ayuda del ajuste grueso y posteriormente con el dispositivo de ajuste fino. Si las condiciones anteriores se mantienen por aproximadamente 10 s, se oprime el botón de ignición y en 10 a 15 min se lleva a cabo la combustión, notándose por un aumento en la presión del manómetro, que a su vez se traduce en una señal en la escala del galvanómetro, ya que una vez alcanzado el valor máximo empieza a decaer rápidamente. La lectura máxima obtenida en el galvanómetro, es directamente proporcional al calor liberado en la combustión.

Una vez tomada la lectura, se abre la válvula de salida de los gases de combustión, la cual se localiza en la base de la bomba del lado opuesto a entrada del oxígeno; a la vez, se desconecta el sensor del termopar y una vez liberados los gases de combustión, se procede a abrir la bomba girando el anillo metálico en sentido inverso al cierre. Por último cierra la válvula de liberación de gases y enfríe el capuchón de la bomba en un baño de agua fría hasta temperatura ambiente, para poder realizar una nueva determinación.

Cálculos.

Para poder calcular la densidad calórica de la muestra, es necesario contar con una curva estándar, para la cual se debe realizar la combustión de ácido benzoico y anotar la respectiva lectura del galvanómetro. Se recomienda pesar entre 0.1 a 0.7g de ácido benzoico (valor calórico certificado); además será necesario llevar a cabo la combustión exclusiva de la mecha de hilo de ignición, ya

que el valor obtenido se debe restar, o la escala del galvanómetro se puede ajustar para obtener la lectura en forma directa.

Es necesario realizar la determinación mínimo por duplicado, y una vez obtenida la lectura, se debe convertir a unidades energéticas, para lo cual son las siguientes conversiones:

$$1 \text{ g de ácido benzoico} = 26,454.3 \text{ J} = 26.45 \text{ KJ}$$

$$4.1868 \text{ KJ} = 1 \text{ Kcal}$$

Una vez que se cuente con la curva estándar de contenido calórico (abscisas) en función de la lectura del galvanómetro (ordenadas), se podrá obtener por interpolación la densidad calórica de la muestra. La determinación calórica en la bomba calorimétrica, da la máxima energía potencial que en términos fisicoquímicos corresponde al calor de combustión del respectivo material.

Por si mismo el termino de energía bruta no tiene un valor práctico desde el punto de vista alimenticio, ya que los términos de mayor aplicación son aquellos que nos dan la energía biodisponible, como es el caso de la energía metabolizable. No obstante varios investigadores han realizado estudios bastante completos y representativos en alimentación humana y animal, de los cuales se han podido derivar ecuaciones relativamente sencillas, que nos pueden estimar con cierta exactitud, términos energéticos de aplicación práctica.

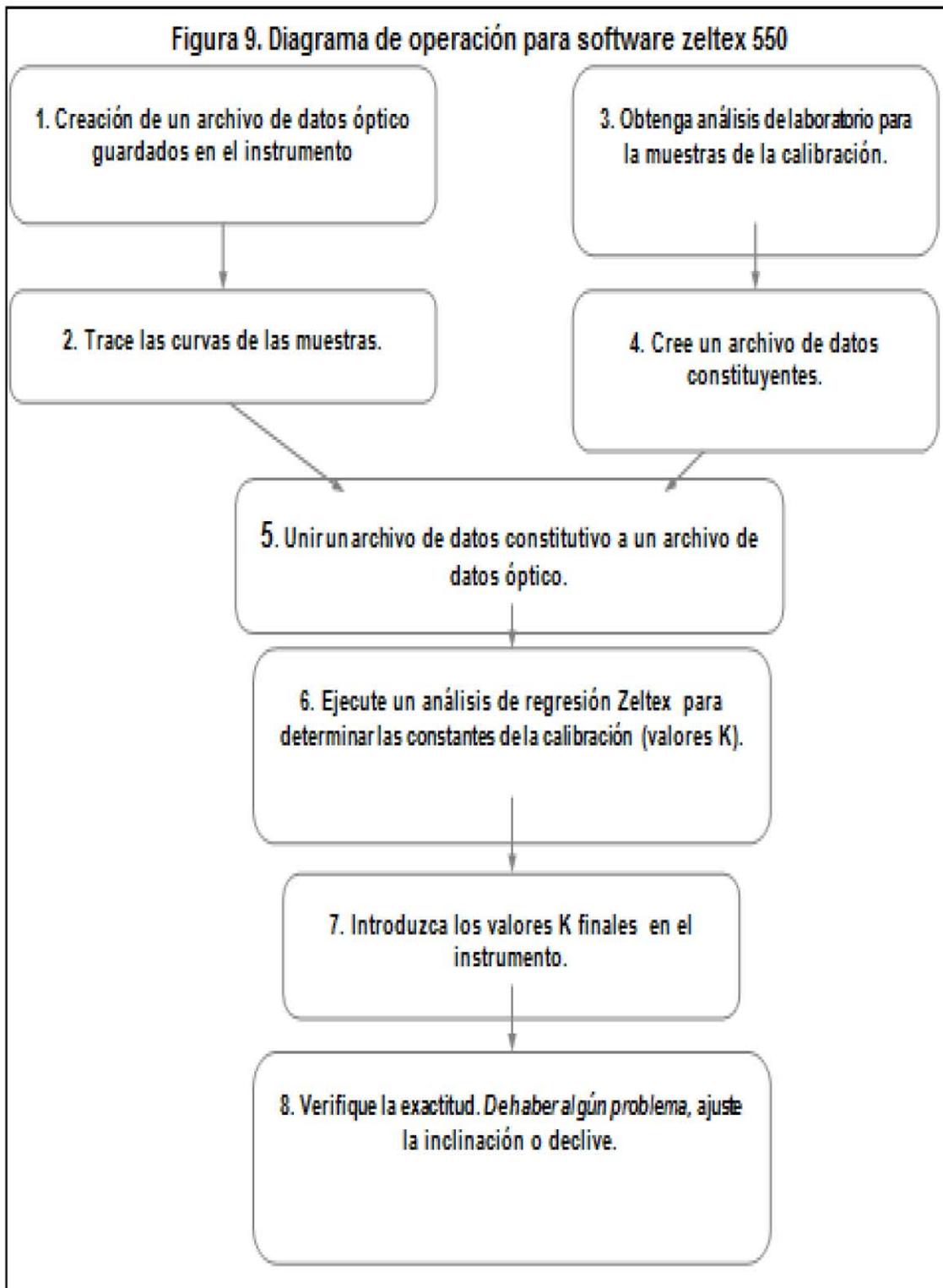
3.3.2 Colección de los espectros

Se realizaron las lecturas con el equipo NIR a todas las muestras (200), para ello se tomaron en estado de congelación y descongelado, obteniendo así dos posibles calibraciones del equipo.

Para la colección de los espectros, se leyó a temperatura de 4°C y de 20°C aproximadamente, el espacio de lectura del equipo de espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano es de una ventana de cuarzo de 35 mm de ancho y 10 mm de espesor. Los espectros fueron tomados en el rango de 400 a 2500 nm a intervalos de 2 nm. En la lectura de los espectros se utilizó un equipo portátil de Marca ZELTEX modelo 550, con detector de reflectancia, manejado por el programa de Calibration para Windows™ 3.1, Versión 1.4., software NIR 3.1, asistido por una computadora personal. Los valores de absorbancia ($\log(1/R)$) se almacenaron de acuerdo a cada lectura y su duplicado.

En el siguiente diagrama se indican los pasos realizados para el uso adecuado del equipo de espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano¹⁰¹.

Figura 9. Diagrama de operación para software zeltex 550



3.3.3 Tratamiento de los datos espectrales

Se introdujeron los resultados del AQP al equipo NIR, para que el equipo NIR reconozca los valores con los que se trabajó la primera vez y así poder estimar la composición de la carne de res por este método.

Siguiendo la recomendación del diagrama del equipo se fusiono el archivo de datos de resultados de laboratorio con el archivo de datos óptico del escaneo de las muestras, el programa de la computadora agregó los datos nuevos al archivo óptico para posteriores lecturas.

3.4 Evaluación y selección de constantes para la calibración

De acuerdo a las recomendaciones del manual NIR 3.1 para encontrar el mejor tratamiento por ensayo y error, se sometió a los espectros a varios tratamientos matemáticos, intentando las mejores combinaciones aplicándose regresión lineal simple este método utiliza toda la información espectral (longitudes de onda) y los valores de laboratorio para formar una regresión lineal, teniendo como resultado un coeficiente de correlación.

En la calibración se tomaron solo 180 de las 200 muestras para originar un set de calibración, estas muestras son las que presentan un mejor comportamiento bajo la curva, se eliminaron las muestras que salieron del comportamiento normal. El criterio para seleccionar las constantes de calibración fue obteniendo el R² más alto junto al menor SEC, mismo que el software automáticamente selecciona y muestra las 14 mejores constantes para cada componente a analizar.

Autores como Naes T. e Isaksson en 1989 recomiendan que para tener éxito en la calibración NIR se debe tomar en cuenta características como la distribución composicional del producto a analizar, donde una característica importante que debería tener un set de muestras para calibración es que su distribución composicional sea lo más amplia posible y que se encuentre lo más uniformemente distribuida, además de tener una información originada de una técnica referencial precisa. El set de calibración esta formado por la relación de información originada de una técnica referencial precisa y la colección espectral de un producto¹⁰².

3.5 Ensayo de valoración externa

A continuación se realizó una valoración externa, utilizando las constantes recomendadas con las muestras del set de calibración.

La valoración externa se realizó con 25 muestras conocidas del estudio bajo las mismas condiciones.

Desde el punto de vista estadístico, la etapa de valoración consiste en la comparación, mediante diferentes criterios estadísticos, del valor verdadero y el valor estimado (Peldoza, 1999)¹⁰³; especificando, que en la tecnología NIR, se considerará como valor verdadero aquel determinado mediante el método de referencia (laboratorio) mientras que el valor estimado es aquel predicho en la calibración NIR.

3.6 Análisis estadístico

Se realizó en el programa Windows Excel® donde se determino Media, Mediana, Desviación Estándar y Varianza el comportamiento de la población de muestras se representó con histogramas de frecuencias para el método laboratorio. Para el método NIR se hizo la regresión lineal laboratorio-NIR para cada uno de los componentes de la carne de bovino se determino coeficientes de correlación (r) y SEC en cada estado físico de la muestra, se utilizaron graficas de barra para evidenciar los valores obtenidos por el estado de congelación y descongelado y así poderlos comparar.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Análisis químico.

La composición química de las muestras de carne de bovino en México, determinadas a través de los métodos descritos por la AOAC se muestran en el Cuadro 6; ahí se resume las medias, desviaciones estándar, coeficientes de variación, el valor mínimo y máximo de cada componente expresados en base húmeda.

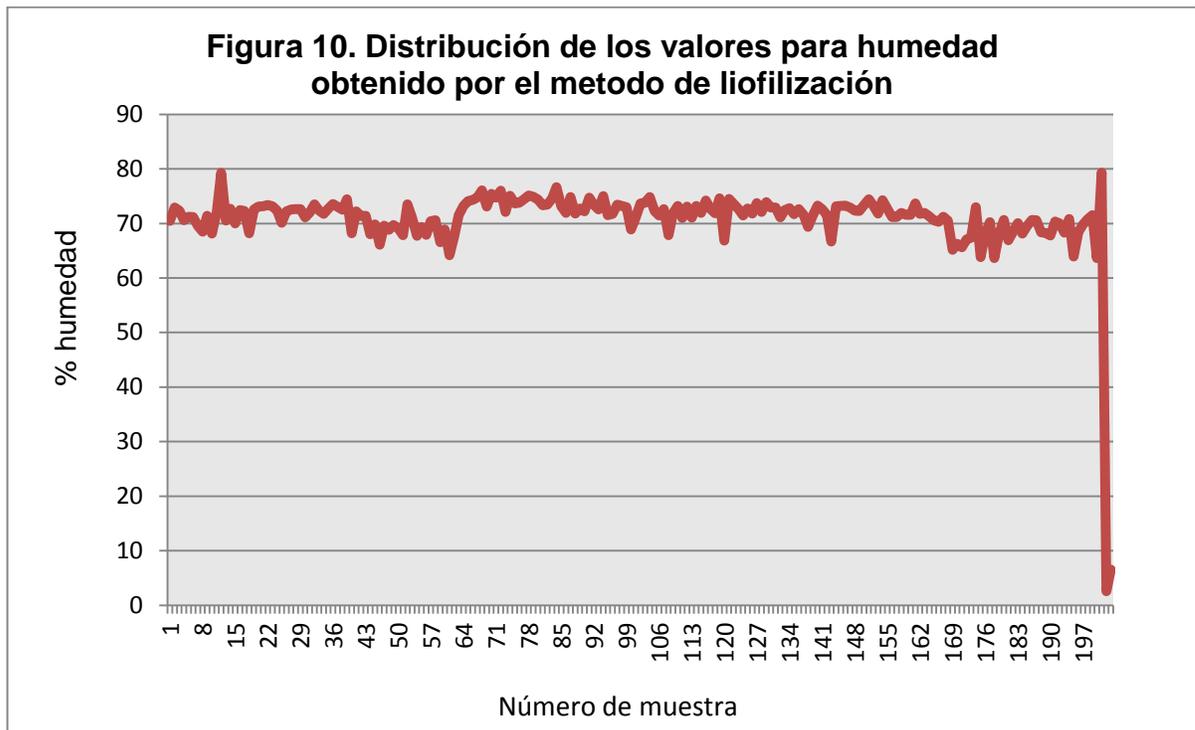
Cuadro 6. Parámetros estadísticos de la composición química de carne de bovino en México expresados en base húmeda

Componente	N	Promedio \pm DE	Varianza	Mínimo	Máximo
Humedad	200	71.49 \pm 2.56	6.53	63.61	79.26
Grasa	400	3.34 \pm 2.38	5.67	0.40	12.50
Proteína	400	22.66 \pm 1.88	3.52	12.60	26.97
Cenizas	400	1.10 \pm 0.01	0.11	0.70	1.67
Energía	400	7.09 \pm 0.34	0.02	6.09	8.25

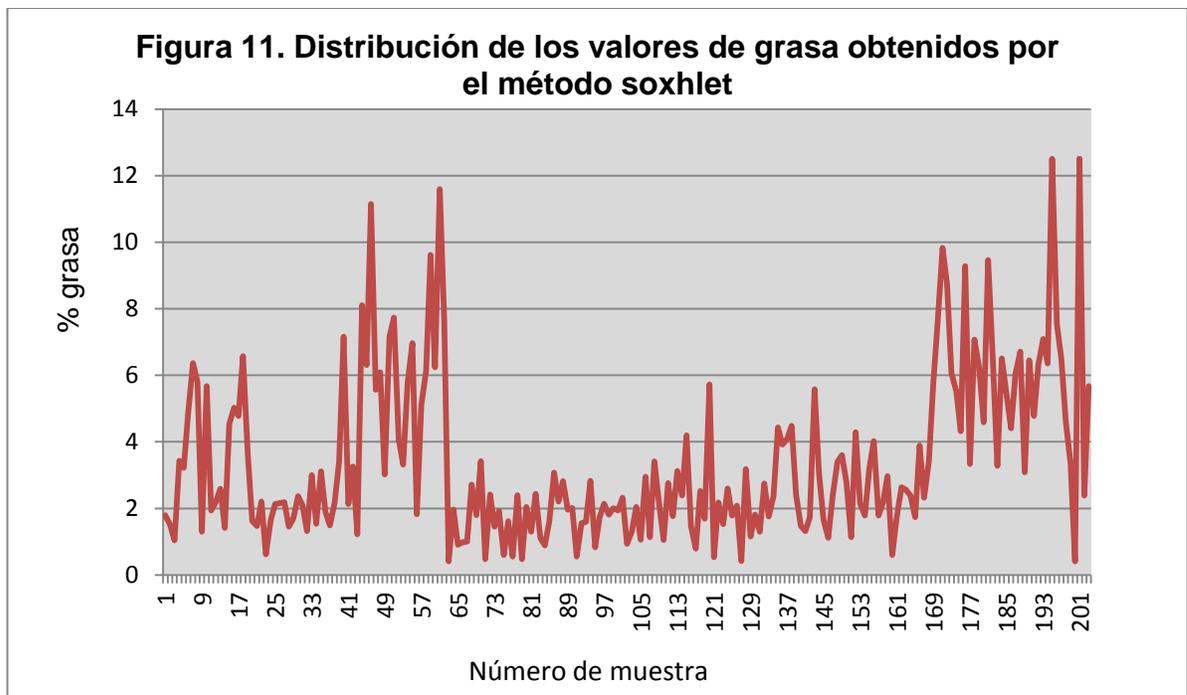
DE: Desviación Estándar, n: número de muestras analizadas por AQP

El contenido de humedad de la carne de bovino se encuentra en promedio 76 % según Solís Rojas, 2005; en el caso de carne mexicana se encuentra dentro de los valores reportados por Delgado Suárez¹⁰⁴; entre 70 y 75 %, en este estudio se obtuvo un contenido de 71 % de humedad en promedio.

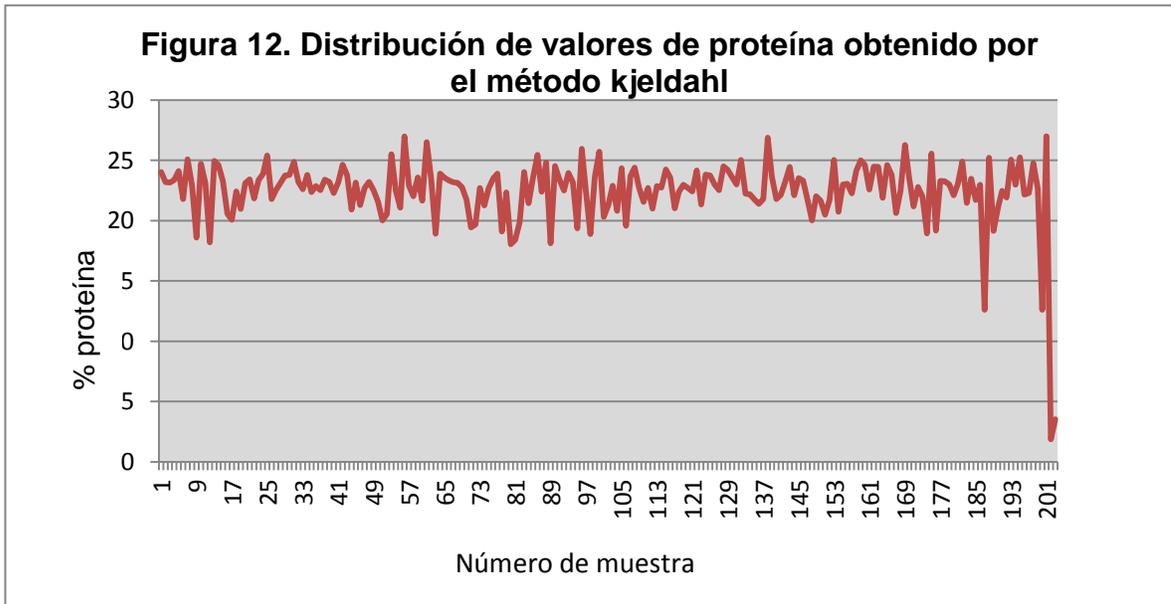
En el siguiente gráfico, se muestra la variabilidad de los valores para el componente humedad, expresado en porcentaje.



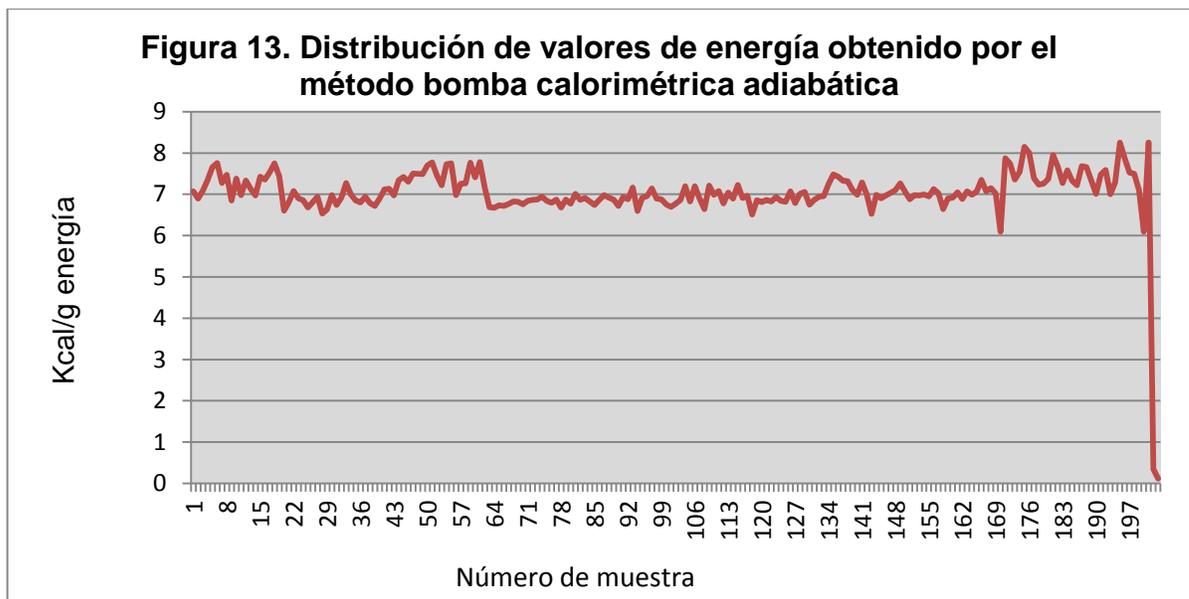
Los valores de humedad determinados por este método presentan una frecuencia de hasta el 80 % entre los valores 70-74% de contenido de humedad lo que significa que las muestras forman un grupo heterogéneo.



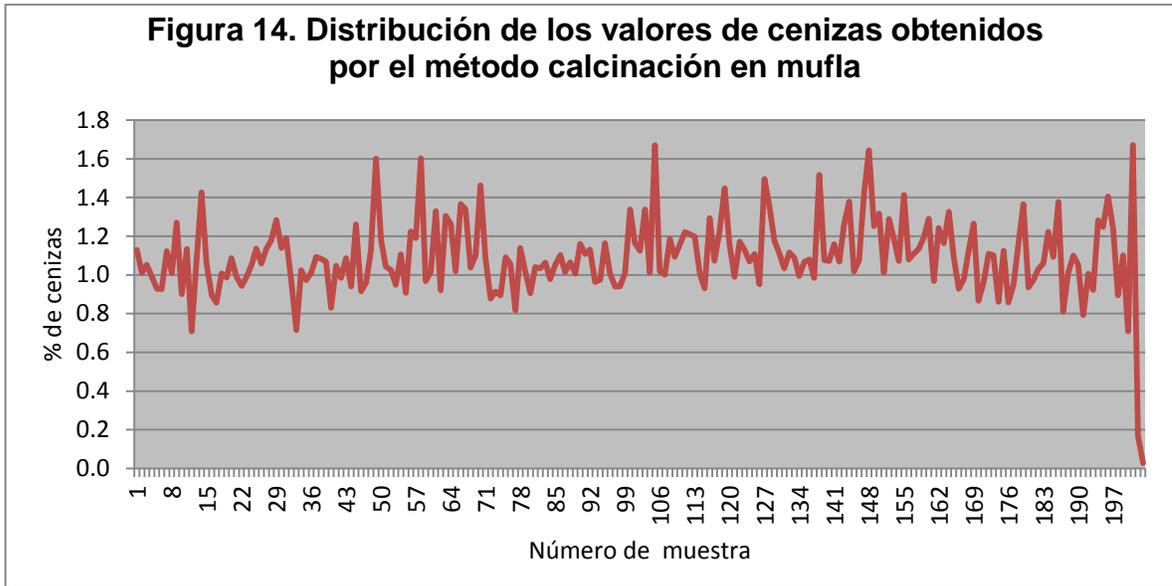
El contenido de grasa intramuscular fue el que presento más variación, como se observa en la Figura 11, hay muestras con un gran porcentaje de grasa a diferencia de otros, resultado de los propios factores de producción que determinan el tipo de calidad en carne, como lo menciona Varela A, 2001; Renand, 2001; Cerdeño, 2001; el método soxhlet determino valores de grasa en carne entre 1-3% de contenido en cada muestra.



El porcentaje de proteína, en general se mantuvo entre 20- 25%, con excepción de muestras atípicas con resultados de hasta 16%, variabilidad que se añade a la diversidad de las muestras, los valores coinciden con lo reportado por Delgado Suárez en 2005, quien obtuvo una media de 22 % de proteína en carne de bovino mexicana.



La energía expresada en Kcal/g de muestra es el componente más estable, el que presento menos variación, manteniéndose en valores de 7 a 8 kcal por gramo de carne de bovino.



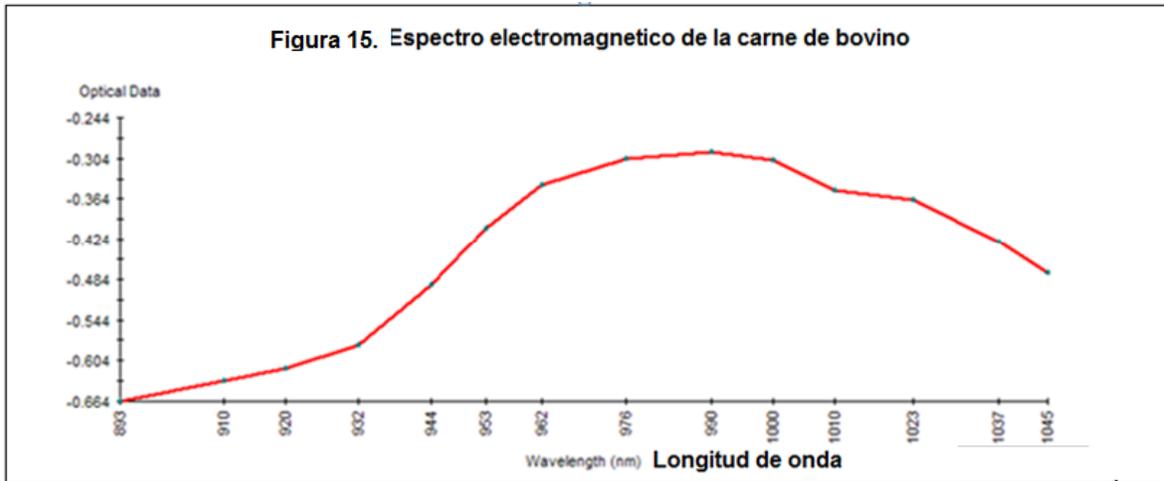
El contenido de cenizas totales, varía de 0.8 a 1.5g en la carne analizada, en general autores como Lawrence y Fowler, (1997)¹⁰⁵, Lawrie, 1998, mencionan que el contenido de cenizas en alimentos es de 1% de cenizas totales.

Los resultados de los diferentes componentes de la carne de bovino en general coinciden con los citados por (Varela A, 2001; Cerdeño, 2001; Rendand *et al.*, 2001; Maher *et al.*¹⁰⁶; Delgado *et al.*, 2005; Solís Rojas, 2005), la variabilidad de los resultados depende del efecto de diversas variables (raza, sexo, edad, alimentación, etc.) aun cuando se hayan tomado de la misma región de músculo.

4.2 Desarrollo de la calibración para un equipo NIR

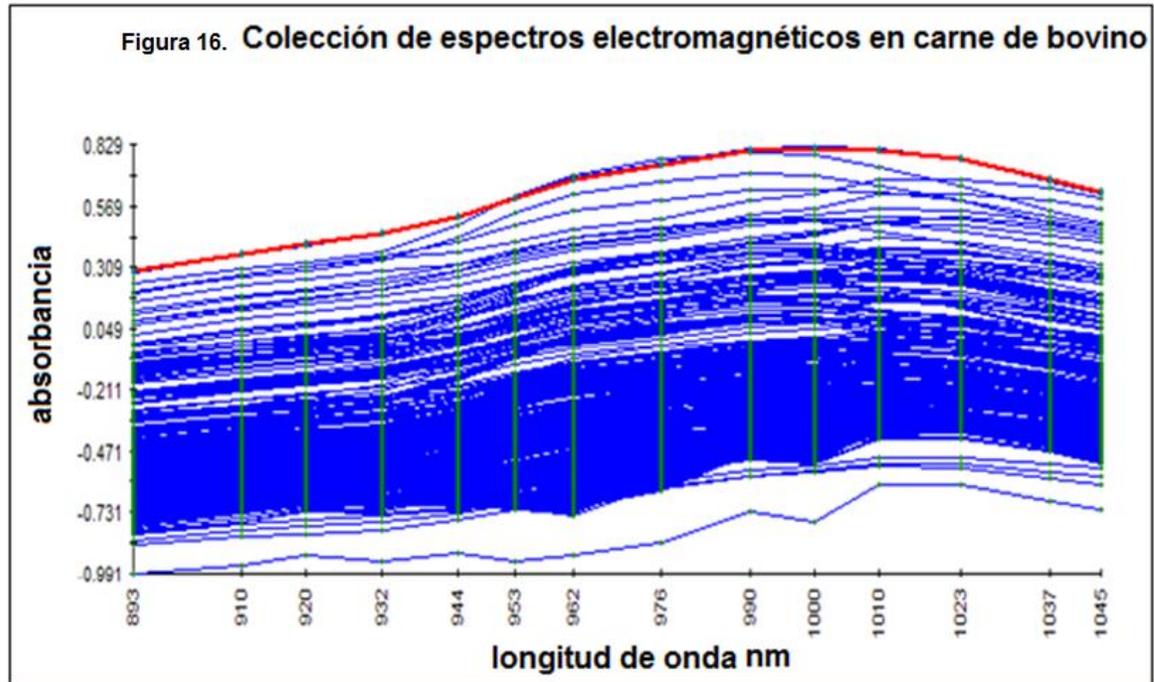
4.2.1 Colección de espectros

En la Figura 15 se muestra el espectro de una de las muestras de carne de bovino mexicana escaneada en el equipo de infrarrojo cercano situado entre una longitud de onda de 400 a 2500_{nm}; esta muestra aún no tiene datos de referencia, sin embargo el área bajo la curva es significativa debido a que indica la longitud de onda del espectro electromagnético de la carne.



En la Figura 15 se muestra un espectro promedio de la colección de los escaneos realizados en carne de bovino mexicana, con las absorbancias y la longitud de onda. En promedio la longitud de onda con la que se trabajo fue de 880-1045 nm.

En la Figura 16 se presenta la colección completa de los espectros tomados de las muestras de carne de bovino mexicana, espectros que bajo la curva la mayoría muestra un comportamiento típico.



En la colección de los espectros se observan líneas con un área bajo la curva diferente al grupo en general, esas líneas representan muestras atípicas, por lo que se eliminaron, para que los espectros colectados formen un grupo homogéneo.

Una vez adquirido el resultado de los componentes de la carne por los diferentes métodos químicos y con la colección de espectros electromagnéticos, se procedió a introducirlos en el equipo NIR para la calibración del método de análisis de la composición en carne de bovino mexicana.

Los espectros colectados para el estado de congelación como el de descongelado son similares en cuanto a la longitud de onda y comportamiento bajo la curva.

4.3. Etapa de Calibración

La calibración del equipo NIR se obtuvo con 180 muestras (360 espectros); en algunos componentes se eliminaron muestras que representaban un comportamiento bajo la curva atípico, además se realizó la regresión lineal simple y se obtuvieron las siguientes constantes para cada estado físico de la muestra (congelado y descongelado), durante esta etapa y se presentan a continuación:

Cuadro 7. Relación de las constantes recomendadas para la calibración de un equipo NIR en muestra congelada.

Constante (Ks)*	ID	%Humedad	%Grasa	%Proteína	Energía Kcal/g	% Cenizas
K0	0	20.30	-8.22	44.64	5.63	-4.16
K1	893	3.97	5.68	-56.31	-31.51	-117.81
K2	910	-267.51	-105.46	309.84	8.38	21.87
K3	920	62.88	82.11	62.55	24.25	94.11
K4	932	48.44	105.25	-136.99	75.77	-61.86
K5	944	284.57	-99.46	-289.85	-104.50	108.64
K6	953	251.64	233.52	97.05	74.93	-264.50
K7	962	-796.17	-437.70	307.70	-128.56	632.91
K8	976	474.11	220.51	-489.05	42.85	-377.34
K9	990	-90.27	209.43	-33.65	65.16	-232.99
K10	1000	8.51	-125.54	244.42	-2.32	156.13
K11	1010	-64.27	-229.82	333.70	-12.40	140.46
K12	1023	51.33	72.24	-73.69	23.91	-246.50
K13	1037	477.54	608.04	-1048.80	-99.42	704.78
K14	1045	-458.09	-539.56	782.07	62.58	-568.55

*Tipo de archivo en Software NIR. ID. Número de muestra en base de datos

Cuadro 8. Relación de las constantes recomendadas para la calibración de un equipo NIR en muestra descongelada.

Constante (Ks)*	ID	%Humedad	%Grasa	%Proteína	Energía Kcal/g	% Cenizas
K0	0	52.01	-94.16	164.41	6.27	-11.42
K1	893	784.48	-1809.66	-936.58	114.61	-529.63
K2	910	1292.86	3679.07	1963.15	299.20	1113.85
K3	920	-83.49	-349.51	-638.23	121.51	-168.99
K4	932	583.98	-863.63	610.61	149.92	-85.44
K5	944	199.33	-1839.34	-3790.05	729.72	-1573.12
K6	953	-242.79	-248.25	3643.77	514.79	1474
K7	962	-155.15	3218.65	510.06	310.94	697
K8	976	162.94	-1847.81	-1507.53	343.59	-1021
K9	990	84.11	-902.87	-144.64	103.39	-323.85
K10	1000	-134.97	103.28	237.25	-110.38	403.32
K11	1010	288.02	-282.4	102.71	-61.36	14.24
K12	1023	-244.26	231.91	-533.45	154.04	-113.39
K13	1037	-213.61	596.81	408.86	-159.61	264.88
K14	1045	263.18	-615	83.76	39.75	-149.24

**Tipo de archivo en Software NIR. ID. Número de muestra en base de datos*

Con las constantes anteriores se hizo el estudio de correlación, tomando como referencia los resultados de laboratorio para cada componente y los resultados del archivo “optical data” del software del equipo NIR.

A continuación en el cuadro 9, se muestra los resultados del estudio de correlación de los componentes de la carne de bovino, ahí se especifican en que estado físico de la muestra se obtuvieron.

Cuadro 9. Resultado de la composición química de la carne de bovino en México analizado por método NIR etapa de calibración

Estado físico de la muestra	Componente	Humedad	Grasa	Proteína	Cenizas	Energía
	Análisis					
Congelado	Coefficiente (r)	0.64	0.69	0.70	0.13	0.71
	SEC	2.03	1.78	1.03	1.53	0.24
Descongelado	Coefficiente (r)	0.80	0.78	0.30	0.48	0.58
	SEC	1.25	1.23	1.30	1.18	0.26

(r): Coeficiente de correlación

SEC: Error estándar de calibración

El resultado de correlación más favorable para el componente humedad fue el obtenido por la muestra en estado de descongelado con un coeficiente de correlación similar al reportado por Mitsumoto *et al* (1991), quien encontró un (r) de 0.80 para este componente en el estado de descongelado, el coeficiente de congelado no se considera por ser más bajo numéricamente.

Para el componente grasa los resultados del método de laboratorio comparados con el método NIR, obtuvo un coeficiente de correlación de 0.69 para el congelado y de 0.78 en descongelado este es un valor aproximado al reportado por Mitsumoto *et al* (1991), quien obtuvo hasta un (r) de 0.79 para este componente.

En cuanto a la proteína mostró valores de 0.40 en descongelado y de 0.70 en congelado, este valor se puede comparar con el reportado por Kruggel *et al*, (1981) quien encontró un (r) de 0.71 para este componente.

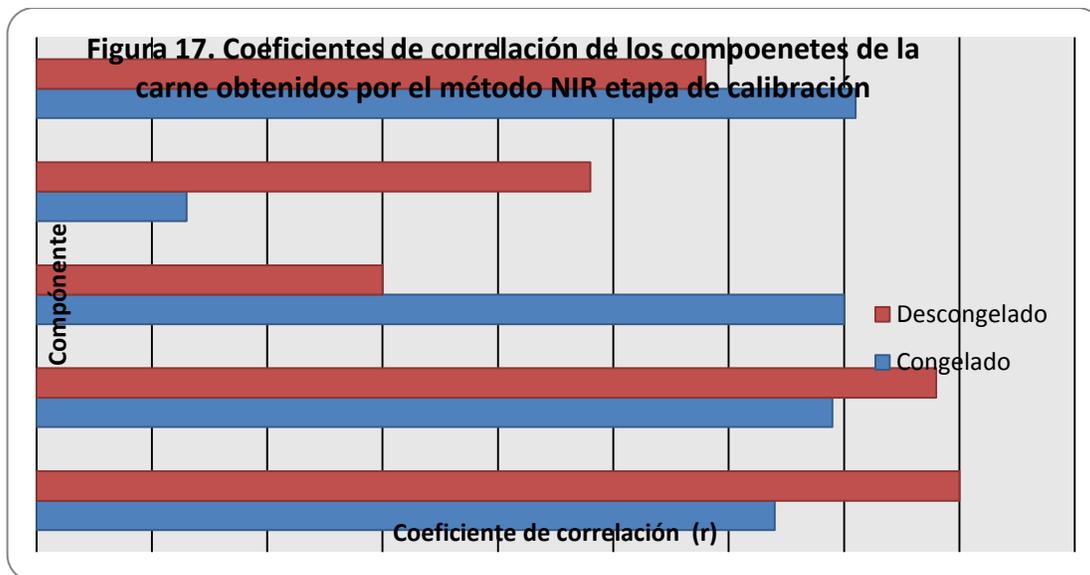
Las cenizas por su valor de laboratorio obtenido varia en rangos de 0.8 a 1.5 g en 100 g de carne, es por ello que para facilitar su lectura en el equipo de espectroscopia de reflectancia en el infrarrojo cercano se opto por transformar los valores a múltiplos de 10, de manera que el equipo los pueda detectar y reportar.

Los coeficientes de correlación fueron de 0.48 en descongelado y de 0.13 en congelado, hasta el momento no se encontró en la literatura referencia de este valor del componente para comparar.

El componente energía presento el mejor coeficiente de correlación en estado de congelado con un (r) de 0.71 y en descongelado un (r) de 0.58, al igual que el componente cenizas no se encontró referencia para ser comparado.

El error de calibración reportado para cada componente fue el menor obtenido durante la etapa de calibración, lo que concuerda con lo sugerido por Peldoza (1999).

En la Figura 17, se muestra a los diferentes coeficientes de correlación obtenidos por el método NIR para cada componente analizado en la carne de bovino mexicana, en cada una de ellas se diferencia el estado congelado y descongelado.



Los coeficientes de correlación obtenidos en esta etapa de calibración para los diferentes componentes de la carne presentaron un (r) cercano a 0.8, lo que indica que el grupo de muestras es heterogéneo, por ello el resultado de correlación es tan diverso. Autores como Shenk y Wester Haus (1996), indican que una buena calibración puede tener como mínimo un (r) de 0.69, lo que significa que la calibración realizada es cuantitativamente viable.

4.4 Valoración Externa

Se utilizó un grupo de 25 muestras de carne de bovino con origen y valores de referencia conocidos mismos para evaluar muestras en estado físico de congelación y descongelado. A continuación se muestra en el Cuadro 10 los coeficientes de correlación y SEC obtenidos en esta etapa para ambos estados analizados en la muestra de carne.

Cuadro 10. Resultado de la composición química de la carne de bovino en México analizado por método NIR etapa de valoración externa

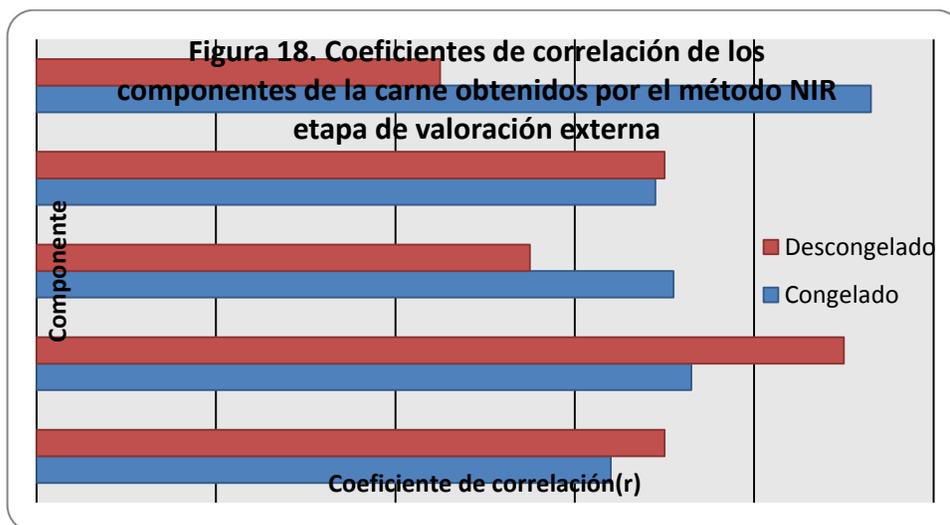
Estado físico de la muestra	Componente Análisis	Humedad	Grasa	Proteína	Cenizas	Energía
Congelado	Coeficiente (r)	0.64	0.73	0.71	0.69	0.93
	SEC	0.98	0.08	1.14	1.0	0.10
Descongelado	Coeficiente (r)	0.70	0.90	0.55	0.70	0.45
	SEC	2.6	1.20	1.68	1.40	1.26

(r) coeficiente de correlación
SEC Error estándar de calibración

Los coeficientes de correlación para el componente humedad en estado físico descongelado disminuyó un 0.10 % en relación a la etapa de calibración, para la grasa aumento un 0.12% lo que significa que las muestras evaluadas para la etapa de valoración externa se encontraban dentro del promedio de la base de datos de calibración, la proteína aumento solo 0.01% su (r), para las cenizas aumento su (r) de 0.13 a (r) de 0.69, con una diferencia de 0.56, por lo que este componente se considero no apto para ser determinado por el método NIR, en cuanto a la energía aumento de (r) =0.71 en la calibración a un (r) = 0.93 en la valoración, teniendo una diferencia positiva de 0.22%.

En general el aumento o disminución de los coeficientes de correlación se debe al rango de valores mínimos y máximos encontrados por el método de laboratorio.

En la Figura 18 se representa a los diferentes coeficientes de correlación en la etapa de valoración externa en los diferentes estados físicos de la muestra.



Durante esta etapa se observó una correlación alta y positiva de los diferentes componentes de la carne de bovino mexicana.

5. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados y bajo las condiciones experimentales de este trabajo, se puede concluir lo siguiente:

En México existe una variabilidad de carne de bovino, debido a su tipo de producción, los componentes de la carne son diferentes desde su origen, por lo que en el análisis por el método recomendado por la AOAC se obtienen rangos amplios, como lo es para el componente grasa, los demás parámetros se encuentran dentro de los valores reportados por la literatura.

En general la técnica NIR mostró ser un buen método para valorar los componentes de la carne de bovino de México, para los parámetros humedad y grasa los valores encontrados indicaron una mejor correlación en el estado de descongelado, seguramente por el estado estructural de las moléculas que permitió una mejor reflectancia, en el caso de los componentes proteína y energía los valores resultado del método (NIR), mostraron un coeficiente de correlación más alto en estado de congelación debido a que las moléculas de la muestra donde incide el haz del infrarrojo cercano hace una evaluación directa en la estructura de la carne, a diferencia del estado descongelado donde interfiere el contenido de agua. Para el componente cenizas se concluye que no es recomendado hacer la medición de este componente por el método NIR, debido a que presento resultados incongruentes de la calibración con la valoración externa.

6. REFERENCIAS

1. ZAYAS ESTRELLA PATRICIA, HERNÁNDEZ-SAINZ DIANET. Autenticidad de los alimentos y quimiometría. Habana, Cuba. Rev Ren. 2011:30-45.
2. SINGHAL, KURKANRNI R., REGE P. Handbook of indices of food quality and authenticity. England. 1997:10-27.
3. MCELHINNEY J. Direct quality measurements of flour and discrimination of selected meats by visible, near and mid-infrared spectroscopy. (Thesis). M.Sc. (Agr.). 1999.
4. HUANG-H, YU-H, XU-H, YING-Y. Near infrared spectroscopy for on/in-line monitoring of quality in foods and beverages. J. Food Eng. 2008; 87: 303-313.
5. LAWRIE R.A. The eating quality of meat. Oxford, UK J. Meat Sci. 1991:184-224.
6. TELLEZ-DELGADO RICARDO, MORA-FLORES STURNINO, MARTÍNEZ-DAMIÁN ÁNGEL, GARCÍA-MATA ROBERTO, GARCÍA-SALAZAR J. ALBERTO, Caracterización del consumidor de carne de bovino del valle de México. Rev Agro. 2012; 46:1.
7. ALMANZA G. El consumo de carne en México: Javier Almanza. El Universal 2010 febrero 19; Sec El País: 20 .

8. COORDINACIÓN GENERAL DE GANADERIA. La producción de carnes en México. Rev Cla. Agr. México (DF).SAGARPA. 2010;(207-208):19-34.

9. SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera SAGARPA. [Pagina en internet] México. Consultado marzo 2013.Disponible en

URL: <http://www.siap.org.mx>

10. REAL ACADEMIA ESPAÑOLA. [Pagina en internet] Consultado febrero 2013. Disponible en URL: <http://www.academia.org.mx/rae.php>

11. LAWRIE R. A. Ciencia de la carne ed. Acriba: Zaragoza-España, 1974.

12. PENNY IF. Enzimología de la maduración en: Avances de la ciencia de la carne ed. Acriba: Zaragoza-España, 1984: 149-181.

13. KOOHMARINE M. Effect of pH, temperature and inhibitors on autolysis an catalytic on bovine. J. Ani. Sci.70: 3071-3080.

14. VAN-HORN LINDA, FUKAGAWA NAOMI, ACHTERBERG CHERLYL, LAWRENCEJ, CLEMENS, NELSON MIRIAM E. Dietary Guidelines for Americans.

7th, Washington, DC: U.S. Government Printing Office, December 2010.

15. LAWRENCE, T.L.J. AND FOWLER, V.R. Growth of Farm Animals. CAB International; Wallingford UK.1997:26-101

16. LAWRIE R.A. Constitución química y bioquímica del músculo. España. Rev Cie de la Car1998:67-108.
17. SAÑUDO, C.; OLLETA, J.L.; CAMPO, M.M.; ALFONSO, M. Y PANEA, B. Propuesta de muestreo. Metodología para el Estudio de la Calidad de la Canal y de la Carne de Rumiantes. MCyT- INIA, Madrid, España 2001; 139-144.
18. WARRIS P.D. Measuring the composition and physical characteristics of meat. J. Meat Scie;229-251.
19. WISMER-PEDERSEN J. Química de los tejidos animales: Agua ed. Acribia Zaragoza-España1994:125-138.
20. BANDAM E. Química de los tejidos animales: Proteínas ed. Acribia Zaragoza-España 1994:57-92.
21. DUGAN J. L. Química de los tejidos animales: Grasas. ed. Acribia Zaragoza-España 1994:93-101.
22. VENTANAS J. y TIMÓN M.L. La preparación culinaria de la carne. Fundamentos, principales métodos y ejemplos representativos. En: Enciclopedia de la Carne y de los Productos Cárnicos. Cáceres, España 2001:585-614.
23. CERDEÑO A., LÓPEZ J., GÓMEZ A., SERRANO E. y MANTECÓN A.R. Características de la carne de buey de las razas: Asturiana de los Valles, Limusín y Parda. ITEA 2001; (23) 32-34.

24. VARELA A., OLIETE B., MONSERRAT L., CARBALLO J.A. Y SÁNCHEZ L. Efecto de la extensificación del manejo sobre la dureza, jugosidad y composición química de la carne de terneros de raza Rubia Gallega sacrificados sin destetar. ITEA 2001: Vol. Extra 22: 562-564.
25. WONG DOMINIC. Química de los alimentos. Ed Acribia S.A Zaragoza España: 1989.
26. SOLIS-ROJAS JOSÉ LUIS. Manual de prácticas tecnología de carnes. Ed Acribia S.A. Zaragoza España: 2005.
27. RENAND G., PICARD B., TOURAILLE C., BERGE P. AND LEPETIT J. Relationships between muscle characteristics and meat quality traits of young Charolais bulls. J. Meat Sci 2001; 59: 49-60.
28. O'SULLIVAN, A.; GALVIN, K.; MOLONEY, A.P.; TROY, D.J.; O'SULLIVAN, K. AND KERRY, J.P. Effect of pre-slaughter rations of forage and/or concentrates on the composition and quality of retail packaged beef. J. Meat Sci 2001; 63: 279-286.
28. SCOLLAN, N.D.; RICHARDSON, I. AND MOLONEY, A.P. Effect of beef systems on meat composition and quality. In: The Science of Beef Quality. 8th Annual Langford. Food Industry Conference. Proceedings of the British Society of Animal Science, BSAS, Langford, Bristol, UK. 2005: 1-6.
29. AURAND L.W., WOODS A.E., WELLS, M.R. Food Composition and Analysis. An AVI Book, New York. 1987

30. CAMBERO MI, DE LA HOZ L, SANZ B, ORDÓÑEZ JA. Seasonal variations in lipids composition of Spanish wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). J. Meat. Sci. 1991; 56: 351-362.
31. VAN-HORN LINDA, FUKAGAWA NAOMI, ACHTERBERG CHERLYL, LAWRENCEJ, CLEMENS, NELSON MIRIAM E. Dietary Guidelines for Americans. 5th, Washington, DC: U.S. Government Printing Office, December 2005.
32. KIRK R. S., SAWYER R; EGAN, H. Composición y análisis de alimentos 2^{da} ed Ed Continental SA de CV. México, 1996.
33. NIELSEN S. Food Analysis Laboratory Manual; Kluwer Academic/Plenum Publishers, Nueva York, 2003.
34. AOAC. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 18th ed. Gaithersburg: International, 2005.
35. AHMEDNA M., PRINYAWIWATKUL, W. Y RAO R.M. Solubilized wheat protein isolate: functional properties and potential food applications. JAFCA, 1999; 47:1340-1345.
36. NIELSEN S. Food Analysis 2^{da} ed. Aspen Gaithersburg Maryland. 1998.
37. PEARSON. D; Técnicas de laboratorio para el análisis de alimentos ed. Acribia, S.A. Zaragoza: España 1993.

38. OSBORNE, B.G.; FEARN, T. AND HINDLE, P.H. Near Infrared Spectroscopy in Food Analysis. Longman Scientific and Technical. Harlow -Essex, UK.1994.
39. Murray, I. The NIR spectra of homologous series of organic compounds. In: Proceedings international NIR/NIT conference Akademiai Kiado, Budapest, Hungary 1986: 13-28..
40. CLARK, D.H. AND SHORT, R.E. Comparison of AOAC and light spectroscopy analyses of uncooked ground beef. J. Ani. Sci. 1994; 72: 925-931.
41. CALVO C., LÓPEZ M., SÁNCHEZ B., DIOS A. Y SÁNCHEZ L. Predicción de las características de composición de la carne de ovino gallego mediante espectroscopia infrarroja cercana. ITEA. 1997; [Vol. Extra]18: 658-660.
42. HILDRUM K.I., ISAKSSON T., NAES T., NILSEN B.N., RØDBOTTEN M. AND LEA P. Near infrared reflectance spectroscopy in the prediction of sensory properties of beef. J. Nea. Inf. Spe.1995; 3: 81-87.
43. KRUGGEL W.G., FIELD R.A., RILEY M.L., RADLOFF H.D. AND HORTON, K.M. Near-infrared reflectance determination of fat, protein, and moisture in fresh meat. J. Ass. Off. Ana. Che 1981; 64: 692-696.
44. LANZA E. Determination of moisture, protein, fat, and calories in raw pork and beef by near infrared spectroscopy. J. Foo. Sci.1983; 48: 471-474.

45. MITSUMOTO M., MAEDA S., MITSUHASHI T. AND OZAWA S. Near-infrared spectroscopy determination of physical and chemical characteristics in beef cuts. *J. Food Sci.* 1991; 56: 1493-1496.
46. SANDERSON, R.; LISTER, S.J.; DHANOA, M.S.; BARNES, R.J. AND THOMAS, C. Use of near infrared reflectance spectroscopy to predict and compare the composition of carcass samples from young steers. *J. Ani. Sci.* 1997; 65: 45-54.
47. COZZOLINO, D. AND MURRAY, I. Effect of sample presentation and animal muscle species on the analysis of meat by near infrared reflectance spectroscopy. *J. Near Inf. Spe.* 2002; 10: 37-44.
48. ALOMAR, D.; GALLO, C.; CASTAÑEDA, M. AND FUCHSLOCHER, R. Chemical and discriminant analysis of bovine meat by near infrared reflectance spectroscopy (NIRS). *J. Meat Sci.* 2003; 63: 441-450.
49. ISAKSSON, T.; NILSEN, B.N.; TØGERSEN, G.; HAMMOND, R.P. AND HILDRUM, K.I. Aproximate analysis of ground beef directly at a meat grinder outlet. *J. Meat Sci.* 1996; 43: 245-253.
50. TOGERSEN, G.; ISAKSSON, T.; NIELSEN, B.N.; BAKER, E.A. AND HILDRUM. NIR analysis of fat, water and protein in industrial scale ground meat batches. *J. Meat Sci.* 1999; 51: 97-102.
51. HERSCHEL, W. Investigation of the powers of the prismatic colours to heat and illuminate objects; with remarks, that prove the different refrangibility of radiant

heat. To which is added, and inquiry into the method of viewing the sun advantageously, with telescopes. Philosophical Transactions of the Royal Society of London 1800; 90: 255-283.

52. HEISE, H.M. AND WINZEN, R. Fundamental chemometric methods. In: Near-Infrared Spectroscopy. Principles, Instruments, Applications. Verlag- Weinheim Germany. 2004:125-162.,

53. SHENK, J.S. AND WESTERHAUS, M.O. The application of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) to forage analysis. In: Forage Quality, Evaluation and Utilization 1995:406-449.

54. MURRAY, I. AND WILLIAMS, P.C. Chemical principles of near-infrared technology. In: Near Infrared Technology in the Agricultural and Food Industries Minnesota, USA. 1987: 17-34.

55. BOKOBZA, L. Near infrared spectroscopy. J. Near Inf. Spe. 1998; 6: 3-17.

56. OSBORNE, B.G. AND FEARN, T. Near Infrared Spectroscopy in Food Analysis. Longman Scientific and Technical, Harlow, Essex, UK. 1986.

57. WOODEOCK T, DOWNEY G, O' DONNELL C. Better quality food and beverages. J. Near Inf. 2008; 16: 1, 8-32.

58. MONNIN G. Recent methods for predicting quality of whole meat. J. Meat Sci. 1998; 49 (suppl. 1): 231-243.

59. GARRIDO A, GOMEZ A, GUERRERO JE, FERNANDEZ V, DE BLAS, C MATEOS, G G REBOLLAR, editor. NIRS: Una tecnología de apoyo para un servicio integral en Alimentación Animal. En: Avances en Alimentación y Nutrición Animal Madrid, España: FEDNA,1996 ;275-300.
60. BEN-GERA, I. AND NORRIS, K.H. Direct spectrophotometric determination of fat and moisture in meat products. J. Food Sci. 1968; 33: 64-67.
61. DAVIS A. AND A. GRANT. Near infrared analysis of food. J. Food Sci. 1987; 22:191-207.
62. SHENK J. AND M.O. WESTERHAUS. Analysis of agricultural and food products by near infrared reflectance spectroscopy. Monograph. Infrasoftware International, Port Matilda, PA.1993.
63. GIVENS D.I, J. L. DE BOEVER AND E.R. DEAVILLE. The principles, practices and some future applications of near infrared spectroscopy for predicting the nutritive value of foods for animals and humans. J. Nut. Res. 1997; 10:83-114.
64. GIVENS D.I AND R. DEAVILLE. The current and future role of near infrared reflectance spectroscopy in animal nutrition. J. Agri. 1993; 50:1131-1145
65. WRIGLEY C.W. Potential methodologies and strategies for the rapid assessment of feed-grain quality. J.Agri.1999; 50:789-805.
66. MURRAY I. Near infrared reflectance análisis of forages. En: Recent advances in animal nutrition. 1986:141-156.

67. ALOMAR D. Y R. FUCHSLOCHER. Fundamentos de la espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS) como método de análisis de forrajes. Agro Sur 1998; 26(1):88-104.

68. COZZOLINO D., I. MURRAY AND R. PATERSON. Visible and near infrared reflectance spectroscopy for the determination of moisture, fat and protein in chicken breast and thigh muscle. J. Near Inf. Spe.1996; 4:213-223.

69. OSBORNE B.G., T. FEARN AND P.H. HINDLE. Practical NIR spectroscopy with applications in food and beverage analysis. 2ªEd. Longman Singapore 1993:227

70. GARRIDO A., J. GARCÍA-OLMO Y E. DE PEDRO. Espectroscopía de infrarrojo cercano (NIRS). Una metodología para implementar en sistemas de aseguramiento de la calidad y trazabilidad de productos derivados del cerdo ibérico. Sólo Cerdo Ibérico 2000; 4:39-44.

71. ROSENTHAL B. The near infrared paradigm: will 25 years of research/knowledge hinder near infrared's future?. J. Near Inf. Spe.1996:1-5.

72. DELGADO E. Caracterización cuantitativa y cualitativa de lomo curado de cerdo ibérico, mediante análisis espectral en el infrarrojo cercano (NIRS). Trabajo profesional fin de carrera. E.T.S de Ingenieros Agrónomos.Universidad de Córdoba. España.2003.

73. WILLIAMS P. AND D. SOBERING. How do we do it: a brief summary of the methods we use in developing near infrared calibrations. J. Near Inf. Spe.1996:185-188
74. SHENK J. AND M.O. WESTERHAUS. . Calibration the ISI way. J. Near Inf. Spec. 1996:198-202.
75. INFRAISOFT INTERNATIONAL. NIRS 3 version 3.00. Routine Operation, calibration and Network System Management Software for Near Infrared Instruments. Sylver Spring, MD. 1992:328.
76. ELLEKJAER M., T. ISAKSSON AND R. SOLHEIM. Assessment of sensory quality of meat sausages using near-infrared spectroscopy. J. Food Sci.; 1994 59:456-464.
77. TOGERSEN G. , T. ISAKSSON, B.N. NILSEN, E.A. BAKKER AND K.I. HILDRUM. On line NIR analysis of fat, water and protein in industrial scale ground meat batches. J. Meat Sci. 1999; 51:97-102.
78. RODBOTTEN, R. Prediction of quality attributes from early post mortem near infrared reflectance spectra. J. Food Chem. 2000; 69: 427-436
79. COZZOLINO D., D. DE MATTOS AND D. VAZ MARTINS. Visible/near infrared reflectance spectroscopy for predicting composition and tracing system of production of beef muscle. J. Ani. Sci. 2002; 74: 477-484.

80. YOUNG, O.A.; BERKER, G.J. AND FROST, D.A. Determination of collagen solubility and concentration in meat by near infrared spectroscopy. J. Mus. Foo.1996; 7: 377-387.
81. BRØNDUM, J.; MUNCK, L.; HENCKEL, P.; KARLSSON, A.; TORNBERG, E. AND ENGELSEN, S.B. Prediction of water-holding capacity and composition of porcine meat by comparative spectroscopy. J. Meat Sci. 2000; 55: 177-185.
82. RENDEN, J.A.; OATES, S.S. AND REED, R.B. Determination of body fat and moisture in dwarf hens with near infrared reflectance spectroscopy. Poultry Science1986; 65: 1539-1541.
83. VALDES, E.V. AND SUMMERS, J.D. Determination of crude protein in carcass and breast muscle samples of poultry by near infrared reflectance spectroscopy. J. Pou. Sci. 1986; 65: 485-490.
84. ABENI, F. AND BERGOGLIO, G. Characterization of different strains of broiler chicken by carcass measurements, chemical and physical parameters and NIRS on breast muscle. J. Meat Sci.2001; 57: 133-137.
85. VAN KEMPEN, L. Infrared technology in animal production. World's J. Pou. Sci. 200; 57: 29-48.
86. P. GONZÁLEZ-REDONDO, L. VELARDE GÓMEZ, L. GUERRERO HERRERO Y V.M. FERNÁNDEZ-CABANÁS Composición química de la carne de conejo silvestre (*Orytolagus Cuniculus*) y viabilidad de su predicción mediante espectroscopia de infrarrojo cercano. Rev. ITEA 2010; 106 (3), 184-196

87. MASOERO, G.; XICCATO, G.; DALLE ZOTTE, A.; PARIGI BINI, R. AND BERGOGLIO, G. Analysis of freeze-dried rabbit meat by NIRS. *J. Zoo. Nut. Ani.* 1994; 20: 319-329.
88. ISAKSSON, T.; NILSEN, B.N.; TØGERSEN, G.; HAMMOND, R.P. AND HILDRUM, K.I. Proximate analysis of ground beef directly at a meat grinder outlet. *J. Meat Sci.* 1996; 43: 245-253.
89. VILJOEN, M.; HOFFMAN, L.C. AND BRAND, T.S. Prediction of the chemical composition of freeze dried ostrich meat with near infrared reflectance spectroscopy. *J. Meat Sci.* 2005; 69:255-261.
96. LANZA, E. Determination of moisture, protein, fat, and calories in raw pork and beef by near infrared spectroscopy. *J. Food Sci.* 1983; 48: 471-474
97. SOLÍS, M.; DE PEDRO, E.; GARRIDO, A.; SILIÓ, J.G.L.; RODRÍGUEZ, C. Y RODRIGÁÑEZ, J. Evaluación de la composición del lomo de cerdo ibérico mediante la tecnología NIR. *ITEA.*2001; Vol. Extra 22: 613-615.
98. PREVOLNIK, M.; CANDEK-POTOKAR, M.; ŠKORJANC, D.; VELIKONJABOLTA, Š.; ŠKRLEP, M.; ŽNIDARŠIČ, T. AND BABNIK, D. Predicting intramuscular fat content in pork and beef by near infrared spectroscopy. *J. Near Inf. Spe.*2005; 13: 77-85.
99. PARK, B.; CHEN, Y.R.; HRUSCHKA, W.R.; SHACKELFORD, S.D. AND KOOHMARAIE, M. Near infrared reflectance analysis for predicting beef longissimus tenderness. *J. Ani. Sci.* 1998; 76: 2115-2120.

100. HOVING-BOLINK, A.H; VEDDER, H.W.; MERKS, J.W.M.; DE KLEIN, W.J.H.; REIMERT, H.G.M.;FRANKHUIZENE, R.; VAN DEN BROEKB, W.H.A.M. AND EN LAMBOOIJ, E. Perspective of NIRS measurements early post mortem for prediction of pork quality. J. Meat Sci.2005, 69: 417-423.
101. ZELTEX, INC.®, Calibration Manual for the Windows-Based Software Section. Calibrating a Zeltex Instrument Maryland Hagerstown. 2002: 1-15.
102. NAES T. AND T. ISAKSSON. Selection of samples for near infrared spectroscopy. Part I: General principles illustrated by examples. J. App. Spe.1989; 43:328-335.
103. PELDOZA A. C. Desarrollo de ecuaciones de calibración para predecir la composición nutricional de ensilaje de pradera mediante espectroscopía de reflectancia en el infrarrojo cercano (NIRS). Tesis Lic. Agr. Valdivia, Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias.1999.
104. DELGADO, E.J.; RUBIO, M.S.; ITURBE, F.A.; MÉNDEZ, R.D.; CASSÍS, L. AND ROSILES, R. Composition and quality of Mexican and imported retail beef in Mexico. Meat Sci. 2005; 69: 465-471.
105. LAWRENCE, T.L.J. AND FOWLER, V.R. Growth of Farm Animals Tissues Wallingford, UK 1997:26-101.
106. MAHER, S.C.; MULLEN, A.M.; MOLONEY, A.P.; DRENNAN, M.J.; BUCKLEY, D.J. AND KERRY, J.P. Colour, composition and eating quality of beef from the progeny of two Charolais sires. Meat Sci. 2004; 67: 73-80.

7. FIGURAS

FIGURA 1. Producción de carnes en México 2010.....	8
FIGURA 2. Distribución porcentual de la producción mundial de cárnicos 2009.....	9
FIGURA 3. Cambios que ocurren en el organismo después del sacrificio.....	11
FIGURA 4. Cambios que ocurren en la carne relación hr-pH.....	12
FIGURA 5. Esquematización de las proteínas que conforman al músculo.....	16
FIGURA 6. Espectro electromagnético.....	24
FIGURA 7. Comportamiento de las moléculas en la región del infrarrojo.....	25
FIGURA 8. Espectro electromagnético de carne de bovino.....	26
FIGURA 9. Diagrama de operación para software zeltex 550.....	42
FIGURA 10. Distribución de los valores para humedad obtenido por el método de liofilización.....	47
FIGURA 11. Distribución de los valores de grasa obtenidos por el método soxhlet.....	48

FIGURA 12. Distribución de valores de proteína obtenidos por el método kjeldahl.....	49
FIGURA 13. Distribución de valores de energía obtenidos por el método bomba calorimétrica adiabática.....	50
FIGURA 14. Distribución de los valores de cenizas obtenidos por el método calcinación en mufla.....	50
FIGURA 15. Espectro electromagnético de la carne de bovino.....	51
FIGURA 16. Colección de espectros electromagnéticos en carne de bovino.....	52
FIGURA 17. Coeficientes de correlación de los componentes de la carne obtenidos por el método NIR etapa de calibración.....	60
FIGURA 18. Coeficientes de correlación de los componentes de la carne obtenidos por el método NIR etapa de valoración externa....	62

8. CUADROS

CUADRO 1. Composición química en porcentaje de la carne.....	13
CUADRO 2. Contenido en porcentaje de los componentes de proteínas musculares.....	17
CUADRO 3. Contenido nutricional en 100 g de carne.....	19
CUADRO 4. Clasificación de los métodos y condiciones, para analizar carne según AOAC.....	20
CUADRO 5. Factores de conversión de nitrógeno a proteína en algunos alimentos.....	22
CUADRO 6. Parámetros estadísticos de la composición química de carne de bovino en México expresados en base húmeda.....	48
CUADRO 7. Relación de las constantes recomendadas para la calibración de un equipo NIR en muestra congelada.....	55
CUADRO 8. Relación de las constantes recomendadas para la calibración de un equipo NIR en muestra descongelada.....	56

CUADRO 9. Resultado de la composición química de la carne de bovino en México analizado por método NIR etapa de calibración.....57

CUADRO 10. Resultado de la composición química de la carne de bovino en México analizado por método NIR etapa de valoración externa.....60