



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA
PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL**

EVALUACIÓN DEL EFECTO DE LA LIOFILIZACIÓN EN LA ESTABILIDAD
DE LAS PROPIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS Y TERMODINÁMICAS
DE LAS PROTEÍNAS DE CARNE DE CERDO

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

JONATHAN CORIA HERNÁNDEZ

TUTORA

ADRIANA LLORENTE BOUSQUETS

UNAM FES-C

COMITÉ TUTOR

ROSALÍA MELENDEZ PÉREZ

UNAM FES-C

EDITH PONCE ALQUICIRA

MAESTRÍA EN CIENCIAS DE LA PRODUCCIÓN Y DE LA SALUD ANIMAL

JOSÉ LUIS ARJONA ROMÁN

UNAM FES-C

MÉXICO, D.F.

ABRIL, 2014



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México por abrirme nuevamente las puertas al conocimiento desde la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán y la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.

Al programa de posgrado en Ciencias de la Producción y de la Salud Animal.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca **447128** otorgada durante el periodo 2012 - 2014.

Al Comité tutor por el apoyo, consejos y recomendaciones en la realización del proyecto.

Al H. jurado revisor conformado por el Dr. J. Francisco Montiel Sosa, Dra. Adela Rodríguez Romero, Dr. Miguel A. Costas Basín y Dr. Carlos J. Jaramillo Arango por sus comentarios acerca del trabajo presentado.

A los proyectos:

- PACIVE NCONS-09 *“Ciencia, tecnología de la carne y productos cárnicos”*
- DGAPA PAPIME PE 202010 *“Taller de procesos tecnológicos y control de calidad de productos cárnicos”*
- DGAPA PAPIIT IT 202312-3 *“Aplicación de alternativas de bioconservación y conservación para mejorar la calidad de la carne y los productos cárnicos”*
- DGAPA PAPIIT IT 203314-2 *“Efecto de las condiciones de pre-tratamiento por ultrasonido a la congelación - descongelación y secado - rehidratación en el comportamiento térmico y de difusión másica en alimentos”*

Este proyecto fue realizado en el Laboratorio 7 de Bioconservación y en el Laboratorio 13 de Análisis térmico y estructural de alimentos, ubicados en la Unidad de Investigación Multidisciplinaria de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.

Cuando quieras emprender algo, habrá mucha gente que te dirá que no lo hagas, cuando vean que no te pueden detener, te dirán como lo tienes que hacer, y cuando finalmente vean que lo has logrado, dirán que siempre creyeron en ti. Maxwell

No es el más fuerte ni el más inteligente el que sobrevive, si no el más capaz de adaptarse a los cambios. Darwin

Dedicatorias

Agradezco y bendigo cada momento y experiencia que he compartido con ustedes, porque gracias a ello soy la persona que siempre he querido ser, los amo con todo mi corazón y mi alma, Martha, Diana, Marco, Ángela, Laura, Eduardo, Michelle y Yara, ustedes son la razón de mi existir y un gran ejemplo a seguir.

A quien me ha abierto las puertas de su casa, confianza y corazón, y puedo considerar como mi familia; Sra. Mary, Sr. Felipe, Viviana, Luis y mi invaluable amiga y hermana Alejandra, junto a Baruc y la princesa Ximena, los adoro y quiero.

Dra. Adriana Llorente nunca me cansaré de agradecer todo el apoyo brindado en mi formación profesional y personal todos estos años, por incluirme y hacerme sentir parte importante de su equipo de trabajo, brindándome la confianza en todos los sentidos existentes y siendo un ejemplo a seguir, este proyecto y ninguno de mis éxitos profesionales tendría existencia sin su apoyo, comprensión y cariño.

A quienes sin duda han sido mi motor de sabiduría, paciencia y entendimiento acerca de muchas cosas de la vida misma, Dra. Rosalía Meléndez y Dra. Marta Rosas, plasmar en unas líneas lo mucho que las quiero es imposible, pocas personas me inspiran tanta admiración y orgullo como ustedes, ya que no solo han contribuido profesionalmente, si no han rebasado el límite hasta el territorio personal donde sus consejos han sido una cátedra de vida, se han convertido en mis compañeras, cómplices y amigas. Las adoro y respeto.

A mi mentor y maestro al cual quiero, respeto, admiro incondicionalmente y del cual he aprendido mucho todos estos años, gracias Dr. José Luis Arjona por inspirarme a seguir sus pasos y brindarme la confianza para poder trabajar a lado suyo.

Maestra Anita De la Cruz, gracias por ser mi profesora, compañera de trabajo y amiga incondicional, el cariño y aprecio que le tengo no tiene descripción alguna.

Gracias por compartir esta etapa a mi lado y mostrarme realmente lo valioso que es tener una amiga extraordinaria que siempre encuentra esas palabras de aliento para superar y sobrellevar los retos de cada día. Te quiero mucho Ana Elvia.

*El que cree, crea; el que crea, hace; el que hace, se transforma a sí mismo y a la sociedad en la que vive. Proverbio maya
Investigar es ver lo que todo el mundo ha visto, y pensar lo que nadie más ha pensado. Albert Szent-Györgi*

A quienes hicieron mi estancia en el posgrado muy amena y divertida Karla Mariana, Ari, Chris, Bety, Bruno, Patxi y Aura convivir y compartir con ustedes ha sido una experiencia inolvidable, he conocido a grandes personas de las cuales estoy orgulloso y no dudo que son los mejores maestros y amigos que he podido conocer a lo largo de mi formación científica y sin duda mi formación personal.

Agradezco a mis compañeros de trabajo que han compartido estos momentos a mi lado dándome lecciones importantes, Víctor Ávalos y Laura Cortázar.

Karla y Made, el tiempo y el espacio no han favorecido últimamente, pero aun así saben que las quiero y extraño mucho, gracias por impulsarme a un nuevo ciclo de aprendizaje.

A quien me ha devuelto la sonrisa y fe, iluminando cada instante con su compañía y comprensión, quien me ha demostrado estar a mi lado sin importarle nada, siempre brindándome palabras de aliento, soñando a mi lado y haciendo de mi mundo el mejor lugar de vida motivándome a ser mejor persona con sus consejos, enseñanzas y amor. Gracias Ricardo Hernández por confiar en mí, te amo profunda e infinitamente.

Honro el lugar en tu interior, en el que mora el universo entero. Honro el lugar en tu interior, donde habitan el amor, la verdad y la paz. Cuando estas en ese lugar, y yo estoy en ese lugar... somos uno. Poema Huichol

Sé impecable con la palabra. No tomes nada en forma personal. No adivines ni supongas. Haz siempre lo máximo, lo mejor que puedas. 4 Acuerdos Toltecas

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	III
ÍNDICE DE FIGURAS	IV
RESUMEN	VI
ABSTRACT	VII
INTRODUCCIÓN	VIII
1. MARCO TEÓRICO	1
1.1. Ultraestructura e histología del tejido muscular	1
1.2. Transformaciones bioquímicas	6
1.3. Carne de cerdo	9
1.4. Atributos de calidad de la carne	10
1.5. Proteínas cárnicas	16
1.5.1. Proteínas miofibrilares	17
1.5.2. Proteínas sarcoplásmicas	22
1.5.3. Proteínas del tejido conectivo	25
1.6. Desnaturalización de proteínas	27
1.7. Métodos de conservación de la carne	29
1.7.1. Por efectos de bajas temperaturas	30
1.7.1.1. Congelación	32
1.7.2. Por efectos de la ausencia de agua	36
1.7.2.1. Liofilización	36
1.8. Técnicas de evaluación de la calidad de la carne	43
1.8.1. Espectrofotometría	43
1.8.1.1. Color	47
1.8.2. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)	54
JUSTIFICACIÓN	64
HIPÓTESIS	64
2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL	65
2.1. Objetivos	65
2.1.1. General	65
2.1.2. Particulares	65
2.2. Variables	65
2.2.1. De control	65
2.2.2. De respuesta	66
2.2.3. Niveles de variación	66
2.2.4. Unidades experimentales	66
2.3. Materiales y métodos	66
2.3.1. Manejo de la materia prima	66
2.3.1.1. Corte de la carne	66
2.3.1.2. Proceso de congelación-descongelación	67
2.3.1.3. Proceso de liofilización	69
2.3.1.4. Proceso de rehidratación	69

2.3.2. Análisis químico proximal	70
2.3.3. Análisis fisicoquímicos	76
2.3.4. Análisis de parámetros de perfil de color por espectrofotometría	77
2.3.5. Análisis microscópico	80
2.3.6. Análisis térmico por calorimetría TMDSC	80
3. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	83
3.1. Análisis químico proximal (AQP)	83
3.2. Análisis fisicoquímicos	83
3.3. Parámetros de perfil de color	84
3.4. Microscopía de campo claro	97
3.5. Análisis térmico por calorimetría TMDSC	99
CONCLUSIONES	115
BIBLIOGRAFÍA	117

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1	Composición nutrimental de la carne de cerdo	10
Cuadro 2	Fenómenos de transporte involucrados en el proceso de congelación de carne	35
Cuadro 3	Comparación entre la liofilización y la deshidratación convencional	42
Cuadro 4	Tipos de efectos detectados en el DSC	58
Cuadro 5	Señales que se pueden seleccionar en el MTDSC	62
Cuadro 6	Resultados del Análisis Químico Proximal	83
Cuadro 7	Resultados de los análisis físico-químicos de la carne	84
Cuadro 8	Resultados de los parámetros de perfil de color en el sistema CIE	85
Cuadro 9	Fracción de mioglobina superficial en carne de cerdo	94
Cuadro 10	Dimensiones de las fibras de carne y cristales salinos	99
Cuadro 11	Análisis de regresión para obtener velocidades de fusión del hielo	100
Cuadro 12	Temperaturas de desnaturalización y gastos energéticos para miosina	106
Cuadro 13	Temperaturas de desnaturalización y gastos energéticos de proteínas sarcoplásmicas y colágeno	107
Cuadro 14	Temperaturas de desnaturalización y gastos energéticos para actina	108

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1	Clasificación del músculo de acuerdo a la orientación de sus fibras	3
Figura 2	Organización de la fibra muscular	4
Figura 3	Sarcómero de la fibra muscular	6
Figura 4	Diagrama de los cambios bioquímicos en la transformación de músculo en carne	7
Figura 5	Velocidad relativa de las reacciones degradativas en función de la actividad del agua	13
Figura 6	Representación de la molécula de miosina	18
Figura 7	Mecanismo de contracción y relajación del músculo	19
Figura 8	Reacciones de polimerización - despolimerización de la actina	20
Figura 9	Representación de la molécula de F-actina	21
Figura 10	Representación de la molécula de mioglobina	22
Figura 11	Reacciones químicas sufridas por la mioglobina	24
Figura 12	Representación de la molécula de colágeno	26
Figura 13	Etapas de la desnaturalización de proteínas	27
Figura 14	Comportamiento cinético del proceso de congelación del agua pura y de un sistema biológico (carne)	34
Figura 15	Esquema del proceso de deshidratación por congelación y vacío	37
Figura 16	Funcionamiento de un espectrofotómetro de reflectancia	46
Figura 17	Espectro de luz visible	49
Figura 18	Espacio tridimensional de los atributos de color	50
Figura 19	(a) Carne de cerdo empacada de acuerdo a los lineamientos de la AMSA; (b) Geometrías de carne de cerdo	67
Figura 20	Cámara de congelación REVCO ULTIMA II	68
Figura 21	Cámara de refrigeración vertical Nieto	68
Figura 22	Liofilizadora LABCONCO Freezone 4.5	69
Figura 23	Equipo para la destilación azeotrópica	71
Figura 24	Mufla Linderberg SB para incineración directa	72
Figura 25	Solubilización de lípidos Werner-Schmidt	74
Figura 26	Digestor micro-Kjeldahl	76
Figura 27	Potenciómetro Orion 5-Star	77
Figura 28	Higrómetro de punto de rocío para Aw en carne	77
Figura 29	Espectrofotómetro Konica Minolta CM 600d	79
Figura 30	Muestra de carne en la celda de cuarzo	79
Figura 31	Calorímetro TMDSC TA Instruments 2920	81
Figura 32	Valor promedio de L* de carne a diversos procesos	86
Figura 33	Valor promedio de a* de carne a diversos procesos	88
Figura 34	Valor promedio de b* de carne a diversos procesos	89
Figura 35	Valor promedio de C* de carne a diversos procesos	90

Figura 36	Valor promedio de h^* de carne a diversos procesos	91
Figura 37	Espectro de % Reflectancia vs. Longitud de onda (nm)	93
Figura 38	Espectro de Absorbancia vs. Longitud de onda (nm)	95
Figura 39	ANOVA de 2 vías para las fracciones de mioglobina existentes en función del proceso	96
Figura 40	Micrografías de carne refrigerada a 40x	98
Figura 41	Micrografía de carne liofilizada a 20x	99
Figura 42	Fracción de agua no congelada vs. Tiempo	101
Figura 43	Flujo de calor en congelación de carne	102
Figura 44	Comportamiento de calor específico (C_p) durante el cambio de fase	103
Figura 45	Flujo de calor total de extractos de proteínas (a)Proteínas miofibrilares; (b)Colágeno	104
Figura 46	Termogramas de flujo de calor de carne de cerdo (a)refrigerada; (b)congelación en cámara REVCO; (c)congelación en MTDSC; (d)liofilizada-rehidratada	106
Figura 47	Estadístico del flujo de calor, tratamiento y la temperatura	109
Figura 48	Calor específico para carne de cerdo (a)Refrigerada; (b)Congelación lenta (Cámara REVCO); (c)Congelación rápida (TMDSC); (d)Liofilizada-rehidratada	110
Figura 49	Estadístico del calor específico, tratamiento y la temperatura	111
Figura 50	Derivada del flujo de calor total en función a la temperatura para carne de cerdo	112
Figura 51	Estadístico de la derivada de flujo de calor en función de la temperatura	113

RESUMEN

La deshidratación por congelación al vacío es un método utilizado para la conservación de alimentos, que involucra al menos dos diferentes transiciones, la congelación y la sublimación del agua interna del producto; todo esto por efectos de los diferentes fenómenos de transporte (materia, energía y momento). Estos procesos han sido aplicados en diferentes productos alimentarios, siendo el área cárnica poco investigada. En este trabajo se evaluó la liofilización de la carne de cerdo desde un punto de vista físico, químico y termodinámico, donde se revisaron los cambios ocurridos en cada etapa, como los efectos generados por las variaciones en los parámetros de perfil de color y la reflectancia, donde se encontró que la deshidratación favorece la formación de cristales salinos de aproximadamente 17.5 μm en promedio sobre las fibras cárnicas, lo que se tradujo en una mayor reflexión de la luz y de la existencia de valores de luminosidad (L^*) entre las 80 y 90 unidades, ocasionando que la apreciación visual y los cambios totales en color fueran mayores en comparación a muestras descongeladas o rehidratadas. El mismo fenómeno se observó en las muestras congeladas, aunque en este caso, debido al estado físico en el que se encuentra el agua estructural. Se hizo un análisis de las fracciones de la mioglobina superficial en cada muestra y se encontró que en la muestra refrigerada la mayor cantidad fue de desoximioglobina con 38.84% y en la rehidratada corresponde a la metamioglobina con 44.54%. Termodinámicamente se encontró que las temperaturas de desnaturalización de las principales proteínas cárnicas no varían en función de la etapa del proceso, pero si se revelan cambios estructurales en los valores del C_p y de la derivada en función de la temperatura del flujo de calor. De este modo se determinó que la miosina desnaturaliza en un intervalo de 53 a 55 $^{\circ}\text{C}$, la actina entre 76 y 79 $^{\circ}\text{C}$ y las proteínas sarcoplásmicas y el colágeno entre 63 y 66 $^{\circ}\text{C}$. Así mismo se calculó la fracción de agua no congelada y con ello se obtuvo la velocidad de fusión y generación de cristales de hielo en la estructura cárnica, donde se indica que la carne inicia el proceso de congelación a los -16.54 $^{\circ}\text{C}$ y finaliza dicha reacción a los -18.16 $^{\circ}\text{C}$.

ABSTRACT

Freeze vacuum dehydration is a method used for food preservation, which involves at least two different transitions, the freezing and the sublimation of the internal water product; all of this for different phenomena of transport (matter, energy and time). These processes have been applied in different food products, being the meat area little researched. This study assessed the freeze-drying of pork from a physical, chemical and thermodynamic point of view, where we reviewed the changes at each stage, as the effects generated by variations in color and reflectance profile parameters, where it found that dehydration favours the formation of crystals saline of approximately 17.5 μm on average over the meat fibers, which resulted in a further reflection of the light and the existence of brightness values (L^*) between 80 and 90 units, causing that the visual appreciation and total changes in color were higher compared to samples thawed or rehydrated. The same phenomenon was observed in frozen samples, although in this case, due to the physical state in which structural water is found. An analysis of fractions of surface Myoglobin in each sample was made and found that in the sample cooled the most was desoximioglobin with 38.84% and in the rehydrated corresponds to the metmyoglobin with 44.54%. Thermodynamically found that the main meat protein denaturation temperatures do not vary depending on the stage of the process, but if they reveal structural changes in the values of C_p and the derived according to the temperature of the heat flow. Thus, it was determined that myosin denatures proteins and in the range of 53 to 55 $^{\circ}\text{C}$, the actin between 76 and 79 $^{\circ}\text{C}$ sarcoplasmics and collagen between 63 and 66 $^{\circ}\text{C}$. Thus mism likewise we calculated the fraction of non-frozen water and thereby obtained speed fusion and generation of ice crystals in the meat structure, indicating that the meat begins the process of freezing at -16.54 $^{\circ}\text{C}$ and ends this reaction at -18.16 $^{\circ}\text{C}$.

INTRODUCCIÓN

La producción de carne de cerdo a nivel mundial en 2012 fue de 111.7 millones de toneladas, de acuerdo con la SAGARPA y el Consejo Mexicano de la Carne, la producción de carne de cerdo en a nivel nacional fue de 1.5 millones de toneladas, 21.97% del total de producción de carne en México se consume en estado fresco y tan solo el 11.55% se procesa, lo que conlleva a la necesidad de establecer técnicas de conservación apropiadas para este producto, que permitan además evitar alteraciones en sus características físicas, químicas y organolépticas.

Normalmente la carne de cerdo se consume en estado refrigerado como plato principal, o en muchos subproductos como embutidos, madurados, cocidos entre otros; existiendo una gran necesidad de alargar su vida útil mediante el uso de varios procesos de conservación.

La carne es un producto con alto valor económico por lo que la importancia de conservarla en las mejores condiciones posibles para no alterar sus propiedades químicas, físicas, fisicoquímicas, térmicas, nutrimentales, funcionales y sensoriales es imprescindible.

La liofilización o deshidratación por congelación al vacío, es una operación unitaria que involucra una remoción del agua interna de los productos mediante la aplicación de temperaturas de congelación, solidificando el agua estructural para que con el uso combinado de bajas presiones exista un cambio de estado de sólido a vapor conocido como “sublimación”.

En este trabajo de investigación se busca conocer, evaluar y analizar el comportamiento de las proteínas cárnicas en cada etapa del proceso como estrategia viable de aplicar en la carne, permitiendo que con una posterior rehidratación recuperen en gran parte propiedades y características que poseían antes del proceso. De este modo la liofilización puede ser una alternativa de eliminación del agua dando como resultado afectaciones mínimas en las características de la carne así procesada.

Entre los cambios que se desea evitar están los relacionados con las estructuras de las proteínas de la carne, mismas que determinan las propiedades funcionales relacionadas con

su aptitud tecnológica y con los procesos de fabricación, así como con sus atributos de calidad. Entre ellas merecen citarse la capacidad de hidratación y retención de agua, de emulsión de grasa, de gelificación, de formación de espuma, de cohesión, de viscosidad, etc. La estructura de las proteínas está determinada directamente por la termodinámica que siguen estas durante su plegamiento, el cual se ve afectado en tanto se aplican diferentes tratamientos físicos, químicos, mecánicos o enzimáticos que las modifiquen.

1. MARCO TEÓRICO

1.1 Ultraestructura e histología del tejido muscular

La carne es la organización estructural más compleja de todos los alimentos, el estudio de la estructura muscular y sus componentes proteicos es esencial para entender las relaciones entre las propiedades del músculo y su empleo como carne.

Muchas características de calidad de la carne, como la textura, ternura, jugosidad, así como su comportamiento ante los diversos sistemas de conservación, están ligadas a la estructura del sistema proteico muscular, así como a las reacciones químicas que en él ocurren.

Por otra parte, todo aquello que afecte la estructura muscular, fundamentalmente los procesos tecnológicos, se reflejará en las características del producto final. Por lo tanto, conocer detalladamente las macro y microestructuras del músculo y sus modificaciones durante los diferentes procesos ayudará a comprender el comportamiento de la carne y de esta forma incidir para mejorar la calidad del producto final (Xia *et al.*, 2009).

Músculo esquelético

Las canales de los animales están formadas por 3 tejidos fundamentales: muscular, adiposo y óseo. El porcentaje del tejido óseo es de escasa variabilidad. El tejido muscular esquelético da origen a la carne, bien solo, o bien acompañado por el tejido adiposo que contribuye a exaltar ciertas cualidades de la carne. El tejido muscular es uno de los tejidos básicos de los organismos que se asocia con el movimiento y posición del esqueleto y con la contracción de muchos órganos. El tejido muscular esquelético, representa alrededor del 35 al 65% del peso de una canal, y cantidades muy variables de otros tipos de tejido (conectivo, adiposo, nervioso, cartilaginoso y óseo).

El músculo constituye un tejido alta y específicamente organizado, tanto morfológica, como bioquímicamente, cuya finalidad es producir energía química para convertirla en movimiento mecánico y trabajo (Badui, 2006).

Histológicamente el músculo esquelético es un músculo estriado debido al aspecto de las bandas transversales que se observan microscópicamente, las cuales se unen directa o

indirectamente a los huesos, aunque algunos de ellos se unen inicialmente a los ligamentos, fascias, cartílagos o piel. Cada músculo está cubierto por una capa fina de tejido conectivo, la cual se continúa con los componentes tisulares conectivos del interior del músculo. Las fibras nerviosas y los vasos sanguíneos entran y salen del músculo a través de los canales formados por el tejido conectivo, proporcionándole de esta forma un sistema de inervación y un lecho vascular por el aporte de nutrimentos y eliminación de desechos. La canal de los animales está compuesta por más de 600 músculos los cuales varían de forma, tamaño y función, siendo esta última la responsable de las características específicas de cada uno de ellos (Xia *et al.*, 2009).

Los músculos se pueden clasificar atendiendo al color y al tipo de inervación. Según el color, se distinguen 2 tipos:

- Rojo: Rico en mitocondrias y mioglobina, con metabolismo aerobio, oxidativo y que participa en el ciclo de Krebs. Tiene abundante irrigación sanguínea.
- Blanco: Con poco contenido en mitocondrias y mioglobina, metabolismo anaerobio mediante glucólisis anaerobia, tiene poco riego sanguíneo es de contracción y agotamiento rápido (respuesta inmediata) (Badui, 2006).

Como se puede ver en la Figura 1, los músculos también pueden clasificarse de acuerdo a la dirección de las fibras musculares:

- Unipenado: Las fibras sólo van en un sentido. El músculo *Longissimus dorsi* es un claro ejemplo de este tipo de músculo.
- Bipenado: Las fibras van en direcciones convergentes.
- Multipenado: Las fibras van en todas las direcciones sin organización aparente (Badui, 2006).

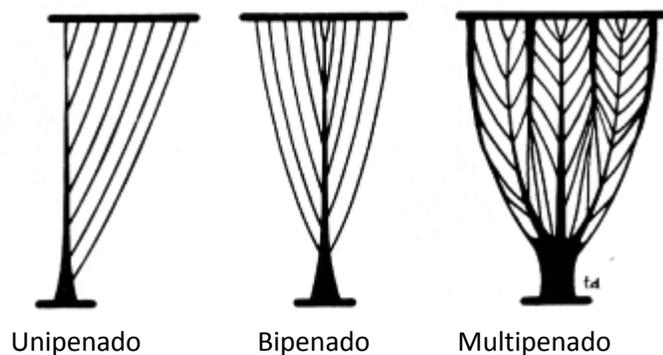


Figura 1. Clasificación del músculo de acuerdo a la orientación de sus fibras

Fuente: <http://dc145.4shared.com/doc/8NogEx01/preview.html>

Fibras musculares

Los músculos estriados constan de fibras musculares, que constituyen la unidad diferenciada del tejido muscular, y que pueden alcanzar hasta 30 cm de longitud, con un diámetro en un intervalo de 10 a 100 μ m dentro de la misma especie e incluso en el mismo músculo (Figura 2). Las fibras musculares están constituidas por células filamentosas multinucleadas altamente especializadas que se encuentran dispuestas paralelamente unas sobre otras, con aspecto estriado que se estrechan por los extremos confluyendo unas con otras en la parte final de los músculos, formando cordones gruesos que normalmente se relacionan con las estructuras óseas (Badui, 2006).

Las fibras están rodeadas por una membrana excitable eléctricamente denominada “sarcolema” (Del griego *sax* o *sarkos* que significa carne y el sufijo *-lema* que es envoltura), es la membrana celular delicada, situada inmediatamente debajo del endomisio. Está compuesto por proteínas y lípidos que le proporcionan un cierto grado de elasticidad, propiedad que le permite soportar grandes distorsiones durante la contracción-relajación y acortamiento de las fibras musculares.

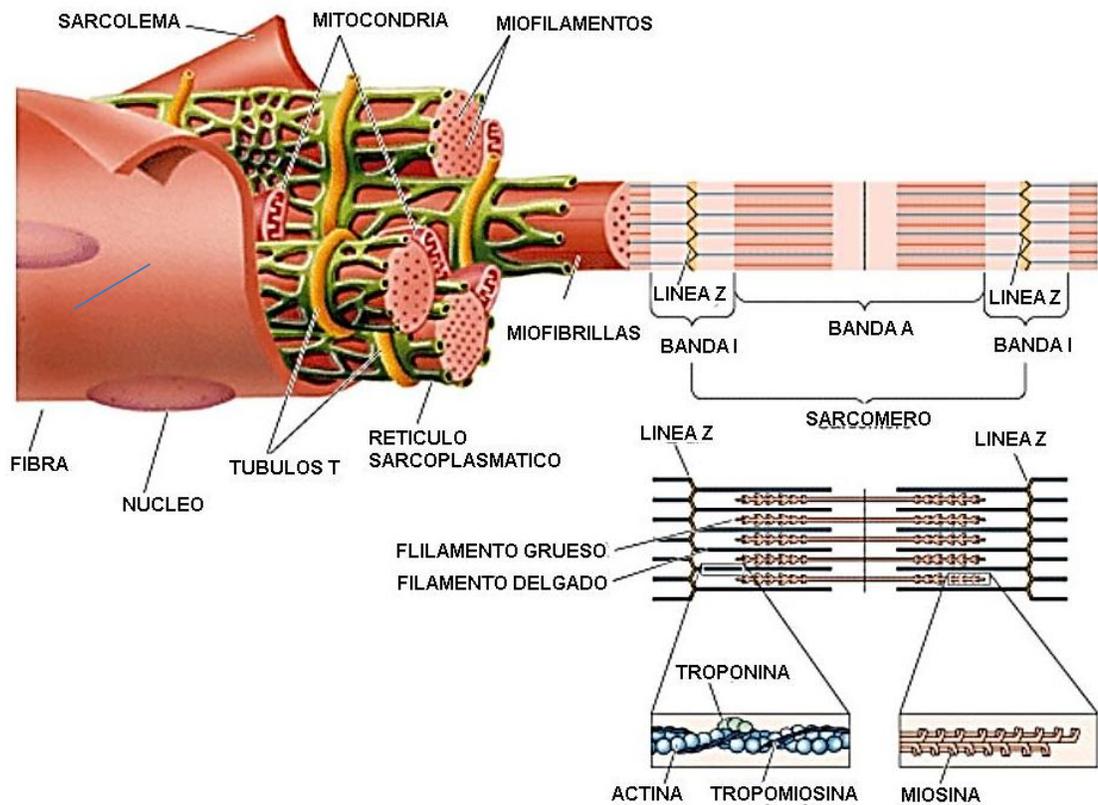


Figura 2. Organización de la fibra muscular

Fuente: <http://4.bp.blogspot.com/-mLM76JOhXDo/Ty6ukl-2PwI/AAAAAAAABWs/NGJLHDM37Cg/s1600/Bandas+Musculares.jpg>

La composición, estructura y propiedades del sarcolema son idénticas a las de cualquier membrana celular. A lo largo de la fibra muscular aparecen periódicamente invaginaciones del sarcolema que forman una red tubular llamado sistema T o túbulos transversos (Lawrie, 1988).

Las *miofibrillas* son organelos propios de las células musculares y ocupan la mayor parte del volumen celular, alrededor del 80%, ellas se contraen en presencia de ATP, confieren la capacidad del movimiento a las células musculares y su estructura es responsable de la estriación transversal. Son elementos largos, contráctiles y cilíndricos de 1 a 2 μm de diámetro, que ocupan toda la longitud de la célula o fibra muscular, están bañadas por el sarcoplasma y están rodeadas de mitocondrias (Lawrie, 1988).

La organización del músculo es esencial para comprender las propiedades de la carne y su comportamiento durante los cambios bioquímicos y estructurales por procesamiento. La estructura de las miofibrillas implica una ordenación múltiple de diversas proteínas que tienen un papel esencial en el mantenimiento y organización de su estructura (Lawrie, 1992; Wu y Xugan, 2007).

Las estriaciones del músculo se deben a la sucesión de segmentos claros y oscuros de las miofibrillas y a su distribución paralela, de forma que las bandas de idénticas características ópticas se disponen a la misma altura en el eje longitudinal. Las bandas claras denominadas *I* (Isótropas) y las bandas oscuras *A* (Anisótropas) que se alternan con regularidad. La región central de la banda *A* es denominada banda *H* y en su centro se encuentra una línea oscura llamada *M*. La banda *I* está cortada por un disco estrecho *Z*, muy denso (Figura 2).

Las miofibrillas están constituidas por una sucesión de sarcómeros, que es el área comprendida entre dos discos *Z* adyacentes y es considerada como la unidad estructural del músculo. Cada sarcómero comprende una banda *A* y dos medias bandas *I* que se localizan a cada lado de la banda *A*. La longitud del sarcómero no es constante y sus dimensiones, al igual que las bandas *I*, dependen del estado de contracción en el momento que se examine el músculo (Figura 2).

La miofibrilla está compuesta por 2 tipos de filamentos, los cuales se clasifican de la siguiente manera:

- Gruesos: Tienen un diámetro aproximado de 150 Å y su componente principal es una proteína llamada “*miosina*” que se encuentra agrupada de manera paralela, además de las proteínas *C* y *M* constituyen la banda *A*.
- Delgados: Su diámetro es de alrededor de 70 Å y se extienden 1 mm aproximadamente a cada lado del disco *Z*, se compone primordialmente de una proteína llamada “*actina*” (Figura 3) (Lawrie, 1992; Wu y Xugan, 2007).

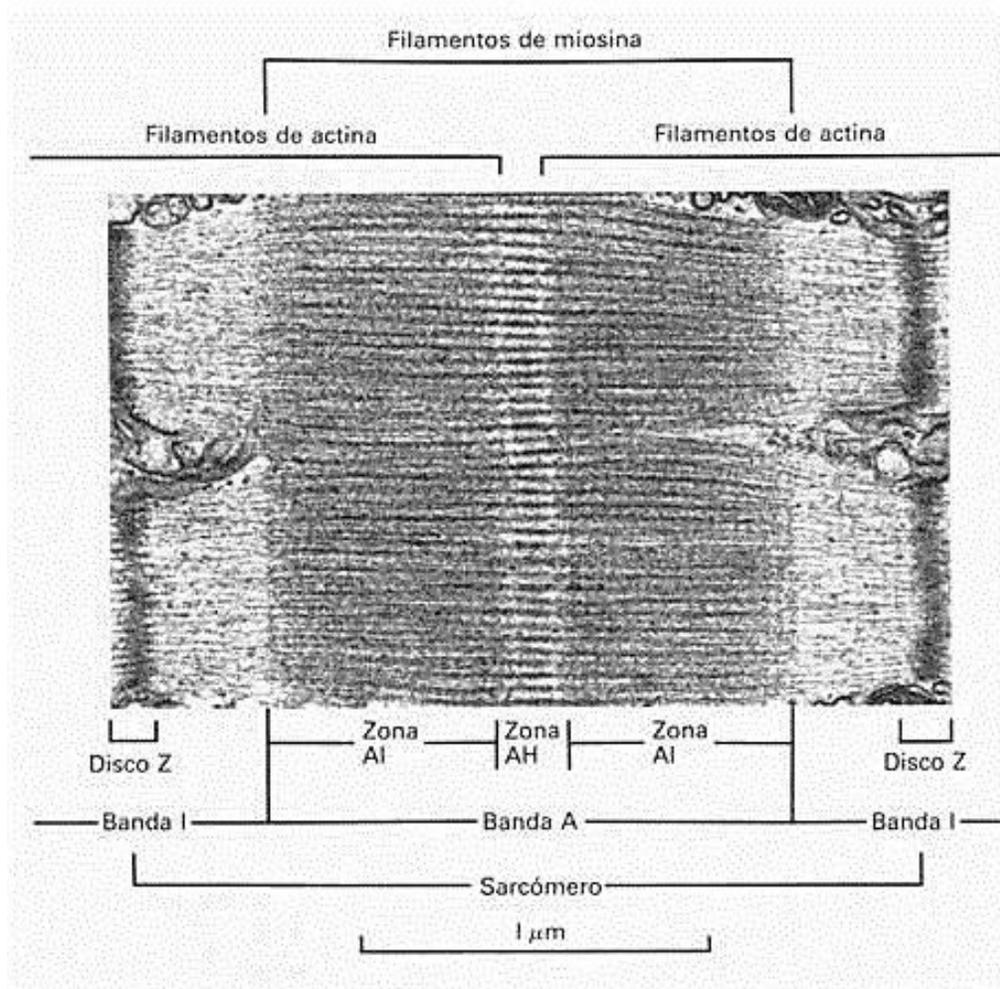


Figura 3. Sarcómero de la fibra muscular

Fuente: <http://morfoudec.blogspot.mx/2008/07/microscopía-virtual-músculo-esquelético.html>

1.2 Transformaciones bioquímicas

El proceso posterior a la muerte del animal de abasto lleva a la transformación gradual del tejido muscular en carne y es de vital importancia conocer todos los cambios que ocurren, este proceso se puede dividir en 3 etapas importantes: *pre-rigor*, *rigor mortis* y resolución, en las cuales ocurren diversos procesos bioquímicos y físico-químicos (Figura 4) (Fenemma, 2010).

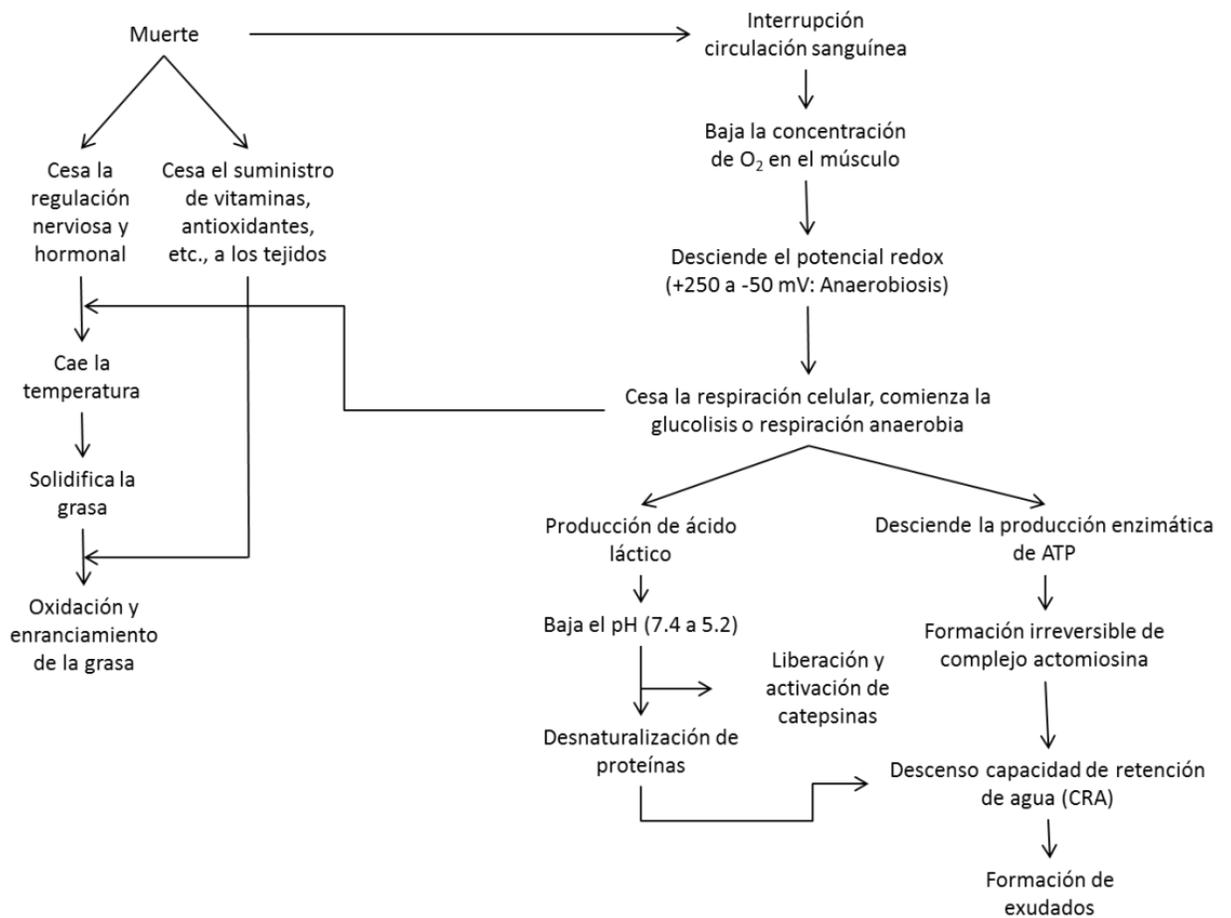


Figura 4. Diagrama de los cambios bioquímicos en la transformación de músculo en carne

Fuente: Fenemma, 2010.

El tiempo en que ocurre esta transformación de músculo en carne, depende de varios factores, particularmente la especie animal y el método de sacrificio. Se deben cuidar de manera especial las condiciones de manejo de los animales *ante* durante y *post-mortem*, para lograr la mejor calidad de la carne, relacionada con las características organolépticas (Fenemma, 2010; Niinivaara y Antila, 1973).

Pre-rigor

Inicia con la muerte del animal ocasionando un paro circulatorio y cardiaco. Tan pronto como la presión sanguínea se reduce, el sistema circulatorio ajusta sus funciones para mantener el abastecimiento de sangre a los órganos vitales, con un aumento de la frecuencia cardiaca y un fenómeno de contracción de las venas y arterias periféricas, llamado vasoconstricción. El sistema circulatorio proporciona oxígeno y nutrimentos al tejido muscular además de eliminar metabolitos de desecho y con la exanguinación, la única fuente de oxígeno para soportar el metabolismo aerobio, es aquel que se encuentra unido a la mioglobina. Posteriormente cuando el oxígeno se agota, el tejido muscular continúa con el metabolismo anaerobio, siendo la glucólisis la única fuente de obtención de energía. Ya establecido el metabolismo anaerobio, las reservas de glucógeno disminuyen y el ácido láctico se acumula en el tejido muscular, lo que conlleva a una reducción del potencial de hidrógeno (pH) que va de valores cercanos a 7 hasta alrededor de 5.3 a 5.7, de acuerdo al manejo, la especie y la raza. Su importancia radica en que el pH tiene una fuerte influencia en sus propiedades físicoquímicas, ya que algunas proteínas como la miosina, puede adoptar diversas conformaciones en función a esta propiedad (Fenemma, 2010).

También cabe resaltar que unido a todos los efectos anteriores, se producen fallos en los mecanismos que controlan la temperatura corporal, por lo que ésta disminuye gradualmente desde valores de 38 a 39 °C; la velocidad con que la temperatura disminuye depende de muchos factores como la especie, el peso, el espesor de la grasa dorsal, la temperatura ambiental y de cámara, etc.

Una rápida acidificación cuando la temperatura corporal es aún elevada, provoca la desnaturalización de proteínas, reducción de su solubilidad y disminución de su capacidad de retención de agua (CRA) (Niinivaara y Antila, 1973).

Rigor mortis

Después de la muerte se pierde el control nervioso, por lo que se observa la aparición de impulsos localizados que inician rápidos ciclos de contracción y relajación muscular, el inicio de esta etapa se presenta poco después de la muerte, en donde el tejido muscular se

encuentra en un estado de rigidez sostenida e inextensible. Los procedimientos que conducen al establecimiento del *rigor mortis* son similares a los que ocurren durante la contracción muscular. Sin embargo, la condición de *rigor* es irreversible como consecuencia del agotamiento de las reservas de ATP que evita la ruptura de las interacciones entre actina y miosina. Al igual que el glucógeno, las reservas de creatina fosfato disminuyen gradualmente debido a que es utilizada para la re-fosforilación de ADP a ATP. El ciclo de contracción-relajación se detiene debido a la falla en los mecanismos que sintetizan ATP, por lo que la elasticidad muscular se pierde paulatinamente hasta llegar a un estado de contracción sostenida por la formación irreversible del complejo acto-miosina (Fenemma, 2010; Niinivaara y Antila, 1973).

Resolución del rigor mortis

Debido a los cambios *post-mortem* las propiedades de membrana de las células se ven alteradas y el tejido es susceptible a degradación autolítica por acción de enzimas proteasas endógenas que debilitan la estructura miofibrilar, entre las que destacan las calpaínas, calpastatinas, catepsinas, serinproteasas, miosinasas y enzimas exógenas. El tejido muscular recupera gradualmente cierta elasticidad debido a la pérdida de su integridad mejorando la textura y formando compuestos precursores del aroma a carne. El aumento en la suavidad se debe a la degradación de proteínas miofibrilares como la titina, nebulina, actina y miosina que da como resultado la pérdida de la tensión y cambios en la estructura de las miofibrillas. Además del debilitamiento de la línea Z por fragmentación de la desmina por efecto de la liberación de fosfolípidos inducidos por la alta liberación de iones Ca^{+2} (Fenemma, 2010; Niinivaara y Antila, 1973).

1.3 Carne de cerdo

Por carne de cerdo se entiende a la estructura compuesta por fibra muscular estriada, que representa alrededor del 40-50% del peso corporal total, acompañada o no de tejido conectivo como grasa, hueso, fibras nerviosas, vasos linfáticos y sanguíneos de la especie *suis*, considerada apta para el consumo humano (NOM-009-ZOO-1994).

La carne de cerdo proviene del animal de la familia *Suidae*. Los cerdos se han domesticado para su consumo desde tiempos prehistóricos. Se registra su uso como alimento ya en el año 3400 a.C., en Egipto y en 2900 a.C., en China. La carne de cerdo tiene una consistencia blanda y es de fibra fina, con un color rosa pálido o bien gris claro. En el cocinado la carne toma siempre este color gris claro, a diferencia de todos los demás tipos de carne (Fenemma, 2010). Además de ser una buena fuente de proteínas de alta calidad contiene vitamina B₁ (tiamina), B₂ (riboflavina), B₃ (niacina), B₆ (piridoxina), B₁₂ (cianocobalamina), potasio, hierro (contiene 50% más que la carne de pollo), magnesio, fosforo, zinc, calcio, y la carne baja en grasa contiene 65 mg de colesterol por cada 100 g, lo que significa, por ejemplo, que un bistec (100 g) de cerdo contiene únicamente el 21.7% del colesterol que se debe consumir diariamente (Cuadro 1) (Wu y Xugan, 2007).

Cuadro 1. Composición nutrimental de la carne de cerdo.

Nutrimento	g/100g de carne
Humedad (g)	70
Proteína (g)	20.7
Grasa (g)	7.1
Ca (mg)	8
P (mg)	2200
Fe (mg)	0.9
Na (mg)	70
K (mg)	350
Tiamina (mg)	0.8
Riboflavina (mg)	0.25
Niacina (mg)	4.5
Piridoxina (mg)	0.45

Fuente: Wu y Xugan, 2007

1.4 Atributos de calidad de la carne

Se define el término “calidad” (Del latín *qualitas*) como el conjunto de características de un producto que le confiere su aptitud para satisfacer las necesidades implícitas y explícitas

para cumplir ciertos requisitos. Dentro del área de los alimentos existe un concepto que se relaciona estrechamente con el antes mencionado y es que la calidad se refiere al grado de excelencia que incluye todas las características que son significativas y hacen aceptable el alimento (Badui, 2009; Fenemma, 2010).

Las características de la calidad de la carne dependen de la finalidad a la que se destine: consumo directo o industrialización; sin embargo, las tendencias actuales obligan a admitir 3 tipos de conceptos de calidad de la carne:

- *Calidad higiénico–sanitaria:* La inocuidad o todo lo que encierra este tipo de seguridad para el consumidor, es el aspecto más importante para el comercio internacional de la carne. Es garantizar total salubridad / seguridad / inocuidad del producto desde su matanza hasta su consumo.
- *Calidad sensorial:* Es otro aspecto muy importante para definir la preferencia de la carne. Es el conjunto de propiedades perceptibles por los sentidos que demandan y cuantifican los consumidores directamente. Siendo así diferentes atributos sensoriales percibidos como un todo, gobiernan la aceptabilidad del producto por parte del consumidor y su disposición de pagar un buen precio para repetir la experiencia. Entre los atributos que más destacan son la terneza, la jugosidad, el color, el sabor y aroma de la carne cocida; de estos, la terneza y el color juegan el papel más decisivo.
- *Calidad nutricional:* Es conocido que la carne es fuente de proteínas de alta calidad, vitamina B₁₂, niacina, potasio, fósforo, hierro de alta absorción, zinc y otros minerales; a las carnes rojas, se atribuye un contenido importante de grasas saturadas y colesterol, cuya ingestión se vincula con las enfermedades cardiovasculares.

Ya desde mucho tiempo atrás era costumbre calificar al animal productor de carne no sólo por su peso, sino por su apariencia y la calidad de su carne. En la calidad de la carne influyen una variada gama de factores, como pueden ser la raza del animal, selección genética a la que ha sido sometido, cruces, manejo de la explotación, alimentación, transporte al matadero, factores de bienestar animal, manejo previo a la matanza como inyección de enzimas proteolíticas, estimulación eléctrica, sangrado y manejo posterior a

ella, tenderización, congelación, distribución de canales y preparación culinaria (Badui, 2009).

Humedad y Actividad de agua

En muchas ocasiones al agua no se le considera un nutrimento porque no sufre cambios químicos durante su aprovechamiento biológico; pero es un hecho que sin ella no pueden llevarse a cabo las innumerables transformaciones bioquímicas propias de todas las células activas (Badui, 2006; Fenemma, 2010).

El término del contenido de agua de un alimento se refiere, en general, a toda el agua de manera global. Sin embargo, en el tejido animal el agua no está uniformemente distribuida por muchas razones. Se sabe que existe una relación entre el contenido de agua de un alimento y su vida útil. Los procesos de concentración y deshidratación se aplican primeramente para reducir el contenido de agua disponible que permite ocurran reacciones de deterioro en los alimentos y simultáneamente aumentar la concentración de solutos para controlar su perecibilidad (Lab Ferrer, 2007).

Se ha observado que diferentes tipos de alimentos con el mismo contenido de agua difieren significativamente en su estabilidad o vida útil. En consecuencia el contenido de agua, por sí solo, no es un indicador real de la estabilidad. Esta situación se atribuye, en parte, a diferencias en la intensidad con la que el agua se asocia con los constituyentes no acuosos. En la Figura 5, se presentan los tres tipos de agua que se encuentran en los alimentos, en tres zonas distintas, según el contenido de humedad, la forma de interacción y las reacciones que ocurren en cada una de ellas. En la zona III con el mayor contenido de *agua libre*, la actividad de agua (a_w) es de 0.8 - 1.0, la mayor velocidad de las reacciones de deterioro son debidas al desarrollo de microorganismos, este tipo de agua debe ser eliminado para poderlas controlar. En la zona II se ejemplifica el agua ligada (a_w 0.25 - 0.8) y las reacciones más importantes son enzimáticas, hidrolíticas y de oscurecimiento. Por último en la zona I se tiene el agua de hidratación ($a_w > 0.25$), también denominada de monocapa, en donde ocurren reacciones de autooxidación principalmente. El agua implicada en asociaciones fuertes (agua de hidratación) es menos susceptible a las

reacciones de deterioro, tales como el crecimiento de microorganismos y las reacciones químicas de hidrólisis, que el agua débilmente asociada (agua libre) (Gómez, 1994; Lab Ferrer, 2007).

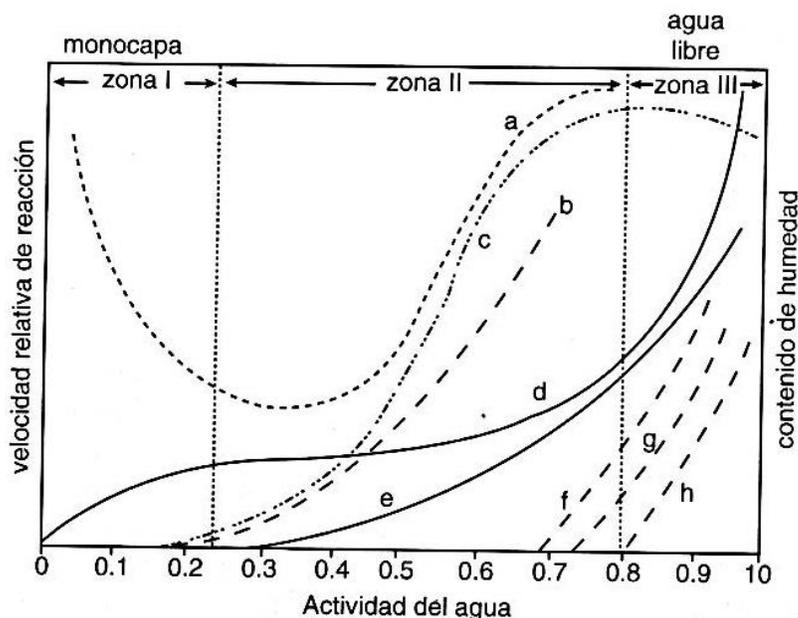


Figura 5. Velocidad relativa de las reacciones de deterioro en función de la actividad del agua. a) Oxidación de lípidos, b) Reacciones hidrolíticas, c) Oscurecimiento no enzimático, d) Isotherma de adsorción, e) Actividad enzimática, f) Crecimiento de hongos, g) Crecimiento de levaduras, h) Crecimiento de bacterias

Fuente: Labuza, 1970

La estabilidad, inocuidad y otras propiedades de los alimentos pueden predecirse a partir de la actividad de agua, que en función del contenido de agua. Aun así, la actividad de agua no es un índice predictivo totalmente exacto. La noción de “Actividad” procede rigurosamente de las leyes de equilibrio termodinámico de Lewis, donde se afirma que:

$$A_w = \frac{f}{f_0} \quad (1)$$

Donde “f” es la fugacidad del solvente de la solución (La fugacidad es la tendencia molecular de un solvente a escapar de una solución) y “f₀” es la fugacidad del solvente puro. A bajas presiones (por ejemplo la presión ambiental), la diferencia entre f/f₀ y p/p₀ es menor del 1%, por lo que la definición de la actividad de agua en términos de p/p₀ es claramente justificable. Por tanto:

$$A_w = \frac{f}{f_0} = \frac{p}{p_0} = \frac{HR}{100} \quad (2)$$

Donde “p” es la presión parcial de vapor de agua del alimento, “p₀” es la presión de vapor del agua pura y “HR” es la humedad relativa. Esta igualdad se basa en condiciones ideales (soluto ideal en solución diluida) y de equilibrio termodinámico. Los alimentos suelen violar ambas condiciones (Badui, 2006; Fenemma, 2010).

La importancia del conocimiento de la actividad de agua en los alimentos ha inducido a organismos internacionales como *Food and Drug Administration* (por sus siglas en inglés *FDA*) de los Estados Unidos de América, al Comité de Expertos de *Food and Agriculture Organization* (FAO), *World Health Organization* (WHO), a recomendar el establecimiento legal de los límites máximos para el valor de Actividad de agua de los alimentos. Los esfuerzos en esta línea requieren el establecimiento de métodos seguros y precisos para la medida y cálculo de la actividad del agua en los alimentos.

El agua es, quizás, el factor individual que más influye en el deterioro de los alimentos. Se ha demostrado que alimentos con el mismo contenido de agua se alteran de forma distinta, por lo que se deduce que la cantidad de agua no es por sí sola una herramienta indicativa del deterioro de los alimentos (Badui, 2006; Gómez, 1994; Lab Ferrer, 2007).

Lípidos

Son aquellos compuestos extraíbles en disolventes orgánicos que presentan ácidos grasos.

En los lípidos de la carne predominan los ácidos grasos libres y esterificados. Los ácidos grasos que se presentan son de cadenas de 2 a 30 carbonos, saturadas y no saturadas en

formas *cis*. Pueden estar esterificados con glicerina, como triacilglicéridos (TAG) más abundantes, diacilglicéridos o monoacilglicéridos (Badui, 2006; Fenemma, 2010).

En los lípidos compuestos de la carne se encuentran los fosfolípidos y la esfingomielina. Los lípidos, después de las proteínas, son los componentes mayoritarios de la carne, tienen gran importancia en las transformaciones bioquímicas que sufren los productos cárnicos.

En la carne se encuentran localizados en el tejido adiposo (subcutáneo e intermuscular, que separan haces de músculos) y en el tejido muscular. Los lípidos se encuentran en adipocitos que están constituidos por un 5 al 20% de agua, 2.5% de tejido conectivo y un 70 a 90% de triacilglicéridos con ácidos grasos saturados en posición 1; no saturados de cadena corta en posición 2 y no saturados de cadena larga en la posición 3 (Badui, 2006; Fenemma, 2010).

Los lípidos del tejido muscular se subdividen en:

- Intramusculares: Forman parte de las fibras musculares, le dan el aspecto del marmoreo y representa del 16 al 35% de la masa muscular. Es más fácilmente alterable al estar en contacto con sustancias del músculo con actividad oxidante. Este tipo de lípidos dan la característica de jugosidad a la carne, además de que sirve como aislante que permite que la carne infiltrada pueda ser sometida a mayores tratamientos térmicos sin pérdida importante de calidad.
- Intracelulares: Forman parte de las mitocondrias, membranas, etc. Se componen principalmente de fosfoglicéridos y lipoproteínas (Badui, 2006; Fenemma, 2010).

Los factores de alteración de las grasas en la carne se presentan de las siguientes formas:

- Hidrolítica: Consiste en la liberación de ácidos grasos por acción de las lipasas y fosfolipasas, principalmente de los microorganismos y por las propias de la carne en menor escala. Esta alteración apenas influye sobre el sabor, pero si se produce, se observa durante la cocción, un mayor desprendimiento de humos, proporcional a la cantidad de ácidos grasos libres presentes.
- Oxidativa: En la carne este tipo de alteración se presenta de 2 formas, la “auto-oxidación” que ocurre en ácidos grasos libres, aunque también en los esterificados y

contiene 3 etapas que son iniciación, propagación y terminación. Y también se presenta como oxidación catalítica que exige un hidroperóxido previo y la intervención de los grupos hemo (Badui, 2006; Fenemma, 2010).

1.5 Proteínas cárnicas

Las proteínas son biomoléculas grandes que se encuentran en todo organismo vivo. Existen muchos tipos y tienen muchas funciones biológicas y sea cual sea su función, todas las proteínas están construidas de unidades de aminoácidos. Constituyen junto con los ácidos nucleicos, las moléculas de información de los seres vivos.

Según su origen, las proteínas del músculo se clasifican en sarcoplásmicas, miofibrilares y del tejido conectivo, de las cuales la mioglobina, la actina, la miosina y el colágeno, son las más importantes en relación a la estructura y calidad de la carne, así como para su aptitud tecnológica para su transformación industrial (Badui, 2006).

La distribución de los principales constituyentes proteicos del músculo es la siguiente:

- Proteínas miofibrilares (54% miosina y 27% actina principalmente): 50%.
- Proteínas sarcoplásmicas (mioglobina, enzimas, etc.): Aproximadamente el 30%.
- Proteínas del tejido conectivo (colágeno, elastina, etc.): aproximadamente el 20%.

Las propiedades funcionales de las proteínas de la carne desempeñan un papel importante en cuanto a la tecnología de alimentos, tanto en lo referente a los procesos de fabricación como por su incidencia en los atributos de calidad del producto final. Entre ellas merecen citarse las capacidades de hidratación y retención de agua, de emulsión de grasa, de gelificación, de formación de espuma, de cohesión, de viscosidad, etc. Las propiedades funcionales difieren según el origen de la proteína y no se dispone de una proteína que reúna todas las características de funcionalidad (Fenemma, 2010).

1.5.1 Proteínas miofibrilares

El conocimiento de las propiedades funcionales de las proteínas miofibrilares (capacidad de retención de agua, de emulsión de grasa y de gelificación) ha sido la base del desarrollo de la industria cárnica moderna.

La capacidad de retención de agua se define como la capacidad de la carne de retener su propia agua durante la aplicación de fuerzas externas, tales como corte, calentamiento, trituración y prensado. La CRA es una propiedad de importancia decisiva en la calidad de la carne, tanto para la destinada al consumo directo como para la destinada a la industrialización. La terneza, jugosidad y color están íntimamente relacionados con esta propiedad (Badui, 2006; Fenemma, 2010).

Se han realizado numerosos estudios, principalmente mediante resonancia magnética nuclear (RMN) para conocer el estado en que se encuentra el agua en los sistemas biológicos. Generalmente se acepta que una parte pequeña del agua del tejido muscular, aproximadamente 5%, está fuertemente unida a las moléculas de proteínas y se le considera como agua de hidratación. Esta agua es difícilmente afectada por las modificaciones que pueda experimentar la proteína miofibrilar, en su estructura y carga eléctrica, de manera que los cambios de la CRA de la carne se suelen relacionar con el restante 95% de agua (Creighton, 1993).

Las proteínas miofibrilares son las principales responsables de la retención del agua por la carne, del orden del 75% y de su estabilidad durante las operaciones de reducción de tamaño. Se considera que el 70% del contenido de agua está ubicado en los espacios existentes entre los filamentos gruesos y delgados de la miofibrilla; del resto, el 20% en el sarcoplasma y el 10% en el tejido conjuntivo y espacios extracelulares (Badui, 2006).

Miosina

La miosina es la más abundante de las proteínas miofibrilares, su identidad fue un tanto confusa durante casi 100 años, hasta que se le dio el nombre en 1859 a una sustancia obtenida del jugo prensado del músculo, la cual forma geles.

Es una molécula altamente asimétrica. Debido a su alto contenido de aspartato y glutamato, y a los aminoácidos básicos (histidina, lisina y arginina), es una molécula altamente cargada y tiene una fuerte afinidad por los iones calcio y magnesio.

La molécula de miosina, de un peso molecular de alrededor de 500 kDa, está constituida por dos cadenas protéicas enrolladas entre sí, que presentan sobre todo hacia uno de sus extremos, varias zonas ricas en α hélice y en el otro extremo varios grupos $-SH$; esta parte, la más voluminosa de la molécula de miosina, es la que actúa en relación con la actina y posee la muy importante característica de una actividad ATP-asa (Niinivaara y Antila, 1973) (Figura 6).



Figura 6. Representación de la molécula de miosina

Fuente: <http://www.rcsb.org/pdb/home> (1B7T), 2013

Un filamento de miosina mide alrededor de 10 nm de diámetro y 1.5 μm de longitud; está constituido por un fascículo de una veintena de moléculas desplazadas la una con relación a la otra aproximadamente unos 6 nm, de tal forma que sus extremidades voluminosas forman proyecciones o “dedos” todos dispuestos en espiral como se aprecia en la Figura 7; estas proyecciones oscilantes son las que realizan la contracción del músculo, ya que se enganchan en los puntos activos de los filamentos de actina, tiran de ellos una cierta distancia (alrededor de unos 10 nm), los sueltan, vuelven a su posición original, se enganchan en otro punto de filamento de actina y así sucesivamente (Creighton, 1993) (Figura 7).

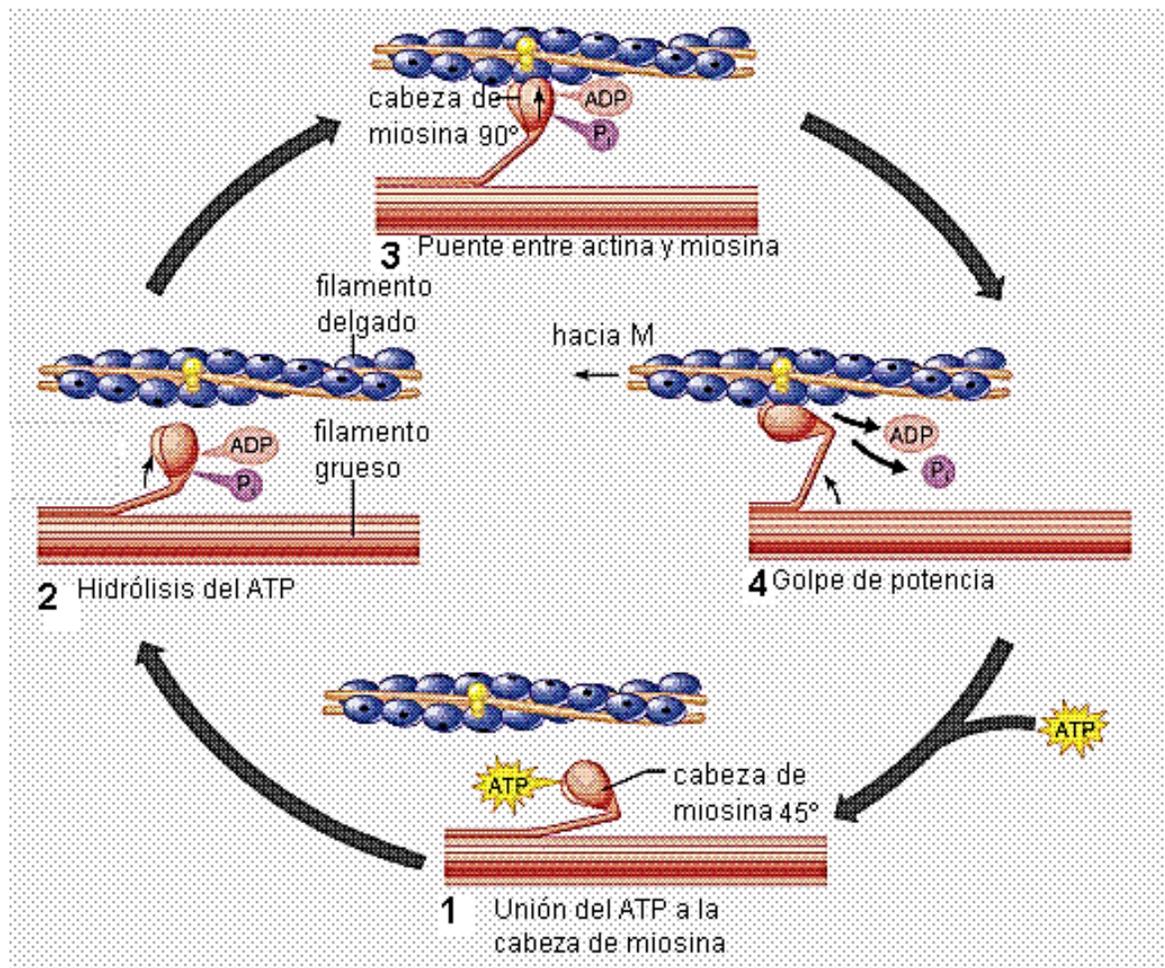


Figura 7. Mecanismo de contracción y relajación del músculo

Fuente: http://www.genomasur.com/BCH/BCH_libro/imagenes/ap_10/contr.GIF

La velocidad de contracción muscular implica que una de las proyecciones realice de 50 a 100 tracciones por segundo, lo que es compatible con la velocidad de acción ATP-asa de la miosina; es la hidrólisis de ATP la que suministra la energía necesaria para realizar la contracción muscular (Creighton, 1993; Niinivaara y Antila, 1973).

Actina

La actina se encuentra en dos formas: una globular, G-actina, de peso molecular de 50 a 60 kDa como se aprecia en la Figura 8; contiene un mol de ATP y calcio (o magnesio) por mol de G-actina. La separación del ATP y calcio (con agentes quelantes como el ácido etilendiaminotetraacético [EDTA]) conduce a su inactivación y dimerización sin lugar a una posterior agregación.

Si la G-actina en forma activa se expone a un medio salino de concentración 0.1 M en magnesio, polimeriza muy rápidamente a F-actina; durante el proceso, el ATP es hidrolizado a ADP + Fósforo inorgánico. Como el ADP en la F-actina no se intercambia fácilmente en ATP, no cabe considerar a la F-actina como una ATP-asa (Ranganathan, *et al.*, 2005).

Por sonicación u otros medios de ruptura mecánica en presencia de ATP la reacción puede revertirse para dar G-actina-ATP + ADP a partir de F-actina-ADP + ATP y bajo estas condiciones artificiales, la F-actina puede considerarse como una ATP-asa (Creighton, 1993).

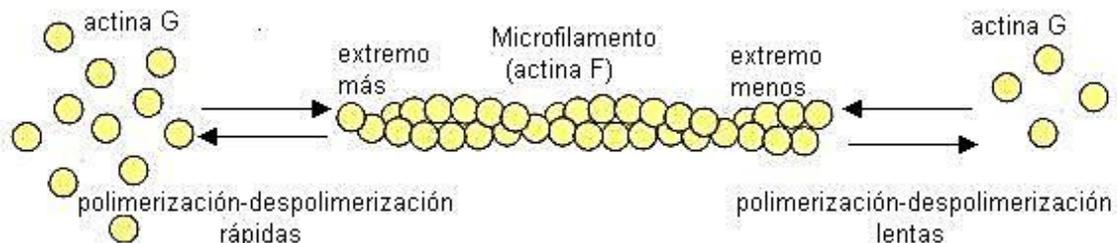


Figura 8. Reacciones de polimerización - despolimerización de la actina

Fuente: http://www.genomasur.com/BCH/BCH_libro/imagenescap_3/13.JPG

No está claro que sea necesaria la hidrólisis del ATP para la polimerización de la G-actina a F-actina; con G-actina-ADP producida artificialmente aún tiene lugar la polimerización. Por otro lado, la estructura de la F-actina parece estar mejor descrita por una disposición doble helicoidal de moléculas de G-actina con 13 a 15 subunidades por vuelta de hélice.

La F-actina resulta de la polimerización de la primera en filamentos constituidos en dos cadenas enrolladas, en doble hélice y comprenden cada una de 300 a 400 monómeros, todos orientados en el mismo sentido. Estos filamentos cuyo diámetro es de 5 nm y de longitud 2 μm , también incluye otras proteínas, dispuestas a lo largo de la hélice de F-actina, especialmente la tropomiosina, la troponina y la α -actina; las dos primeras son sensibles a los iones Ca^{2+} y por esto participan en el inicio de la contracción; la última interviene en la unión entre el filamentos de actina y el disco Z (Creighton, 1993; Ranganathan, *et al.*, 2005).

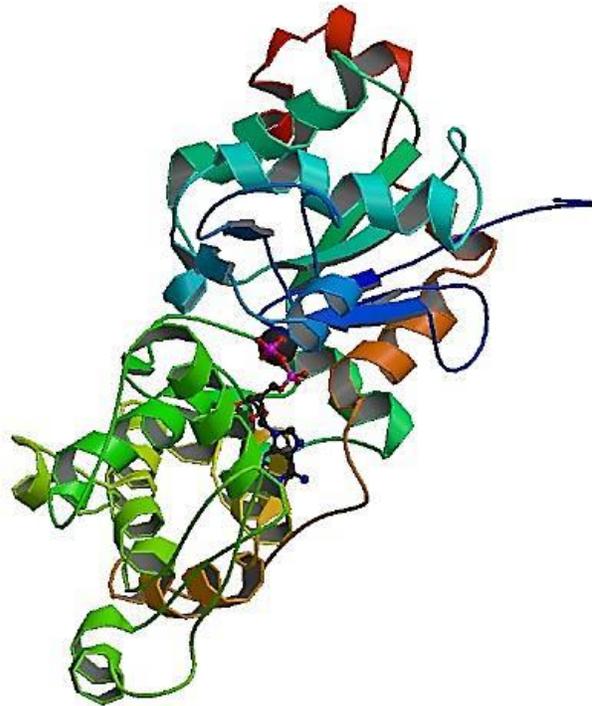


Figura 9. Representación de la molécula de F-actina

Fuente: <http://www.rcsb.org/pdb/home> (2ZWH), 2013

1.5.2 *Proteínas sarcoplásmicas*

Son proteínas solubles y se encuentran dispersas en el líquido que circunda la fibra muscular (sarcoplasma); funcionalmente son enzimas, la actual clasificación las cataloga en proteínas solubles en solución salina diluida. Desde el punto de vista tecnológico la más importante de esta categoría es la mioglobina, la cual se encuentra formada por una globina y una porfirina (grupo hemo que lleva un átomo de hierro). El color de la carne depende principalmente del grado de oxidación del hierro de este grupo hemo (Creighton, 1993).

Mioglobina

La mioglobina está formada por una sola cadena polipeptídica de 153 residuos de aminoácidos, contiene un grupo hemo con un átomo de hierro y su masa molecular es de 17.8 kDa de peso. Es una hemoproteína muscular, estructuralmente y funcionalmente muy parecida a la hemoglobina. Es una proteína relativamente pequeña y cuya función es la de almacenar y transportar oxígeno. También se denomina *miohemoglobina* o *hemoglobina muscular* (Figura 10).

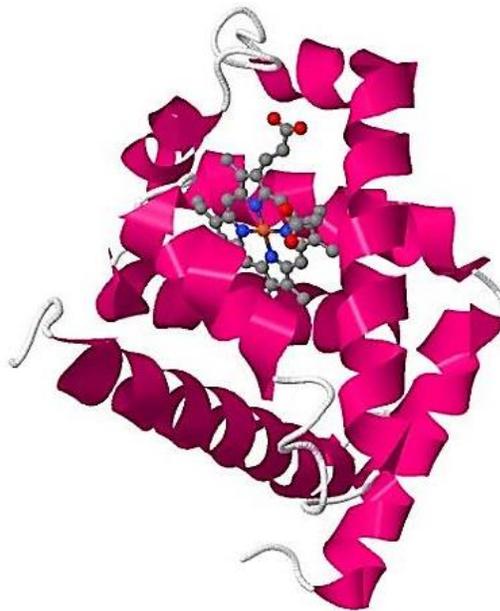


Figura 10. Representación de la molécula de mioglobina

Fuente: <http://www.rcsb.org/pdb/home> (1PMB), 2013

Las mayores concentraciones de mioglobina se encuentran en el músculo esquelético y en el músculo cardíaco, donde se requieren grandes cantidades de O₂ para satisfacer la demanda energética en el mecanismo de contracción-relajación.

La mioglobina fue la primera proteína a la que se determinó su estructura tridimensional por cristalografía de rayos X en 1957. Es una proteína extremadamente compacta y globular, en la que la mayoría de los aminoácidos hidrofóbicos se encuentran en el interior y muchos de los residuos polares están expuestos en la superficie. Alrededor del 78% de la estructura secundaria tiene una conformación de α -hélice; de hecho, existen ocho segmentos de α -hélice en la mioglobina, designados de la A a la H (Creighton, 1993).

Dentro de una cavidad hidrofóbica de la proteína se encuentra el grupo prostético hemo. Esta unidad no proteica se encuentra unida de manera no covalente a la mioglobina y es esencial para llevar a cabo su actividad biológica de unión de O₂.

La mioglobina y el citocromo B562, forman parte de las proteínas hémicas, que intervienen en el transporte y fijación de oxígeno y el transporte de electrones. Estas proteínas poseen como grupo prostético un Tetra-pirrol cíclico o grupo hem o hemo, formado por cuatro anillos de pirrol planares enlazados por puentes de alfa metileno. En el centro de este anillo existe un ión ferroso (Fe⁺²). En el caso del citocromo la oxidación y reducción del átomo de hierro son esenciales para la actividad biológica. Para la mioglobina y la hemoglobina la oxidación del Fe⁺² destruye su actividad biológica.

En la mioglobina no oxigenada, el hierro del grupo hemo, se encuentra aproximadamente a 0,03 nm fuera del plano del grupo en dirección a la HisF8. La oxigenación de la mioglobina produce el movimiento del átomo de hierro, ya que el oxígeno ocupa la sexta posición de coordinación del hierro y desplaza el residuo HisF8 0,01 nm fuera del plano del hemo.

Este movimiento en el anillo hemo produce el cambio conformacional de algunas regiones de la proteína, lo que favorece la liberación de oxígeno en las células deficientes de oxígeno, en donde éste se requiere para la generación de energía metabólica dependiente de ATP (Creighton, 1993).

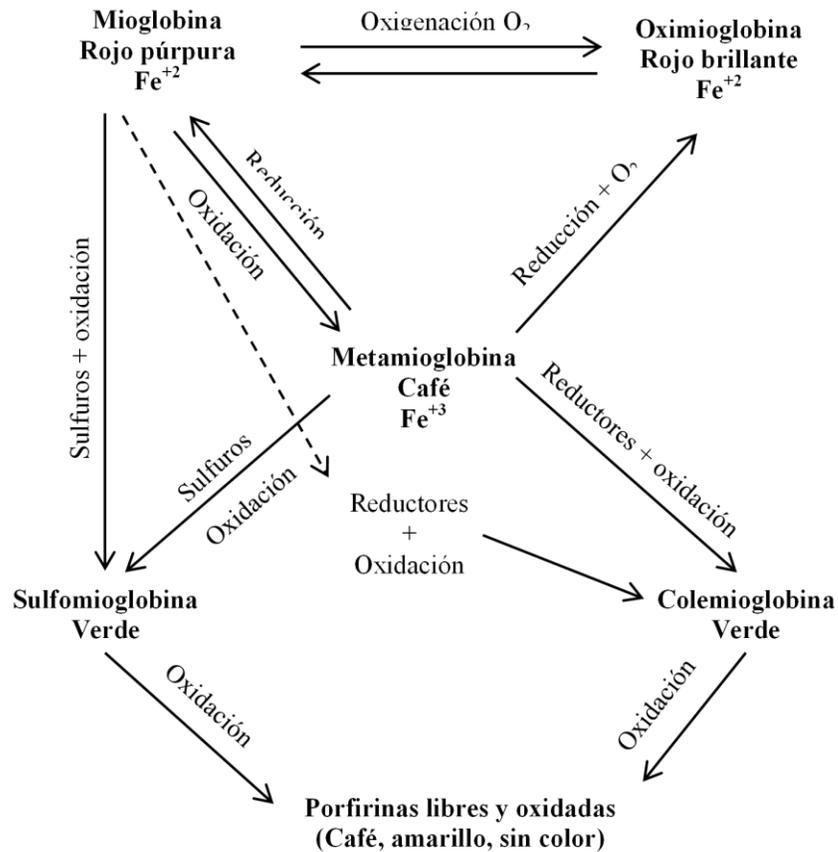


Figura 11. Reacciones químicas sufridas por la mioglobina

Fuente: Badui, 2006

La mioglobina es el principal pigmento de la carne, y el color de este producto depende fundamentalmente del estado en el que se encuentra. En el músculo, el hierro se encuentra en la mioglobina en forma de ión ferroso, y así se encuentra también en la carne fresca. El grupo hemo puede tener asociada una molécula de oxígeno, formando entonces la oximioglobina, de color rojo brillante, que es el que se observa en la parte exterior de la carne. En el interior, la mioglobina no tiene oxígeno unido, estando entonces en forma de desoximioglobina, que tiene un color rojo púrpura más intenso y oscuro que el de la oximioglobina. Estas dos formas son interconvertibles, dependiendo de la presión parcial de oxígeno, y en la práctica, de la superficie de contacto (Creighton, 1993; Ranganathan, *et al.*, 2005).

En las condiciones de una atmósfera normal, el ion ferroso es inestable, pasando a ion férrico. En la mioglobina la cadena de proteína protege al grupo hemo, pero aun así, la oxidación se produce con cierta rapidez, especialmente si la superficie de contacto es grande, como en el caso de la carne picada. La mioglobina con el hierro en forma férrica recibe el nombre de metamioglobina o ferrimioglobina, que tiene un color marrón poco atractivo en la carne almacenada demasiado tiempo. Este proceso es reversible, por la acción de un enzima, la metamioglobin-reductasa, en presencia de agentes reductores (Creighton, 1993; Ranganathan, *et al.*, 2005).

1.5.3 Proteínas del tejido conectivo

Son proteínas extracelulares, es decir, que están fuera del sarcolema, de acuerdo a la clasificación que existe actualmente. Éstas son totalmente insolubles en agua y en soluciones salinas forman parte de las membranas musculares (epimisio, perimisio y endomisio), dentro de ellas la más importante es el colágeno, sus características radican en que son insolubles en medio neutro y por sus características en contenido de aminoácidos no tienen triptofano ni lisina, siendo pues, de bajo valor biológico (Creighton, 1993; Ranganathan, *et al.*, 2005).

Colágeno

A través de varias técnicas de extracción se ha determinado y comprobado que la unidad fundamental del colágeno es el tropocolágeno y éste está formado por 3 cadenas polipeptídicas en hélice (Figura 12), unidas por enlaces muy fuertes que aumentan con la edad del animal, de ahí que sea una proteína difícilmente atacable por enzimas digestivas y, por lo tanto, no deseable en productos cárnicos. Al calentarse se transforma en gelatina, proteína de valor biológico muy bajo (Creighton, 1993).

El colágeno contiene un 30% de glicina y un 25% de prolina e hidroxiprolina, cuanto más abundan estos aminoácidos, más rígido y resistente es el colágeno. La hélice de tropocolágeno, de unos 280 nm de longitud y 1.5 nm de diámetro, presenta en uno de sus extremos, grupos ionizados que favorecen la formación de enlaces.

Las moléculas de tropocolágeno se asocian entre sí, formando fibrillas. Para ello se orientan todas en los mismos sentidos y dislocados 64 nm la una con relación a la otra, lo que explica la estructura cristalina del colágeno, así como la rigidez y resistencia que ofrece a la masticación (Creighton, 1993; Ranganathan, *et al.*, 2005).

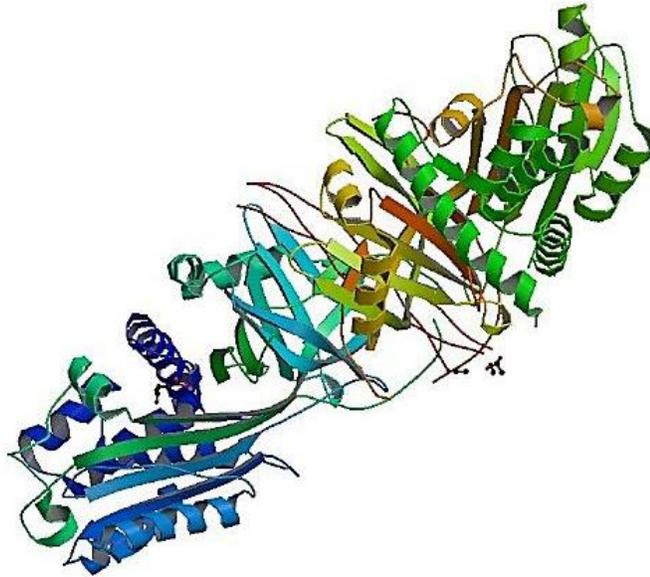


Figura 12. Representación de la molécula de colágeno

Fuente: <http://www.rcsb.org/pdb/home> (4AWR), 2013

El colágeno es la proteína más abundante de los mamíferos. Sólo en los músculos forma el epimisio, endomisio y perimisio (Figura 2). Existen al menos 5 tipos de colágeno y cada uno de ellos se diferencia en la secuencia de los aminoácidos:

- Tipo I: Es casi el 90% del total y es formador del epimisio y perimisio.
- Tipo II: Se encuentra en el músculo.
- Tipo III: Se encuentra en el perimisio y en menor proporción en el endomisio.
- Tipo IV: La mayor proporción de este tipo se encuentra en el endomisio.
- Tipo V: Es muy poco estudiado (Creighton, 1993).

1.6 Desnaturalización de proteínas

En proteínas se entiende por “desnaturalización” a cualquier modificación de la conformación que no vaya acompañada de la ruptura de enlaces peptídicos, implicados en la estructura primaria. Estos cambios son producidos por diferentes dominios de la proteína que conlleva a un aumento de la entropía de las moléculas. En la Figura 13 se aprecian los estados de conformación en función a la desnaturalización de las proteínas y como se esquematiza una proteína durante un proceso de reacomodo (Ranganathan, *et al.*, 2005).

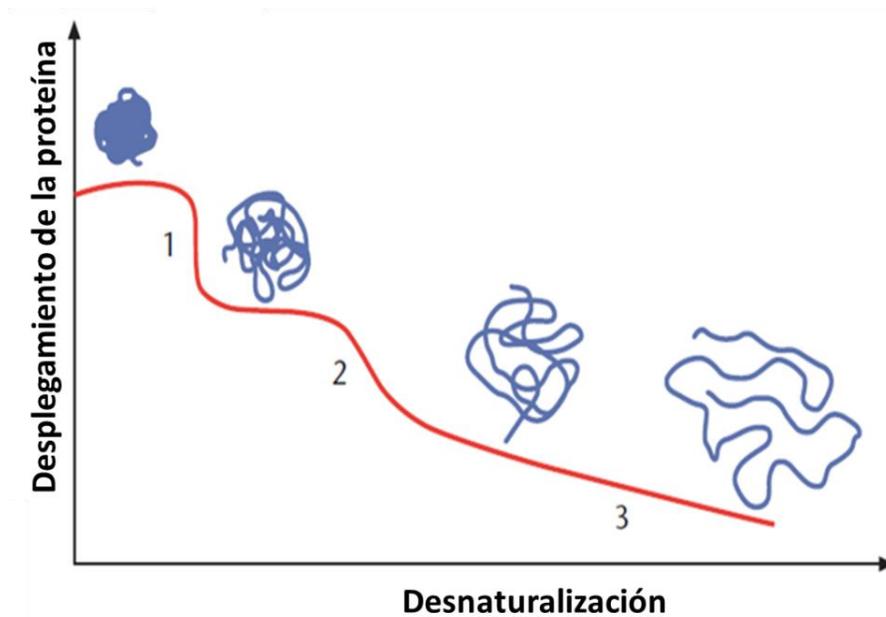


Figura 13. Etapas de la desnaturalización de proteínas

Fuente: Hammarström y Jonsson, 2013

Los efectos de la desnaturalización implican:

- El descenso de la solubilidad a consecuencia del desenmascaramiento de los grupos hidrófobos.
- La modificación de la capacidad de fijación del agua.
- La pérdida de la actividad biológica.

- El incremento de la susceptibilidad al ataque por las proteasas, a causa del desenmascaramiento de enlaces peptídicos específicamente vulnerables a estas proteasas.
- El incremento de la viscosidad intrínseca.
- La incapacidad de cristalizar.

La estabilización de una molécula es un proceso cooperativo, es decir, está dada por la intervención de múltiples enlaces no covalentes, que son de baja energía pero muy frecuentes en la estructura. El estudio de la termodinámica de este proceso implica lograr realizarlo de forma reversible, lo que requiere que una vez eliminado el agente desnaturizante, la proteína pueda regresar a su conformación original. La conformación de una proteína es consecuencia de la cooperación de una enorme cantidad de enlaces no covalentes de baja energía (interacciones electrostáticas, fuerzas de Van der Waals, puentes disulfuro y puentes de hidrógeno) que se mantienen gracias a un delicado balance. Cuando se despliega una proteína globular, la pérdida de la estructura nativa aumenta, en forma significativa, el número de residuos de aminoácidos hidrofóbicos ahora expuestos al solvente. La agregación de las proteínas desplegadas es una consecuencia de la exposición de los residuos hidrofóbicos, cuyo contacto con el solvente acuoso, no es termodinámicamente conveniente, debido a que su alrededor se ordenan las moléculas de agua y disminuye la entropía del sistema. Mientras no exista alguna molécula que estabilice esos sitios hidrofóbicos expuestos, la agregación será la forma en que se disminuya su exposición al agua, y esto trae como consecuencia una desnaturización no reversible; este efecto se ve incrementado con la concentración de proteína (Hammarström y Jonsson, 2013).

La aplicación de calor afecta la estabilidad de las interacciones no covalentes de la estructura tridimensional de las proteínas, pues se eleva la entalpía de la molécula y se rompe el balance de los enlaces que mantienen el equilibrio; es decir, existe un cambio súbito y cuando la mitad de las moléculas se tienen en estado desnaturizado se alcanza el equilibrio que coincide con la temperatura de transición (T_m) o temperatura de desnaturización (T_D) (Hammarström y Jonsson, 2013; Neurath *et al.*, 1943).

La desnaturalización térmica de las proteínas es fuertemente influida por el contenido de agua, las proteínas deshidratadas son más resistentes a los tratamientos térmicos que las proteínas en solución. El fenómeno se explica por un efecto plastificante del agua que, en su ausencia involucra a una estructura estática cuyos dominios tienen movimientos restringidos. Otro efecto es el hinchamiento de la matriz de la proteína por hidratación, que facilita el acceso a las moléculas de agua al interior de la proteína disminuyendo así la temperatura de desnaturalización. (Badui, 2006; Fennema 2010; Hammarström y Jonsson, 2013; Neurath *et al.*, 1943)

Los puentes de hidrógeno, las fuerzas de Van der Waals y las interacciones electrostáticas por naturaleza son impulsados por la entalpía, lo que implica que ocurren mediante procesos exotérmicos, y por ende, causa que se desestabilicen a altas y se estabilicen a bajas temperaturas. Las interacciones hidrofóbicas son por el contrario producidas por consecuencia de la entropía, que aumenta mientras más cadenas laterales hidrofóbicas se expongan al contacto con el medio acuoso ya que las moléculas de agua se ordenan a su alrededor; por lo tanto se comportan de forma opuesta con un incremento en la temperatura, ya que se desestabilizan a bajas temperaturas y se estabilizan a altas por ser de carácter endotérmico. (Badui, 2006, Fennema 2010, Hammarström y Jonsson, 2013; Neurath *et al.*, 1943)

1.7 Métodos de conservación de la carne

Dentro del campo de la transformación de alimentos, uno de los sectores que más han evolucionado ha sido el de la conservación. Desde tiempos muy antiguos en los que se utilizó la deshidratación al sol, después la salmuera, el ahumado o la fermentación, se ha pasado a métodos que conservan mejor las propiedades nutritivas y organolépticas de los alimentos.

La conservación en la industria se remonta a principios del XX, al consolidarse los procedimientos de Appert. Durante este siglo los principales países desarrollaron esta industria, que en el siglo XX ha experimentado un extraordinario auge al introducirse nuevas tecnologías. Son varios los métodos empleados en la actualidad por la industria. El

más utilizado es la ultracongelación; la deshidratación es otro método muy utilizado, por el que se elimina la casi totalidad del agua del alimentos. La conservación al vacío consigue la eliminación del aire y para ello se suelen utilizar recipientes de hojalata, un metal formado por una delgada lámina de acero recubierta por una fina capa de estaño. Es un método muy popular y con el que se conservan una amplia variedad de comidas y alimentos (Arjona, *et al.*, 1996; Babic *et al.*, 2009; Laopoolkit y Suwannaporn, 2011; Matejtschuk, 2007).

1.7.1 Por efectos de bajas temperaturas

La transferencia de calor, es la ciencia termodinámica que trata de las transiciones cuantitativas y reacomodos de energía como el calor existente en los cuerpos, esta ciencia se encuentra estrechamente relacionada con la razón de intercambio de calor entre cuerpos calientes y fríos. Existen los denominados “mecanismos de transferencia de calor”, los cuales son no más que aquellas formas en las que el calor puede pasar de un cuerpo a otro, son 3 tipos y todos existen y se presentan al mismo tiempo predominando solamente uno en cada caso. Ellos son: (Arjona *et al.*, 1996; Matejtschuk, 2007; Meléndez y Arjona, 2011; Meléndez *et al.*, 2011):

Conducción

Es la transferencia a través de un cuerpo fijo, donde la dirección del flujo será un ángulo recto. Los fundamentos se le atribuyen a Fourier, y se observa que la cantidad que fluye es directamente proporcional a la diferencia de potencial e inversamente proporcional a la resistencia aplicada, obteniéndose así la ecuación de la segunda ley de Fourier:

$$\frac{dT}{dt} = \frac{k}{Cp} \left(\frac{d^2T}{dx^2} + \frac{d^2T}{dy^2} + \frac{d^2T}{dz^2} \right) \quad (3)$$

Donde T es la temperatura, k es la constante de conductividad térmica, Cp es el calor específico a presión constante, x , y , z son los ejes en los que fluye el calor y t es el tiempo.

Pero cuando el flujo de calor es constante, se considera que se encuentra en un estado estable, por lo que el tiempo no varía durante este proceso y por consiguiente la ecuación anterior se transforma de la siguiente manera, quedando así (Arjona *et al.*, 1996):

$$dQ = k \cdot dA \cdot \frac{dT}{dx} \quad (4)$$

Convección

Es la transferencia de calor entre partes relativamente calientes y frías de un fluido por medio de una mezcla. Existen 2 tipos de convección natural y forzada ambas ocurren a diferentes velocidades, pero la forzada es la más común. Este tipo de transferencia está descrito por la Ley de enfriamiento de Newton, muy similar a la ecuación de la conducción:

$$dQ = h \cdot A \cdot dT \quad (5)$$

Donde Q es el calor, A es el área de transferencia de calor, T es la temperatura y h se le denomina *coeficiente convectivo*, que es un término que tiene influencia de la naturaleza del fluido.

Cuando la ecuación anterior se presenta en su forma integrada se aprecia de la siguiente manera:

$$Q = h \cdot A \cdot \Delta T \quad (6)$$

Radiación

Este tipo de transferencia involucra la transferencia de energía radiante hacia un cuerpo receptor. Este tipo de transferencia se basa en la segunda ley de la termodinámica y Boltzman estableció que una fuente de calor es (Schwartzberg y Hartel, 1992):

$$dQ = \sigma \cdot \varepsilon \cdot dA \cdot T^4 \quad (7)$$

Y a esta ecuación anterior se le conoce como la “Ley de la cuarta potencia”, donde T es la temperatura absoluta, σ es una constante dimensional, ε es un factor peculiar de radiación denominado “emisividad” (Schwartzberg y Hartel, 1992).

1.7.1.1 Congelación

Es uno de los procesos más utilizados en la conservación de alimentos, debido a 2 factores principales: en primera porque muchos microorganismos no pueden crecer a esas bajas temperaturas (acción inhibitoria), el segundo es que cuando un alimento se congela, gran parte del agua se transforma en hielo, por lo que la actividad de agua desciende significativamente.

Es una operación unitaria donde el material cede calor sensible para lograr una disminución en su temperatura hasta llegar por debajo del punto inicial de congelación, y posteriormente eliminar calor latente para lograr un cambio de estado físico del agua interna del producto y formar así cristales, donde su geometría dependerá de la velocidad de congelación (Arjona *et al.*, 1996; Matejtschuk, 2007; Schwartzberg y Hartel, 1992).

El proceso de congelación se puede dividir en 3 etapas básicas, las cuales son:

- *Refrigeración:* En este periodo durante el cual la temperatura disminuye hasta alcanzar la temperatura a la cual da comienzo la cristalización. El alimento se enfría por debajo de su punto de congelación y es inferior a los 0 °C, el agua permanece en estado líquido, a esto se le conoce también como sub-enfriamiento, el cual puede ser hasta los 10 °C por debajo del punto de congelación, después la temperatura aumenta rápidamente hasta alcanzar nuevamente el punto de congelación pues al formarse los cristales de hielo, se libera calor latente a una velocidad superior a la que éste se extrae del alimento.
- *Congelación:* Consiste en la eliminación de calor latente permaneciendo la temperatura prácticamente constante, pero el incremento de solutos en la fracción de agua no congelada provoca el descenso del punto de congelación, por lo que la temperatura disminuye ligeramente. Durante esta etapa una gran parte del agua congelable se transforma en hielo (Arjona *et al.*, 1996).

- *Sub-enfriamiento*: Es el tiempo necesario para que el alimento pase de la temperatura de congelación (T_c) a la temperatura de almacenamiento o temperatura final (T_f). En esta fase se da la sobresaturación y cristalización de los solutos y del agua, lo que quiere decir que hay liberación de calor latente que provoca un aumento en la temperatura hasta su temperatura eutéctica (Arjona *et al.*, 1996; Schwartzberg y Hartel, 1992).

En la Figura 14 se puede observar una curva típica de congelación de agua pura y de un compuesto biológico, donde se ilustran las etapas básicas del proceso de congelación. Durante la congelación rápida, la temperatura del producto cárnico que va a ser congelado cae rápidamente por debajo del punto de congelación inicial, formándose uniformemente por toda la extensión de los tejidos cárnicos numerosos cristales pequeños de hielo que tienen un aspecto filamentoso, y que se forman tanto intra como extracelularmente, aproximadamente a la misma velocidad. Debido a la rápida caída de la temperatura, a causa de la rápida velocidad de transferir el calor, la velocidad de nucleación aumenta, ya que la masa llega a sobre-enfriarse y congelarse simultáneamente en muchas partes (Schwartzberg y Hartel, 1992).

En este caso la solidificación se produce en torno a muchos microcristales de hielo por lo que éstos tienen muy pocas oportunidades de aumentar de tamaño. Puesto que la mayoría del agua intrafibrilar se congela intracelularmente, las pérdidas por goteo durante la descongelación son menores que en el caso de la descongelación de la carne congelada lentamente. Por otro lado, el acortamiento y distorsión de la fibra muscular se minimiza durante la congelación rápida, lo que se traduce en una ultraestructura y aspecto estriado del músculo congelado normalmente.

Los cambios de volumen son menores y los periodos de cristalización más cortos que en el músculo congelado lentamente y, en consecuencia, el deterioro mecánico es correspondientemente menor (Arjona *et al.*, 1996; Matejtschuk, 2007; Schwartzberg y Hartel, 1992).

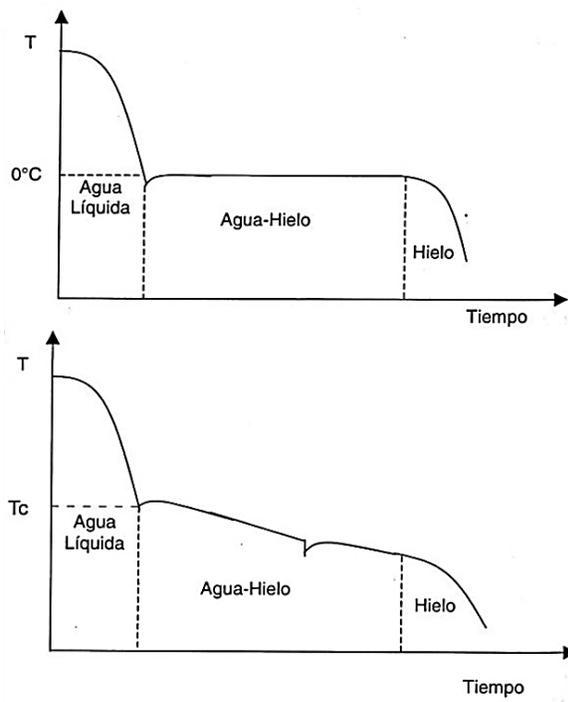


Figura 14. Comportamiento cinético del proceso de congelación del agua pura y de un sistema biológico (carne).

Fuente: Arjona, *et al.*, 1996.

La rapidez con que un alimento se congela o descongela está determinada por los siguientes factores:

- La diferencia de temperatura existente entre el alimento y el medio de enfriamiento o calentamiento.
- Los modos de transmisión de la energía calorífica al alimento, desde el alimento o entre zonas distintas dentro del propio alimento (conducción, convección o radiación).
- El tipo, tamaño y forma del envase.
- El tamaño, la forma y las propiedades térmicas del alimento (Arjona *et al.*, 1996; Del Castillo, 2001; Matejtschuk, 2007; Schwartzberg y Hartel, 1992).

En la carne, la mayor parte del agua está contenida dentro de las células, lo que va a caracterizar el modelo de comportamiento durante la congelación. Cuando la carne se

congela, los cristales de hielo formados dentro de la célula intramuscular producen una ruptura mecánica de la misma. Si la congelación es lenta hay tiempo suficiente para que el cristal de hielo crezca, produciéndose grandes cristales y, por lo tanto, mayor ruptura.

Durante la descongelación, estos cristales se transforman en agua, parte de la cual es reabsorbida por las células y parte se pierde como exudados; si la congelación es rápida o ultrarrápida no existe tiempo para permitir el crecimiento del cristal de hielo, formándose muchos cristales y muy pequeños, que ocasionan un daño mínimo a la célula muscular (Arjona *et al.*, 1996).

En el cuadro 2 se muestran los fenómenos de transporte involucrados en el proceso de congelación de carne, los cuales se presentan de manera simultánea y es muy importante considerarlos (Arjona *et al.*, 1996; Del Castillo, 2001; Rosas, 2012; Solís, 2006).

Cuadro 2. Fenómenos de transporte involucrados en el proceso de congelación de carne

FENÓMENO DE TRANSPORTE	PARÁMETROS Y CRITERIOS CARACTERÍSTICOS
Momento	Velocidad de las corrientes de gases de refrigeración, caídas de presión, distribución del perfil de velocidades de flujo, propiedades físicas y térmicas de los gases, regímenes de flujo, etc.
Calor	Mecanismos de transferencia predominante en el sistema, propiedades físicas y térmicas de los productos y de los materiales de construcción, temperaturas de bulbo húmedo y seco, entropía, entalpía, balance de energía, coeficientes convectivos y conductivos de transferencia de calor, distribución del perfil de temperatura, puntos de congelación de los productos, etc.
Masa	Presión parcial de vapor, permeabilidad de los empaques, coeficientes de difusión, coeficientes convectivos de transferencia de masa, psicrometría, distribución de concentraciones, etc.

Fuente: Arjona *et al.*, 1996

Pero además de los cambios físicos, existen cambios importantes a nivel químico que contribuyen a potenciar al aumento de las cantidades de exudado producidas. Otro inconveniente es también la aparición de tonalidades violáceas en las carnes rojas, debidas a generaciones oxidativas y que pueden ser controladas por el envasado al vacío (Rosas, 2012).

1.7.2 Por efectos de la ausencia de agua

1.7.2.1 Liofilización

La liofilización o deshidratación por congelación al vacío consiste en la sublimación del agua de un alimento congelado, mediante vacío y aplicación de calor a la bandeja de deshidratación. Se está empleando en algunos alimentos, entre los que se incluyen carnes, canales de aves, alimentos marinos, frutas y hortalizas. Las finas capas congeladas de los alimentos de bajo contenido en azúcar, se pueden deshidratar sin vacío mediante la sublimación de la humedad durante el paso de un gas seco que la absorbe.

La liofilización es la deshidratación por congelación y sublimación, el contenido líquido natural de los sistemas biológicos se congela y se elimina en forma de vapor, bajo condiciones cuidadosamente controladas de presión y temperatura para dejar una estructura que revierta el estado previo, por adición de agua; si se aplica a sustancias lábiles, como alimentos, permite la conservación a la temperatura ambiente durante largos periodos, adecuadamente protegidos del agua, la luz y el oxígeno (Hanafusa, 1972).

Su aspecto, palatabilidad y valor nutritivo tras la reconstitución, sobreviven al almacenamiento mucho más que si los alimentos se someten a cualquier otro tipo de deshidratación. No debe confundirse con la deshidratación a vacío de los líquidos, que produce evidentes alteraciones de tipo físico y químico.

La tecnología de la liofilización tiene sus raíces en la refrigeración, también podría llamarse “*crio-desección*” en razón de su fase inicial de congelación. El término *desección* se refiere a la deshidratación del producto, y la *crio-desección* fue desarrollada principalmente en 1904 por físicos franceses (Hanafusa, 1972; King y Chen, 1998).

Los trabajos de secado a bajas temperaturas realizados antes de 1905 no incluían el uso del vacío, ya que las bombas de vacío mecánicas no estaban disponibles en aquella época, fueron los científicos Benedict y Manning en 1905 quienes la introdujeron en el proceso de liofilización. A finales de la década de 1930 resultó significativa la producción a gran escala de productos liofilizados. A través de toda la segunda guerra mundial y en la postguerra, la fabricación de plasma de sangre seco, fue quizás el primer uso real de la tecnología de liofilización como un proceso productivo comercial. Otro producto liofilizado a gran escala fue la penicilina (Hanafusa, 1972; King y Chen, 1998).

En 1958 se aplicó al sector alimentario y por ser una técnica costosa se enfocó a pocos alimentos, como la leche, las sopas, los huevos, la levadura, los zumos de frutas y el café.

Proceso

Cuando va a liofilizarse un material húmedo, se efectúan tres operaciones básicas, esta operación comprende muchos procesos fundamentales que ocurren simultáneamente, y las condiciones que gobiernan la velocidad de cada proceso deben optimizarse para un producto específico a fin de obtener una velocidad de secado satisfactoria. En la Figura 15 se ejemplifica un esquema general del proceso (Babic, *et al.*, 2009).

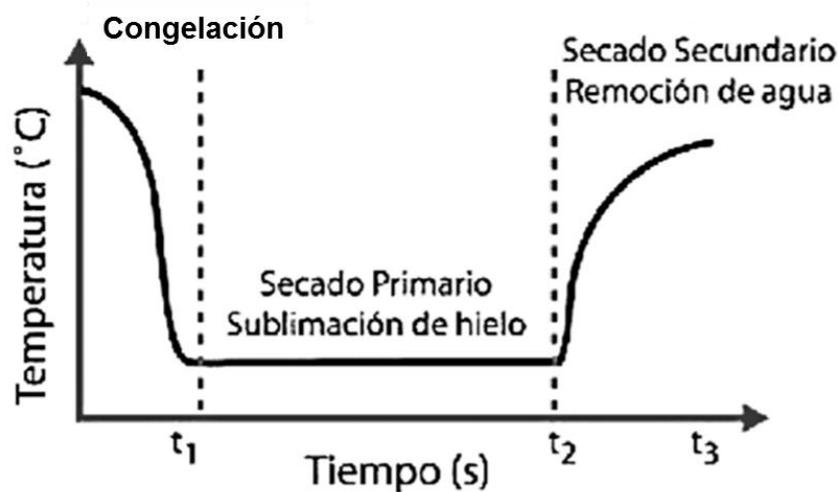


Figura 15. Esquema del proceso de deshidratación por congelación y vacío

Fuente: King y Chen, 1998

Los pasos para llevar a cabo la liofilización son los que se describen a continuación:

- **Congelación:** Los materiales procesados por liofilización son normalmente mezclas complejas de agua y numerosas sustancias; si se someten a enfriamiento a una temperatura menor a 0 °C, se produce la separación de cristales de hielo, y eventualmente la masa entera se vuelve rígida debido a la formación de cristales. La mayoría de productos alimenticios y biológicos solidifican completamente a una temperatura en el intervalo de -15 a -73 °C. Cuando solidifica la masa entera, toda el agua se ha transformado en hielo, solo una cantidad pequeña del agua original, el agua de ligadura, permanece fija en la estructura interna del material. La velocidad de secado y la calidad del producto terminado están afectadas por el tamaño, forma y distribución de tamaño de los cristales de hielo formados durante la congelación y de la homogeneidad de la masa congelada (Laopoolkit, 2011).

En condiciones ideales, para realizar el proceso de liofilización correctamente, debería de congelarse todo el líquido presente en el alimento. En la práctica, sin embargo, esto no es posible debido al alto costo que implica y además, siempre que la cantidad de líquido remanente no congelado sea pequeña, la calidad del producto no resulta seriamente afectada.

La velocidad óptima de congelación con fines de liofilización depende en gran parte de la naturaleza del producto. La variación en la velocidad de congelación afecta al tamaño de los cristales de hielo y por tanto al tamaño del poro en el producto seco, siendo de esperar, en consecuencia, que influya en la velocidad de deshidratación y en las características del producto, sobre todo en su rehidratación (Laopoolkit, 2011).

La acción deshidratadora básica es la formación de hielo; la extracción del agua congelada en forma de vapor, sin afectar los demás componentes, es una acción secundaria. El método particular de congelación determina la posición y las características del hielo, y predetermina su accesibilidad para la deshidratación, tanto si se facilita mediante el tratamiento de las paredes celulares o por escaldado o cocimiento parcial (Laopoolkit, 2011).

Si la formación de hielo no cambia durante la sublimación, también se ha predeterminado así la porosidad, que tan importante papel juega en la readmisión de agua al espacio libre dejado por el hielo. La acción primaria de la congelación tiene por tanto una gran importancia y debe practicarse de manera cuidadosa y adecuada a cada tipo de alimento.

Es muy importante también alcanzar un nivel de congelación asegurándolo por debajo de los $-7\text{ }^{\circ}\text{C}$, que no suele, por lo general, estar muy definido, en virtud de la complejidad de las soluciones celulares; suele estar más definido el punto de congelación, que siempre es más alto.

Los productos liofilizados tienen una estructura porosa debida a la sublimación de cristales del producto congelado, que al perder agua pierden un porcentaje grande de su peso inicial. Esta técnica de secado es la menos nociva para los nutrientes, encontrándose aún gran parte de la vitamina C en los alimentos después del proceso (Babic, *et al.*, 2009).

Deshidratación primaria: Corresponde a la sublimación de toda el agua congelada en el alimento. La velocidad de esta deshidratación es proporcional a la diferencia entre las presiones parciales de vapor de agua del hielo, que se encuentra respectivamente, a nivel del frente de sublimación y sobre el condensador. Esta diferencia de presión depende directamente de la diferencia de temperatura entre el producto todavía congelado y el condensador; esto podría originar la fusión de algunos eutécticos.

Como las diferencias de presión de vapor puestas en juego son muy bajas, se explica que la velocidad de liofilización sea siempre pequeña. La resistencia a la transferencia de vapor aumenta muy claramente cuando aumenta la presión en la cámara de liofilización. Esto es la razón por la que se trabaja frecuentemente bajo vacío (Babic, *et al.*, 2009; Laopoolkit, 2011).

Tiene una importancia básica el que la velocidad de deshidratación esté limitada por la transferencia de vapor o por transferencia de calor, por el espesor de la capa seca y también por el espesor total del producto, en efecto, la duración de la deshidratación es aproximadamente proporcional al cuadrado del espesor. Esto explica además la disminución progresiva de la velocidad de deshidratación durante la liofilización. El calor

necesario para la sublimación puede suministrarse por contacto directo con placas o radiadores calefactores, considerándose seco el producto cuando la temperatura superficial e interna son iguales. Obviamente, el aporte de calor no debe ser tan grande como para causar desnaturalización de la superficie del alimento.

Se ha indicado anteriormente que el tamaño de los cristales en el alimento congelado influye en la velocidad de deshidratación. Los alimentos congelados rápidamente, conteniendo cristales pequeños, se deshidratan más lentamente que los congelados lentamente con cristales mayores. Al mismo tiempo, los alimentos liofilizados producidos a partir de alimentos congelados lentamente parecen reabsorber humedad más rápidamente (Babic, *et al.*, 2009).

Sublimación: El material congelado puede estar sujeto a una sublimación a presión atmosférica o bajo vacío. La sublimación de los cristales de hielo puede considerarse comprendida por dos procesos fundamentales, transferencia de calor y transferencia de masa. Se suministra calor para sublimar los cristales de hielo y el vapor de agua generado es transferido fuera de la interfase de sublimación. Entonces la velocidad de sublimación está limitada por las resistencias a la transferencia de calor y masa, dentro del producto a secar.

El vacío operante determina la diferencia de presión, y consiguientemente la velocidad de transferencia de masa que debe estar en equilibrio con la velocidad de entrada de calor. El calor requerido para sublimar (302.4 kcal / lb de hielo) puede suministrarse por conducción, radiación, resistencia eléctrica, microondas o calentamiento infrarrojo (Babic, *et al.*, 2009; Laopoolkit).

Transferencia de calor durante la liofilización

El calor puede transmitirse al frente de sublimación por tres mecanismos distintos:

- *Transferencia de calor a través de la capa de alimento congelado:* La velocidad de transferencia calórica depende del grosor y de la conductividad térmica de la capa de hielo, por lo que, a medida que la deshidratación progresa, el grosor de la capa de

hielo disminuye y en consecuencia, la velocidad de transferencia calórica aumenta. La temperatura en la superficie del alimento se controla cuidadosamente para evitar su descongelación.

- *Transferencia de calor a través de la capa de alimentos liofilizado*: La velocidad de transferencia calórica al frente de sublimación depende del grosor y área del alimento, de la conductividad térmica de la capa liofilizada y de la diferencia entre las temperaturas en la superficie del alimento y en el frente de hielo. Si la presión se mantiene constante en el equipo liofilizador, la temperatura del frente de hielo también se mantiene constante (Babic, *et al.*, 2009; Laopoolkit, 2011).

Transferencia de masa durante la liofilización

Cuando el calor llega al frente de sublimación la temperatura y la presión de vapor en él aumenta. Como consecuencia de ello el vapor se desplaza desde el alimento a la zona de baja presión de 67 Pa. Por ello, en la liofilización comercial se hace preciso eliminar varios centenares de metros cúbicos de vapor por segundo, que deberán escapar a través de los poros del alimento liofilizado. Los factores que controlan el gradiente de presión de vapor son:

- La presión en el interior de la cámara de liofilización.
- La temperatura del condensador de vapor (tanto la presión como la temperatura deberán ser lo más bajas posibles).
- La temperatura del hielo del frente de sublimación (que debe ser lo más elevada posible, sin que provoque la descongelación) (Babic, *et al.*, 2009).

En la teoría, la temperatura del hielo debiera elevarse hasta un valor, justo por debajo de su punto de descongelación. Sin embargo, por encima de una determinada temperatura crítica los solutos concentrados del alimento poseen suficiente movilidad como para permitir su migración por acción de las fuerzas que se desarrollan durante el proceso. Cuando ello sucede, la estructura del alimento se colapsa inmediata e irreversiblemente, lo que reduce la velocidad de transferencia de vapor, y detiene, en consecuencia, la deshidratación. En la práctica, por tanto, existe una temperatura máxima que el hielo no debe superar, una

temperatura mínima para el condensador y una presión mínima en el liofilizador todas ellas controlan la velocidad de transferencia de masa. Durante la liofilización, el contenido en agua cae desde su valor inicial en la zona congelada, a un valor inferior en la capa liofilizada, que depende de la presión de vapor en el liofilizador. A continuación se muestra un cuadro con las principales diferencias entre la deshidratación convencional y el proceso de liofilización (Babic, *et al.*, 2009; Laopoolkit, 2011):

Cuadro 3. Comparación entre la liofilización y la deshidratación convencional

DESHIDRATACIÓN CONVENCIONAL	LIOFILIZACIÓN
Eficaz, si se trata de alimentos fácilmente deshidratantes (verduras y granos)	Es un sistema eficaz para la mayor parte de los alimentos, pero generalmente sólo se emplea cuando los otros métodos no resultan eficaces
Inadecuado para la carne	Eficaz con carnes crudas o cocidas
Intervalo de temperatura de 37 a 93 °C	Temperaturas inferiores a las del punto de congelación
Presión atmosférica	Presiones inferiores a la atmosférica
Evaporación del agua desde la superficie del alimento	El agua se sublima desde el frente de hielo
Migración de los solutos y en algunas ocasiones, acorchado	Migración de solutos mínima
El estrés que se genera en alimentos sólidos provoca daños estructurales y retracción	Cambios estructurales y retracción mínimos
Rehidratación lenta e incompleta	Rápida y completa rehidratación
Frecuentes olores y aromas anormales	Olores y aromas generalmente normales
El color es generalmente más oscuro	Conserva su color normal
Se pierde el valor nutritivo	Hay mínimas pérdidas nutrimentales
Más barato	Puede llegar a ser hasta 4 veces más caro que la deshidratación convencional

Fuente: Matejtschuk, 2007.

1.8 Técnicas de evaluación de la calidad de la carne

Las características tecnológicas determinan la capacidad de la carne de adaptarse a la serie de manipulaciones que tienen lugar durante los procesos de conservación y/o transformación a los que se ve sujeta. Entre estas características destacan propiedades de tipo físico, químico, fisicoquímico, microbiológicos y pocos autores consideran las propiedades y variables termodinámicas que se encuentran implícitas y de cierta manera nos indican si existen diferencias en cuanto a lo que respecta a la calidad de la carne. La tarea de obtener y diseñar metodologías que permitan cuantificar y analizar uno o varios parámetros se sustenta en los avances científicos, que permiten conocer en detalle lo que acontece durante toda la cadena de producción-consumo de la carne (Alvarado, 2001).

1.8.1 Espectrofotometría

Se denomina espectrofotometría a la medición de la cantidad de energía radiante que absorbe un sistema químico en función de la longitud de onda de la radiación, y a las mediciones a una determinada longitud de onda (Alvarado, 2001).

La espectrofotometría es el método de análisis óptico más usado en las investigaciones biológicas. El espectrofotómetro es un instrumento que permite comparar la radiación absorbida, transmitida o reflectada por una solución que contiene una cantidad desconocida de soluto, y una que contiene una cantidad conocida de la misma sustancia.

Todas las sustancias pueden absorber energía radiante, aun el vidrio que parece ser completamente transparente absorbe longitud de ondas que pertenecen al espectro visible; el agua absorbe fuertemente en la región del infrarrojo.

La absorción de las radiaciones ultravioleta, visibles e infrarrojas depende de la estructura de las moléculas, y es característica para cada sustancia química. Cuando la luz atraviesa una sustancia, parte de la energía es absorbida; la energía radiante no puede producir ningún efecto sin ser absorbida (Prieto *et al.*, 2006).

El color de las sustancias se debe a que éstas absorben ciertas longitudes de onda de la luz blanca que incide sobre ellas y sólo dejan pasar a nuestros ojos aquellas longitudes de onda no absorbida (Prieto, 2010; Salazar, 2010).

Naturaleza de la radiación electromagnética

La Radiación Electromagnética es una forma de Energía radiante que se propaga en forma de ondas. En este fenómeno ondulatorio se define:

- *Longitud de onda (λ):* Es la distancia entre dos máximos de un ciclo completo del movimiento ondulatorio. Se expresa, según el S.I. en nanómetros (nm) y sus equivalencias son: $1 \text{ nm} = 10 \text{ \AA} = 10^{-6} \text{ mm} = 10^{-9} \text{ m}$.
- *Frecuencia (ν):* Es el número de ciclos por segundo. Es inversa a la longitud de onda. Su fórmula es: $\nu = c / \lambda$, y se mide en ciclos por segundo o hertzios.
- *Fotones:* La luz está formada por fotones, y estos son paquetes discontinuos de energía. La energía de un fotón depende de la frecuencia y de la longitud de onda, según la siguiente expresión: $E = h\nu$; $\nu = hc / \lambda$ ($h = \text{constante de Planck} = 6.62 \cdot 10^{-27} \text{ erg/s}$). La Energía Electromagnética se mide en Ergios. La relación entre la longitud de onda y la energía es inversa, por lo tanto a menor longitud de onda mayor energía y viceversa (Prieto, 2010; Salazar, 2010).
- *Espectro Electromagnético:* Cubre un amplio intervalo de energía radiante, desde los rayos γ de longitud de onda corta hasta las ondas de radio, de longitud de onda larga. Se divide en varias regiones, las más interesantes para nosotros son:
 - Región Ultravioleta: $\lambda = 10 \text{ a } 380 \text{ nm}$
 - Región Visible: $\lambda = 380 \text{ a } 780 \text{ nm}$
 - Región Infrarroja: $\lambda = 780 \text{ a } 30,000 \text{ nm}$

En la Región Visible, la luz se descompone en colores. La luz blanca contiene todo el espectro de longitudes de onda. Si interacciona con una molécula puede ser dispersada o absorbida (Prieto, 2010; Salazar, 2010).

Fenómenos de interacción entre luz y materia

Fenómeno de absorción

Cuando una partícula que se encuentra en estado de reposo o estado fundamental interacciona con un haz de luz, absorbe energía y se transforma en una partícula en estado excitado. La molécula absorbe la energía de la onda y ésta aumenta, ese aumento de energía es igual a la energía de la radiación electromagnética absorbida ($E = hv$). La partícula en estado excitado tiende a volver de forma espontánea a su estado de reposo desprendiendo la E absorbida en forma de calor (Salazar, 2010).

“*Espectro de Absorción*”; cada especie absorbente, que recibe el nombre de cromógeno, que tiene un determinado espectro de absorción. El espectro de absorción es un gráfico donde se representa en ordenadas la Absorbancia y en abscisas la longitud de onda. La medida de la cantidad de luz absorbida por una solución es el fundamento de la espectrofotometría de absorción.

Por eso es importante trabajar a la longitud de onda a la que la sustancia estudiada absorbe la mayor cantidad de luz (a mayor cantidad de luz absorbida, mayor cantidad de sustancia).

Fenómeno de emisión

Algunos compuestos, tras ser excitados por la luz, vuelven al estado fundamental produciendo la emisión de energía radiante. En este caso, lo que se mide es la energía emitida y en este fenómeno se basa la “fotometría de llama” o la “fluorescencia”.

Reflectancia

Se refiere a la relación entre la potencia electromagnética incidente con respecto a la potencia que es reflejada en una interfase. Por lo tanto, la magnitud de la reflectancia es el cuadrado de la magnitud de la reflectividad. La reflectividad puede expresarse como un número complejo como queda demostrado por las ecuaciones de Fresnel para una capa simple, mientras que la reflectancia es siempre un número real positivo (AMSA, 2012).

En ciertos campos, la reflectividad se distingue de la reflectancia por el hecho de que la reflectividad es un valor que se refiere a objetos reflectantes gruesos. Cuando la reflexión se produce por la intervención de finas capas de material, los efectos de reflexiones internas pueden ocasionar que la reflectancia varíe con el espesor de la superficie. La reflectividad es el valor límite de reflectancia a medida que el espesor de la superficie aumenta; es la reflectancia intrínseca de la superficie, por lo que su valor no depende de otros parámetros tales como la reflectancia de las capas profundas del material. El espectro de reflectancia o curva de reflectancia espectral es el gráfico de la reflectividad en función de la longitud de onda (AMSA, 2012).

Los espectrofotómetros de reflectancia miden la cantidad proporcional de luz reflejada por una superficie como una función de las longitudes de onda para producir un espectro de reflectancia (Figura 16). El espectro de reflectancia de una muestra se puede usar, junto con la función del observador estándar CIE y la distribución relativa de energía espectral de un iluminante para calcular los valores triestímulos CIE XYZ para esa muestra bajo ese iluminante (Alvarado, 2001; Prieto, 2010, Salazar 2010; Tapp *et al.*, 2011).

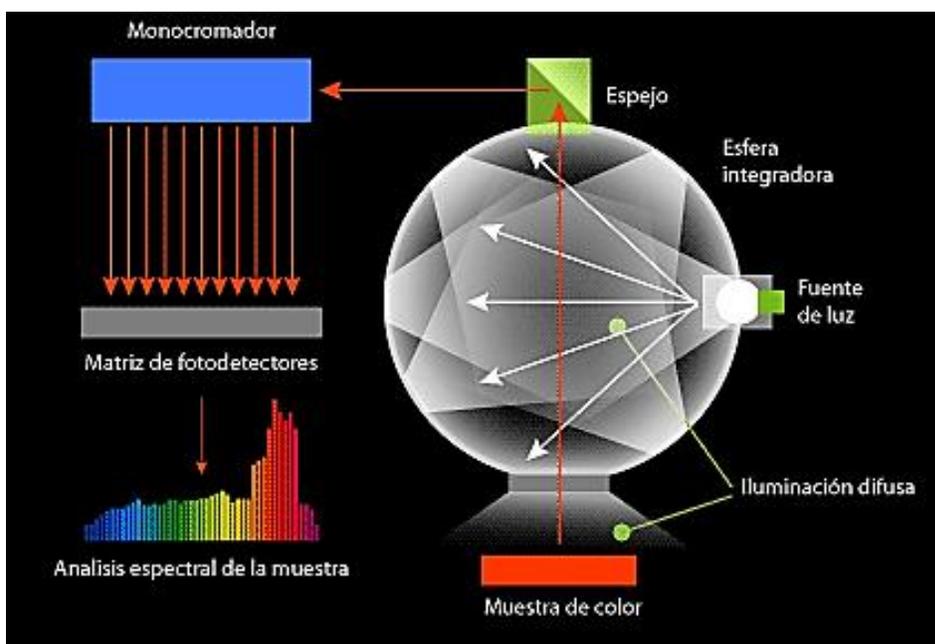


Figura 16. Funcionamiento de un espectrofotómetro de reflectancia

Fuente: Konica Minolta, 2013

El funcionamiento de un espectrofotómetro consiste básicamente en iluminar la muestra con luz blanca y calcular la cantidad de luz que refleja dicha muestra en una serie de intervalos de longitudes de onda. Lo más usual es que los datos se recojan en 31 intervalos de longitudes de onda (los cortes van de 400 nm, 410 nm, 420 nm hasta los 700 nm). Esto se consigue haciendo pasar la luz a través de un dispositivo monocromático que fracciona la luz en distintos intervalos de longitudes de onda. El instrumento se calibra con una muestra o loseta blanca cuya reflectancia en cada segmento de longitudes de onda se conoce en comparación con una superficie de reflexión difusa perfecta.

La reflectancia de una muestra se expresa como una fracción entre 0 y 1, o como un porcentaje entre 0 y 100. Es importante darse cuenta de que los valores de reflectancia obtenidos son valores relativos y, para muestras no fluorescentes, son independientes de la calidad y cantidad de la luz usada para iluminar la muestra. Así, aunque los factores de reflectancia se midan usando una fuente de luz concreta, es perfectamente correcto calcular los valores colorimétricos para cualquier iluminante conocido (Alvarado, 2001; Prieto, 2010, Salazar 2010; Tapp *et al.*, 2011).

1.8.1.1 Color

Se puede definir al color en el sentido físico como la distribución de energía de una luz reflejada o transmitida por un alimento en particular. La energía está implícita en el espectro electromagnético continuo en intervalos que van desde longitudes de onda desde 10^{-5} hasta 10^{17} nm. La porción del espectro que es sensible para el ojo humano (380 a 780 nm) solo es una pequeña porción de ese espectro (Alvarado, 2001; Salazar, 2010).

La luz visible se compone de una banda de frecuencias relativamente estrecha en el espectro de la energía electromagnética. Un cuerpo que refleja luz que tiene más o menos todas las longitudes de onda visibles, aparece como blanco al observador. Sin embargo, un cuerpo que es propicio a reflejar un rango limitado del espectro visible muestra algunas tonalidades de color. Por ejemplo, los objetos verdes reflejan luz con longitudes de ondas principalmente entre los 500 y 570 nm, mientras que absorben la mayoría de la energía a otras longitudes de onda (Alvarado, 2001; Salazar, 2010).

El *Tono* es un atributo asociado con la longitud de onda dominante en una mezcla de ondas de luz. Así, el tono representa el color percibido por el observador; cuando llamamos a un objeto rojo, naranja o amarillo estamos especificando el tono.

La *Saturación* se refiere a que tan puro es el color, es decir, cuánto blanco se mezcla con él. Se parte del color blanco hasta llegar al color totalmente saturado.

La *Claridad* implica la noción que percibimos de la intensidad de luz en un objeto reflectante, es decir, que refleja la luz pero no tiene luz propia. El intervalo de claridades está comprendido entre el blanco y el negro pasando por todos los grises.

El *Brillo* se usa en lugar de la claridad para referirse a la intensidad percibida por un objeto con luz propia (emitida y no reflejada), tal como una bombilla, el Sol, etc.

La *Crominancia* engloba la información que aportan el tono y la saturación, por lo que podemos considerar un color caracterizado por su brillo y crominancia.

El color es una cuestión de percepción y de interpretación subjetiva. Incluso si varias personas observan un mismo objeto (en este caso, una manzana), obtendrán referencias y experiencias distintas y expresarán absolutamente el mismo color con palabras completamente diferentes.

El ser humano a través del ojo observa diferentes colores del espectro (rojo, naranja, amarillo, verde, azul, añil y violeta) de acuerdo con la longitud de onda de la luz visible (Alvarado, 2001; Salazar, 2010; Tapp, *et al.*, 2011).

La región de luz visible va desde 380 hasta 780 nm (Figura 17). La luz reflejada de un objeto y que reconocemos como color es (con la excepción de la luz monocromática creada por el hombre) una mezcla de luz a distintas longitudes de onda dentro de la región visible.

El color además de ser subjetivo, depende de lo siguiente:

- Fuente de luz. La exposición de un objeto a distintos tipos de iluminación hace que parezca diferente.

- Fondo. Si se coloca un objeto en un fondo claro, éste parecerá apagado con respecto a utilizar un fondo oscuro.
- Características direccionales. El ángulo de visualización de un objeto deberá ser constante para una lectura precisa del color.
- Observador (Alvarado, 2001; Salazar, 2010; Tapp, *et al.*, 2011).

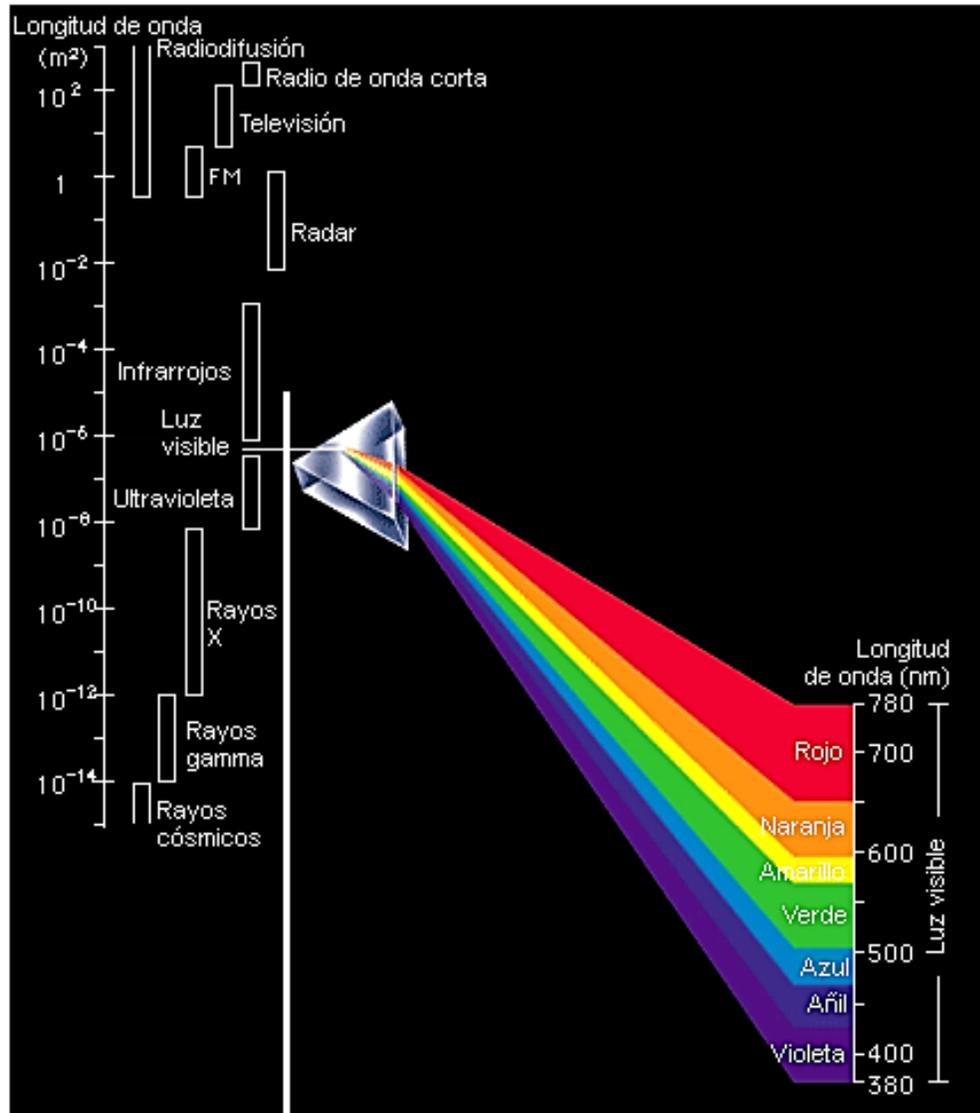


Figura 17. Espectro de luz visible

Fuente: Konica Minolta, 2012

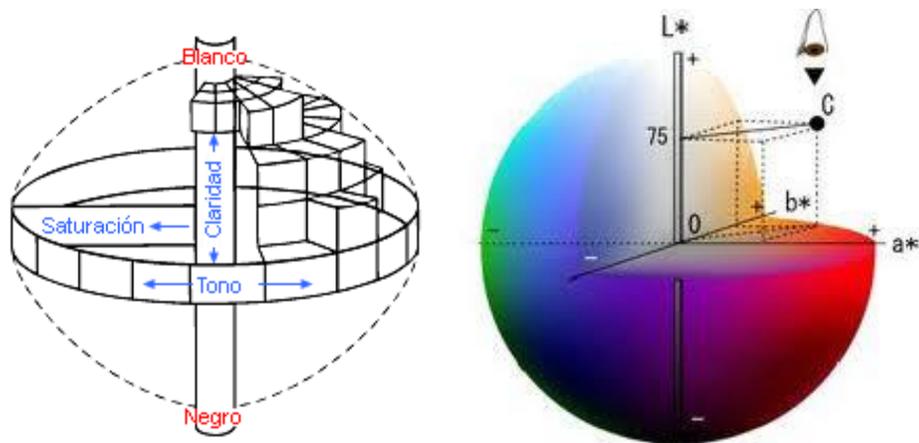


Figura 18. Espacio tridimensional de los atributos de color

Fuente: Konica Minolta, 2012

Sistema de medición del color CIE

Con el fin de normalizar la medición del color, en 1931 la CIE (*Comisión Internationale des l'Eclairage*) definió el espacio físico de colores fundado en la teoría de la percepción tricromática de Young, basándose en fuentes estándar de iluminación, condiciones exactas de observación, unidades apropiadas y congruentes y curvas estándar para el observador. La CIE definió varias fuentes de iluminación normalizadas en función de su curva de distribución espectral y de la temperatura del color.

El CIE estableció que la validación de los métodos para medir el color en alimentos no depende de la corrección de la teoría tricromática y se basan en factores sumamente simples (Alvarado, 2001; Salazar, 2010; Tapp, *et al.*, 2011).

Los tres parámetros en el modelo representan la luminosidad de color (L^* , $L^*= 0$ rendimientos negro y $L^*= 100$ indica blanca), su posición entre rojo y verde (a^* , valores negativos indican verde mientras valores positivos indican rojo) y su posición entre amarillo y azul (b^* , valores negativos indican azul y valores positivos indican amarillo).

La CIE modificó su sistema en 1971 proponiendo un nuevo espacio cromático mediante coordenadas cilíndricas de claridad (L^*), croma o saturación (C^*) y tonalidad (h^*), además

de las coordenadas rectangulares L^* , a^* y b^* . Existen una serie de relaciones matemáticas para convertir los valores triestímulo X , Y , Z a los valores L^* , a^* y b^* :

$$L^* = 116 \cdot f(Y/Y_n) \quad (8)$$

$$a^* = 500 \cdot f(X/X_n) - f(Y/Y_n) \quad (9)$$

$$b^* = 200 \cdot f(Y/Y_n) - f(Z/Z_n) \quad (10)$$

Donde X_n , Y_n y Z_n corresponden al iluminante utilizado para un observador apropiado.

La solución de estas relaciones depende del valor f , si este es mayor, menor o igual a 0.008856; la soluciones más frecuentes son:

$$L^* = 116 (Y/Y_n)^{0.33} - 16 \quad (11)$$

$$a^* = 500 [(X/X_n)^{0.33} - (Y/Y_n)^{0.33}] \quad (12)$$

$$b^* = 200 [(Y/Y_n)^{0.33} - (Z/Z_n)^{0.33}] \quad (13)$$

Cuando estas coordenadas cartesianas son transformadas a coordenadas cilíndricas, las variables utilizadas son la claridad, la croma o saturación (C^*) y el tono (h) definidas por:

$$C^* = (a^{*2} + b^{*2})^{0.5} \quad (14)$$

$$h = \text{arc tan } b^*/a^* \quad (15)$$

Finalmente, la diferencia del color entre dos muestras utilizando este sistema se define por (Alvarado, 2001; Salazar, 2010; Tapp, *et al.*, 2011):

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{0.5} \quad (16)$$

Las ventajas de utilizar esta última ecuación para evaluar la diferencia de color entre dos muestras se deben a que no hay otra ecuación consistente que proporcione tan altos coeficientes de correlación con respecto a los datos visuales; además permite que la

diferencia de color pueda ser separada en tres componentes: la diferencia de la claridad, de croma y de tono:

$$(\Delta L^*) = L^*_{\text{muestra}} - L^*_{\text{estándar}} \quad (17)$$

$$(\Delta C^*) = C^*_{\text{muestra}} - C^*_{\text{estándar}} \quad (18)$$

$$(\Delta h^*) = [(\Delta E^*)^2 - (\Delta L^*)^2 - (\Delta C^*)^2]^{0.5} \quad (19)$$

El valor numérico de cada componente viene dado en unidades CIELab.

Color en carne

La carne es un producto básico y muy apreciado en la alimentación, la aceptación por parte del consumidor está determinada por la primera impresión que recibe de un alimento, ésta se establece mediante la visualización de sus propiedades ópticas, la forma física y el medio de presentación. El color sin duda es la propiedad sensorial más importante, evaluada de forma consciente e inconsciente, éste determinará la aceptación o rechazo de un producto.

El color es uno de los principales atributos de calidad en la carne y productos cárnicos; los consumidores a través de su experiencia emplean los colores específicos para su elección, cualquier variación de éstos es inaceptable.

El color está determinado por el contenido de pigmentos cárnicos, principalmente la cantidad de mioglobina y hemoglobina en el músculo. Existe una gran variación individual en la calidad de la carne, tanto dentro como entre animales de la misma raza, sexo y ambiente, y sus causas no están bien estudiadas. Esta variación en la calidad de la carne parece estar causada por las diferencias en varios factores tanto intrínsecos (genéticos) como extrínsecos (ambientales), los cuales interactúan entre sí y determinan los procesos metabólicos en los periodos *ante-mortem*, el proceso de matanza y las etapas subsecuentes, afectando el color, por la influencia de la velocidad del pH y disminución de la temperatura (Salazar, 2010; Tapp, *et al.*, 2011).

Factores intrínsecos

- Alimentación: En general se admite que los animales adquieren tonalidades más oscuras cuando son alimentados con forrajes verdes, ya que al ingerir mayor cantidad de pigmentos liposolubles éstos quedan retenidos en la porción de grasa del músculo y en las grasas de depósito y cobertura.
- Composición: La composición *post-mortem* y de los órganos influye en la forma en cómo reaccionarán estos tejidos cuando se encuentren en diferentes medios ambientes.
- Edad: Con la edad del animal se aprecia un aumento de la concentración de pigmentos hemínicos de la carne.
- Ejercicio: Los músculos ejercitados siempre serán más oscuros en color, ya que el ejercicio estimula la formación de mioglobina que se traduce en más color, lo cual significa que dentro del mismo animal, puede haber variaciones en el color de sus músculos.
- Especie: Las principales especies son bovinos, ovinos, caprinos, porcinos y las aves, y en menor número los conejos y los équidos, cuya susceptibilidad oxidativa y contenido muscular de la mioglobina difiere entre cada una de ellas.
- Raza: Se puede decir que la intensidad de color rojo es la que tiene mayor variabilidad entre razas, esto debido al metabolismo y tamaño de músculos, según su aptitud de producción y al porcentaje de fibras blancas rojas e intermedias.
- Sexo: Se observa mayor valor de luminosidad (L^*) en músculos de hembras debido al mayor contenido de grasa intramuscular que guardan en relación a los machos.
- Microorganismos: Otra variable que afecta la estabilidad del color es la cantidad de microorganismos que se encuentran presentes; la decoloración de la carne se puede deber a cepas de microorganismos alterantes que producen Sulfuro de hidrógeno, que se combina con la mioglobina para formar sulfo-mioglobina verde (Salazar, 2010; Tapp, *et al.*, 2011).

Factores extrínsecos

- Durante el manejo *ante-mortem*: Dentro de esta clasificación se encuentran características del bienestar animal, como el ayuno y transporte de los animales antes de su matanza en los rastros.
- Durante la matanza: Esta etapa es muy importante y consta de 3 etapas que son la contención, insensibilización y desangrado, las cuales si no se ejecutan de manera correcta pueden llegar a tener un impacto negativo en la calidad de la carne, favoreciendo el desarrollo de músculos DFD (*Dry, Firm and Dark* – seca, firme y oscura) o PSE (*Pale, Soft and Exudative* – pálida, suave y exudativa).
- Durante el manejo *post-mortem*: El pH es el más importante, ya que su aumento o disminución afecta directamente el color de la carne; también se encuentran factores como la luz, la temperatura de almacenamiento, atmósferas con o sin oxígeno, el empaque y las presiones a las que se encuentre (Alvarado, 2001; Tapp, *et al.*, 2011).

Si se analiza la composición del músculo en las principales especies productoras de carne, se comprueba que la mayor proporción corresponde al agua. La relación agua/proteína se mantiene bastante constante y es un parámetro indicativo de la calidad de la carne. Las grasas varían mucho, según la procedencia del músculo, siendo más abundantes en porcinos. Entre las materias nitrogenadas no proteicas están la creatina y creatinina, cuya proporción en carne también es bastante constante y constituyen parámetros de calidad que permiten conocer el contenido en carne de embutidos y conservas (Badui, 2006; Fennema, 2010).

1.8.2 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

La calorimetría permite medir el calor en cualquiera de sus manifestaciones, algo que es bastante complicado debido a que el calor no se puede contener. Es la rama de la termodinámica que mide la cantidad de energía generada en procesos de intercambio de calor, y sus cálculos se fundamentan en los siguientes principios:

- Cuando se ponen en contacto 2 cuerpos a diferentes temperaturas, el más caliente tiende a ceder calor al frío, hasta que ambos quedan a una temperatura intermedia de las que tenían al principio; esto ocurre respetando la Ley cero de la termodinámica.
- La cantidad de calor ganado por un cuerpo, es exactamente igual al cedido por el otro cuerpo. Este principio es la conocida primera ley de la termodinámica donde se enuncia el principio de la conservación de la energía.

Es fácilmente determinable todo el flujo de calor (q) que acompaña a los cambios químicos, mediante la medición estrictamente controlada de las variaciones de temperatura (ΔT), esto solo puede efectuarse solamente si existen condiciones de presión y/o volumen constante en un sistema adiabático que evite que haya flujo de calor del sistema al medio. Cuando se requieren incrementos moderados de la temperatura se utiliza el calor específico, ya que es aproximadamente constante con respecto a la temperatura, como se puede apreciar en la siguiente ecuación:

$$\Delta H = q_p = m \cdot C_p \cdot \Delta T \quad (20)$$

Donde ΔH son las variaciones de entalpía sufridas por el sistema, m es la masa propia de ese sistema, ΔT es el cambio de la temperatura y C_p es el calor específico a presión constante (Bertram *et al.*, 2006; Cassel y Packer, 2010; TA Instruments, 2012; Verdonck *et al.*, 1999).

El Calorímetro Diferencial de Barrido (DSC por sus siglas en inglés *Differential Scanning Calorimetry*) determina la temperatura y flujo de calor asociado con las transiciones de materiales como una función del tiempo y la temperatura. Éste también provee datos cualitativos y cuantitativos de endotermos (absorción de calor) y exotermos (liberación de calor) en el procesado de materiales durante transiciones físicas que son causadas por cambios de fase, fusión, oxidación y otros relacionados con intercambio de calor. Esta información ayuda a los científicos o ingenieros a la ejecución o identificación de procesos.

La mayoría de los estudios calorimétricos se realizan a presión constante, bajo esta circunstancia es mejor usar la Entalpía en lugar de la Energía interna y la Capacidad calorífica a presión constante (C_p) en lugar de la Capacidad calorífica a volumen constante (C_v). Análogamente a estos cambios uno tiene que utilizar la energía libre de Gibbs (G), también llamada “Entalpía libre”, en lugar de la energía libre de Helmholtz (F).

En el cuadro 4 se enlistan los principales efectos detectados por el DSC, así como su naturaleza, es decir, si es endotérmico, exotérmico o genera algún cambio en la línea base, la mayoría de las descomposiciones y reacciones de polimerización que no son reversibles, por lo que se denominan como “*transiciones de fase*”, las cuales están definidas como un cambio físico y químico homogéneo manejado por una fuerza llamada “potencial químico (μ)” que a su vez se encuentra integrado por la presión y la temperatura. Las transiciones de fase se pueden dividir de acuerdo a sus características. Las transiciones de fase tradicionalmente se clasifican de acuerdo a los cambios termodinámicos que ocurren en las temperaturas de transición. Por ejemplo, los materiales que son amorfos exhiben un cambio en el C_p sobre una transición vítrea. Sin embargo, la transición vítrea es una propiedad de un sistema que no está en equilibrio, y la transición no puede ser clasificada como una transición de fase pura, pero puede ser considerada como una transición de estado (Bertram *et al.*, 2006; Meléndez *et al.*, 2011; Cassel y Packer, 2010; Solís, 2006; TA Instruments, 2012; Verdonck *et al.*, 1999).

Las aplicaciones más comunes en alimentos, incluyen las determinaciones de transiciones de fase, que no es más que la transformación de un estado de la materia a otro y se clasifican en:

- *Primer orden*: Es la primera derivada del potencial químico o de la energía libre que muestra una discontinuidad en la temperatura de transición, por lo que es definida por la ecuación 21, donde la energía se modifica en función del cambio existente en la temperatura cuando la presión es constante en el sistema, lo que resulta en el valor negativo de la entropía. Ejemplos son como la cristalización y la fusión de agua, lípidos y otros componentes, desnaturalización de proteínas y gelatinización-retrogradación del almidón.

$$\left(\frac{\partial G}{\partial T}\right)_P = -S \quad (21)$$

- *Segundo orden:* Son aquellas que muestran cambios en la temperatura de transición por efectos de la segunda derivada del potencial químico o de la energía libre, definido por la ecuación 22, donde se ve modificada por efectos de la temperatura manteniendo la presión constante dando como resultado el negativo del cociente del calor específico y la temperatura. Analizadas con más frecuencia son las transiciones vítreas, que no son más que aquellas transiciones que ocurren en la matriz amorfa que se forma cuando se separa parte del agua, ya sea por efectos de una congelación o evaporación que compone la fracción líquida del alimento.

$$\left(\frac{\partial^2 G}{\partial T^2}\right)_P = -\frac{Cp}{T} \quad (22)$$

De aquí que la comparación de la curva de calentamiento con la curva de enfriamiento o tomando un recalentamiento, es además informativo como la naturaleza del fenómeno observado. La muestra podría ser pesada después de la experimentación para determinar si ocurre algún cambio en la masa durante la corrida experimental (Meléndez y Arjona, 2011; Rosas, 2012; Solís, 2006; TA Instruments, 2012).

En el instrumento, el flujo de calor es la diferencia de temperaturas entre la muestra y la referencia, la cual es medida, conforme la muestra es calentada a la velocidad requerida, esta diferencia de temperatura es entonces convertida a flujo de calor con el factor de conversión apropiado.

La señal de flujo de calor en el calorímetro está compuesta de dos partes importantes: una es el flujo de calor requerido para aumentar la temperatura de la muestra a la velocidad programada y está directamente relacionada con el Cp de la muestra; la otra es el flujo de calor que aumenta los procesos cinéticos que pueden ocurrir durante la corrida, por ejemplo los cambios de fase como la fusión, la cristalización, así como otras transiciones de segundo orden como puede ser la transición vítrea que se encuentra asociada a la entalpía

de relajación; por consiguiente el flujo de calor lo podemos expresar mediante la siguiente ecuación:

$$\frac{dQ}{dt} = m \cdot C_p \cdot \beta + f(T, t) \quad (23)$$

Donde m es la masa de la muestra analizada, C_p de la muestra con respecto a la línea base, la cual en general, depende de la temperatura, β es la velocidad de calentamiento y (T, t) representa el flujo de calor debido a los procesos cinéticos.

Cuadro 4. Tipos de efectos detectados en el DSC

ENDOTÉRMICO	EXOTÉRMICO
Fusión	Cristalización
Deshidratación	Oxidación
Transición vítrea	Combustión
Desnaturalización	Descomposición
Gelatinización	
Pirólisis	

Fuente: Solís, 2006

Calorimetría Diferencial de Barrido con Modulación de temperaturas (MTDSC)

Una modificación a la técnica del análisis térmico convencional es el “DSC-Modulado” o mejor conocido como MTDSC. El concepto involucra la imposición de una onda sinusoidal sobre el calentamiento lineal, así que las porciones de cada ciclo son diferentes en las velocidades de calentamiento y enfriamiento, estas señales son convertidas mediante programas manejados por el equipo como lo es la transformada discreta de Fourier (DFT).

El DSC convencional lleva a cabo mediciones de la diferencia de flujo de calor entre la muestra y la referencia en función del tiempo al aplicar un perfil de temperatura lineal, ya sea calentando o enfriando. La MTDSC no utiliza únicamente este perfil de temperatura, si

no que añade simultáneamente otro que es sinusoidal o modulado. Las posibles respuestas que se pueden obtener son las siguientes (Meléndez y Arjona, 2011; Meléndez *et al.*, 2011; Cassel y Packer, 2010; Rosas, 2012; TA Instruments, 2012; Verdonck *et al.*, 1999):

A. Flujo de calor total

Éste es la suma de algunos de los eventos térmicos que ocurren en la muestra analizada mientras se enfría o calienta, este tipo de calor está regido por la ecuación 24:

$$\frac{dQ}{dt} = C_p \cdot \frac{dT}{dt} + f(T, f) \quad (24)$$

El equipo MTDSC puede estimar el flujo de calor total y así mismo evaluar cada uno de los componentes por las dos velocidades simultáneas de calentamiento. La velocidad de calentamiento lineal provee la información acerca del flujo total de calor, mientras que la velocidad de calentamiento sinusoidal, proporciona la información correspondiente a la capacidad calorífica respecto al cambio de temperatura. Cuando se inserta la expresión para la temperatura modulada en la ecuación para el flujo de calor, resulta la ecuación 25, que representa el flujo de calor modulado producido durante un experimento MTDSC:

$$\frac{dQ}{dt} = C_p(q + A\omega \cos(\omega t)) + f'(t, T) + C \sin(\omega t) \quad (25)$$

Donde $(q + A\omega \cos(\omega t))$ es la temperatura modulada derivada, $f'(t, T)$ es la respuesta cinética excluyendo el efecto de la modulación y C es la amplitud de la respuesta cinética a la modulación.

B. Flujo de calor reversible

Al aplicarse dos velocidades de calentamiento de manera simultánea se obtienen dos componentes del flujo de calor. El primero, como se mencionó con anterioridad, depende de la velocidad de calentamiento y tiene una estrecha dependencia con el C_p . Es denominado “flujo de calor reversible” y cuantitativamente se obtiene del producto del valor negativo del C_p y la velocidad de calentamiento.

C. Flujo de calor no reversible

El segundo componente del flujo de calor total que se puede obtener en el MTDSC, es el flujo de calor no reversible, que se encuentra asociado con los eventos cinéticos y que incluye un parámetro de orden. Cuantitativamente, este parámetro es igual a la resta aritmética del flujo de calor reversible al flujo de calor total.

$$\text{Flujo de calor no reversible} = (\text{Flujo de calor total}) - (\text{Flujo de calor reversible}) \quad (26)$$

D. Capacidad calorífica específica

Es la cantidad básica derivada de las mediciones calorimétricas. En el MTDSC, el C_p está definido cualitativamente como la relación de la amplitud del flujo de calor y la amplitud de la velocidad de calentamiento, como se muestra en la ecuación 27 (Meléndez y Arjona, 2011):

$$\left(\frac{AMFC}{AMVC}\right) K = C_p \quad (27)$$

En donde K , es una constante de medición del equipo, que se determina mediante una calibración y se encuentra definida como la relación entre el C_p medido por el equipo y el conocido.

El equipo MTDSC, utiliza el método de la Transformada Discreta de Fourier (DFT) para determinar el valor del C_p de la muestra, midiendo continuamente la modulación del seno de la onda en las señales de temperatura y flujo de calor, obteniéndose así la ecuación 28:

$$C_p = K \left(\frac{Q_{amp}}{T_{amp}}\right) \left(\frac{p}{2\pi}\right) \quad (28)$$

E. Velocidad de calentamiento

La selección de la velocidad de calentamiento es importante, pues al seleccionar velocidades elevadas, se reducen los tiempos de trabajo, pero se sacrifica la resolución en los gráficos obtenidos. Si la velocidad es baja, se pierde sensibilidad y se aumenta el tiempo de experimentación.

F. Periodo de modulación

Es el tiempo, en segundos, necesario para completar un ciclo de modulación. El equipo permite una variación de 10 a 200 segundos. El periodo de modulación debe ser lo suficientemente largo para que permita que el calor fluya del sensor a la muestra.

G. Amplitud de modulación

Es el cambio sinusoidal de la temperatura que se sobrepondrá a la velocidad de calentamiento lineal. La amplitud puede ser seleccionada a partir del periodo y la velocidad de calentamiento lineal de manera que permita una buena sensibilidad. De manera específica, se recurre a la experiencia reportada en la literatura especializada (Bertram *et al.*, 2006; Cassel y Packer, 2010; Rosas, 2012; TA Instruments, 2012; Verdonck *et al.*, 1999).

Selección del modo y señales en el MTDSC

Se puede elegir el modo de operación de acuerdo a las señales mostradas en el cuadro 5.

Cuadro 5. Señales que se pueden seleccionar en el MTDSC

NOMBRE	UNIDAD PREDETERMINADA	DEFINICIÓN
Tiempo	min	Tiempo desde que empieza la corrida
Temperatura	°C	Promedio de la temperatura de la muestra
Flujo de calor	mW	Flujo de calor total
Temperatura modulada	°C	Temperatura medida de la muestra
Flujo de calor modulado	mW	Flujo de calor medido
Seno del ángulo de referencia	Rad	Seno del ángulo de la onda de modulación
Flujo de calor reversible	mW	Componente de la capacidad calorífica deconvulsiónada del flujo de calor total
Flujo de calor no reversible	mW	Componente cinético del flujo de calor
Capacidad calorífica	mJ / °C	Capacidad calorífica deconvulsiónada
Amplitud de la temperatura	°C	Amplitud de la temperatura modulada
Amplitud del flujo de calor	mW	Amplitud de la modulación del flujo de calor

Fuente: Rosas, 2012.

El análisis térmico por calorimetría MTDSC es una técnica muy conveniente para la determinación de la desnaturalización de proteínas en un sistema, ya que se mide el calor

absorbido por efectos de la temperatura debido a que este tipo de procesos es de carácter endotérmico y por consiguiente hay modificaciones estructurales (Hammarström y Jonsson, 2013).

JUSTIFICACIÓN

Las proteínas de origen animal son uno de los constituyentes más importantes de la carne, éstas juegan un papel primordial para la nutrición del ser humano, ya que son de una excelente calidad. Las proteínas son susceptibles de sufrir modificaciones debido a las diferentes condiciones bajo las cuales son manejadas, en este sentido la congelación de la carne puede propiciar que los solutos generen sitios de alta presión osmótica y que sean éstos responsables de algunos de los cambios estructurales más importantes que ocurren a las proteínas. Por otra parte, el agua contenida en ella va a cambiar su estructura al interactuar con otras moléculas de agua, para alinearse y constituir al agua congelada. La velocidad con que se lleve a cabo el proceso de congelación, ya sea en cámara o con fluidos criogénicos, ha demostrado tener un efecto importante en el tamaño y la forma de los cristales que se forman, por lo que esto tiene consecuencias importantes en el comportamiento del agua durante procesos posteriores como la liofilización, de lo anterior surge la importancia de evaluar el efecto que tiene la congelación-liofilización en los cambios estructurales de las proteínas y de éstos con sus estructuras químicas y la termodinámica que siguen, los cuales se verán reflejados en los atributos de calidad de la carne procesada y conservada de este modo.

HIPÓTESIS

La congelación en cámara de ultracongelación REVCO como parte del proceso de liofilización tendrá un efecto directo en los cambios de color y apariencia y se expresarán en una relación con las entalpías y temperaturas de transición que expliquen la desnaturalización de las proteínas de la carne.

2. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

2.1 Objetivos

2.1.1 General

Evaluar el efecto de la congelación-liofilización de la carne de cerdo mediante técnicas físicas, químicas y termodinámicas para fundamentar los cambios ocurridos en las proteínas.

2.1.2 Particulares

- Evaluar el efecto de la liofilización de la carne de cerdo mediante espectrofotometría de las proteínas propias del sistema para fundamentar los cambios en los atributos de calidad en términos de color.
- Evaluar las modificaciones en las estructuras proteicas de la carne de cerdo liofilizada mediante técnicas instrumentales para relacionarlas con la desnaturalización de proteínas.
- Evaluar el efecto en los cambios de las propiedades termodinámicas de las proteínas en carne de cerdo liofilizada, mediante Calorimetría TMDSC, para sustentar los cambios en la desnaturalización y atributos de calidad en términos de color por efecto del proceso.

2.2 Variables

2.2.1 De control

- *De la carne refrigerada:* Edad, peso, sexo, raza, sacrificio, tiempo de desangrado, tipo de alimentación, tipo de músculo, tiempo post-mortem, geometría, tamaño.
- *De la carne congelada:* Tiempo de proceso, velocidad de congelación, temperatura del medio de congelación.
- *De la carne descongelada:* Tiempo de descongelación, velocidad de descongelación, temperatura de descongelación.
- *De la carne liofilizada:* Tiempo de proceso, vacío, temperatura de condensador.

2.2.2 De respuesta

Parámetros de perfil de color (L^* , a^* y b^*), Ángulo hue (h^*), Cambio de color (ΔE^*) Claridad o croma (C^*), Longitud de onda (λ), Reflectancia, Fracciones de mioglobina superficial, Temperaturas de desnaturalización de proteínas, Requerimientos energéticos (Entalpía), C_p termodinámico, Fracción de agua congelada.

2.2.3 Niveles de variación

- Carne refrigerada
- Carne congelada
- Carne descongelada
- Carne liofilizada
- Carne rehidratada

2.2.4 Unidades experimentales

Unidades provenientes de 5 músculos *Longissimus dorsi*

2.3 Materiales y métodos

2.3.1 Manejo de la materia prima

2.3.1.1 Corte de la carne

Se trabajó con carne de cerdo (Figura 19a) proveniente de machos castrados de 6 meses de edad, con un peso aproximado de 100 kg y 24 h *post-mortem*, mantenida en cámara de refrigeración a 4 ± 2 °C y donde el promedio del peso de las cañas fue de 3.7 kg; se recomendó al proveedor que las condiciones de sacrificio fueran constantes; se utilizó el músculo *Longissimus dorsi* donde se llevó a cabo el corte de las geometrías de carne de 1cm^3 (Figura 19b). (Meléndez *et al.*, 2011).



Figura 19. (a) Carne de cerdo empacada de acuerdo a los lineamientos de la AMSA; (b) Geometrías de carne de cerdo

La carne fue envasada en un empaque poche de Sealed Air Cryovac® México, (Figura 19a) Fabricado de material laminado bajo proceso de co-extrusión para así otorgarle propiedades finales de resistencia al abuso y como barrera de oxígeno, posee una capa exterior de nylon y el sellante es a base de polietileno modificado; las dimensiones son 25.4 cm de ancho y 30.48 cm de largo, con un espesor nominal de 0.01524 cm. Dentro de sus propiedades físicas se encuentra la transmisión de oxígeno de $3 \text{ cm}^3 (\text{m}^2 / \text{día}, \text{a } 23 \text{ }^\circ\text{C y } 0\% \text{ HR})$ y la transmisión de vapor de agua es de $4 \text{ g} (\text{m}^2 / \text{día}, \text{a } 38 \text{ }^\circ\text{C y } 98\% \text{ HR})$, posee una resistencia al sello de $1.4286 \text{ kg} / \text{cm}$, sus características funcionales es que no presenta olores objetables, no transmite olores ni sabores residuales al producto, el material ofrece excelente hermeticidad para garantizar el aislamiento del producto y mantiene sus propiedades durante el almacenamiento y aplicación, siempre y cuando se respeten las condiciones de uso.

2.3.1.2 Proceso de congelación – descongelación

Posteriormente se colocaron los cubos de carne individualmente dentro de contenedores de plástico con un volumen aproximado de 50 mL, debidamente cerrados, etiquetados e identificados para su seguimiento a través de la investigación, tras ser congelados por convección forzada en cámara de ultracongelación (Figura 20) marca REVCO modelo ULTIMA II (NC, USA) a una temperatura de $-50 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ en el gabinete, durante 24 h.



Figura 20. Cámara de congelación REVCO ULTIMA II

El proceso de descongelación para hacer las determinaciones de cada muestra se llevó a cabo de manera controlada, donde las muestras son retiradas de la cámara de ultracongelación y colocadas inmediatamente en una cámara de refrigeración vertical (Figura 21) marca Nieto (México) a una temperatura de 4 ± 2 °C, con una humedad relativa del 70% y una velocidad de aire de $2.1 \text{ m}\cdot\text{s}^{-1}$ por un periodo de 5 h (Meléndez *et al.*, 2011).



Figura 21. Cámara de refrigeración vertical Nieto

2.3.1.3 Proceso de liofilización

Después de las 24 h de congelación, se llevó a cabo el proceso de liofilización en un equipo de laboratorio marca LABCONCO (Figura 22) modelo Freezone 4.5 (KC, USA), con una temperatura del condensador de $-50\text{ }^{\circ}\text{C}$, una presión de 0.035 mBar, por un tiempo de 24 h, donde se colocaron las muestras en 4 vasos de 600 mL, y 4 de 900 mL de capacidad, dejando espacio suficiente entre ellos para que se lleve a cabo correctamente la sublimación del agua de las muestras de carne.

Posterior al término del proceso de liofilización, las muestras se retiraron de los contenedores secundarios y se cerraron los contenedores primarios para evitar que las muestras se rehidrataran con la humedad presente del ambiente, se trasladaron y almacenaron en la cámara de refrigeración a $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ (Meléndez *et al.*, 2011).



Figura 22. Liofilizadora LABCONCO Freezone 4.5

2.3.1.4 Proceso de rehidratación

Se rehidrataron las muestras liofilizadas para su análisis, el proceso se llevó a cabo por inmersión en agua destilada a $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 2 h para así lograr una mejor absorción y poder

realizar las pruebas propuestas y poder comparar si la deshidratación por congelación y vacío tiene efectos sobre las proteínas de la carne (Meléndez *et al.*, 2011).

2.3.2 *Análisis Químico Proximal*

Se realizó el Análisis Químico Proximal de la carne refrigerada, utilizando los métodos descritos por al AOAC en 2000, que consistió en lo siguiente:

Para la determinación de **humedad** (AOAC, 986.21) de la muestra se siguió el método de destilación azeotrópica (conocida como Destilación Dean Stark) el cual mide el volumen de agua liberada por la muestra durante su destilación continua junto con un disolvente inmiscible. El agua y el tolueno forman un azeótropo con punto de ebullición menor al del agua, debido a que estos dos líquidos son inmiscibles, el destilado que es condensado se separa en dos capas y por diferencia de densidades ésta tiende a depositarse al fondo de la trampa lo que permite realizar la medición del contenido de humedad.

Equipos y reactivos:

- Matraz Erlenmeyer o matraz de cuello corto (250 mL)
- Refrigerante de rosario
- Trampa de humedad Bidwell Sterling
- Matraz bola esmerilado
- Tolueno

Procedimiento:

Se transfirieron 10 g de muestra a un matraz de destilación, se añadió suficiente cantidad de tolueno, alrededor de 75 mL a 100 mL como para cubrir por completo la muestra. Posteriormente se introdujo en el sistema el agitador magnético y se conectó el “trap” colector y el refrigerante de rosario. Se rellenó el frasco con tolueno a través del refrigerante, y se colocó el dispositivo sobre una parrilla eléctrica para ir elevando lentamente la temperatura del tolueno hasta que llegue a su punto de ebullición, se conservó la destilación durante 5 minutos y se enfrió el “trap” a temperatura ambiente y finalmente se leyó el volumen de H₂O (Figura 23).



Figura 23. Equipo para la destilación azeotrópica

$$\% \text{Humedad} = \left(\frac{V}{W} \right) \cdot 100 \quad (29)$$

Dónde:

W = peso de la muestra (g)

V = volumen del agua recogida (mL)

Para el caso de la determinación de las **cenizas totales**, se utilizó la metodología de incineración directa (AOAC, 990.08) el cual se basa en el residuo inorgánico (minerales) que queda después de incinerar la materia orgánica. Se calcula el residuo por diferencia de peso. Las cenizas de la carne están constituidas por el residuo inorgánico resultante. Las cenizas obtenidas no tienen necesariamente la misma composición que la materia mineral presente en la carne, ya que puede haber pérdidas por volatilización o alguna interacción entre los constituyentes.

Equipos y reactivos:

- Crisol de platino (7 cm de diámetro)
- Mufla Linderberg SB
- Mechero Fischer

Procedimiento:

Se pesaron 5 g de la muestra en un crisol, previamente calcinada y enfriada antes de pesarla. Para disgregar las costras se empleó una varilla de vidrio, que se limpió de las posibles partículas que hayan quedado adheridas con partículas de papel filtro libre de cenizas. Estos restos de papel se añadieron al crisol y se incineraron junto con la muestra.



Figura 24. Mufla Linderberg SB para incineración directa

La muestra se calentó poniendo el crisol cuidadosamente sobre la llama del mechero hasta que la masa incinerada estuvo en condiciones de pesarla; se colocó el crisol en la mufla (ver Figura 24) a 550 °C y se incineró durante 3 h hasta que la ceniza aparece blanca; se pasa inmediatamente al desecador, y se enfría a temperatura ambiente para pesarla de inmediato.

$$\% \text{Cenizas} = \left[\frac{(m_2 - m_1)}{P} \right] \cdot 100 \quad (30)$$

m_1 = masa del crisol vacío (g)

m_2 = masa del crisol con la muestra tras la incineración (g)

P = peso de la muestra (g)

Para la determinación de **lípidos** se llevó a cabo la metodología de extracción por solubilización de Werner-Schmidt (AOAC, 960.39) el cual se fundamenta en la realización de una hidrólisis que permite la liberación de materia lipídica contenida en forma intramolecular con las proteínas. Esto incluye la ebullición de la muestra en HCl [3 N] seguido de lavado con agua antes de la etapa de extracción con éter.

Equipos y reactivos:

- Embudos de separación
- Matraces bola de fondo plano 24/40
- Manta calefactora
- Etanol 96%
- Amoníaco 25%
- Éter de petróleo
- Éter dietílico
- Ácido clorhídrico 25%

Procedimiento:

En el método ácido (Werner-Schmidt) se pesaron 7 g de muestra que es calentada en baño de agua en ebullición con ácido clorhídrico para romper las proteínas y separar la grasa como una capa que flota sobre el líquido ácido. Las proteínas se disolvieron en el ácido y la grasa que se separó fue extraída por agitación, cinco veces, con éter dietílico o con una mezcla de éter dietílico y éter de petróleo (Figura 25).

$$\% \text{Lípidos} = \left[\frac{(W_2 - W_1)}{g} \right] \cdot 100 \quad (31)$$

g = Peso inicial de la muestra (g)

W₁ = Matraz sin muestra (g)

W₂ = Matraz con la muestra de grasa (g)



Figura 25. Solubilización de lípidos Werner-Schmidt

Para la cuantificación de **proteínas** se llevó a cabo el método micro Kjeldahl (AOAC, 977.14) que permite determinar el nitrógeno proteico. Este método se fundamenta en la valoración que se basa en la destrucción oxidativa, por calentamiento en ácido sulfúrico concentrado de los componentes de la carne, siendo el nitrógeno el componente transformado a amoníaco que queda retenido como sulfato de amonio.

Equipos y reactivos

- Balanza analítica
- Equipo micro- Kjeldahl
- Manta calefactora
- Potenciómetro
- Ácido sulfúrico concentrado
- Sulfato de potasio o sulfato de sodio
- Sulfato cúprico

- Solución de hidróxido de sodio 15%
- Solución de ácido sulfúrico 0.1 N
- Solución de hidróxido de sodio 30%
- Solución indicadora de rojo de metilo 1% en etanol.
- Solución de hidróxido de sodio 0.1 N
- Ácido bórico 3%
- Indicador de Tashiro: rojo de metilo 0.1% y azul de metileno 0.1% en relación de 2:1, en alcohol etílico.
- Solución de ácido clorhídrico 0.1 N.

Procedimiento

Se pesó 1 g de muestra homogeneizada en un matraz de digestión micro-Kjeldahl (Figura 26); posteriormente se agregaron 3 perlas de vidrio, 10 g de sulfato de potasio, 0.5 g de sulfato cúprico y 20 mL de ácido sulfúrico concentrado. Al finalizar se conectó el matraz a la trampa de absorción que contiene 250 mL de hidróxido de sodio al 15 %. El disco poroso produce la división de los humos en finas burbujas con el fin de facilitar la absorción. Posteriormente se calentó en manta calefactora y una vez que la solución se volvió cristalina se dejó en ebullición 15 min más.

Se dejó enfriar y se agregaron 200 mL de agua destilada, se volvió a conectar el matraz al aparato de destilación, y se adicionaron lentamente 100 mL de NaOH al 30% por el embudo, titular con HCl 0.1 N.

$$\% \text{Nitrógeno} = \frac{14 \cdot N \cdot V \cdot 100}{m \cdot 1000} \quad (32)$$

$$\% \text{Proteína} = \frac{14 \cdot N \cdot V \cdot 100 \cdot f}{m \cdot 1000} \quad (33)$$

Dónde:

V = Gasto de HCl (mL)

N = Normalidad del HCl

m = Peso de la muestra (g)

f = Factor de conversión (6.25 para carne)



Figura 26. Digestor micro-Kjeldahl

2.3.3 Análisis fisicoquímicos

Se hizo la determinación de las propiedades fisicoquímicas de la carne refrigerada, para corroborar el estado en que se encuentra la carne antes de ser procesada. Las propiedades a evaluar fueron la actividad de agua (Aw) y el potencial de hidrógeno (pH) (Gómez, 1994; Lab-Ferrer, 2007).

Para la determinación de pH se utilizaron muestras de carne de 10 g mediante el uso de un potenciómetro marca Thermo Scientific ORION modelos 5-Star (MA, USA) (Figura 27) con un electrodo de punción, la lectura es directa.



Figura 27. Potenciómetro Orion 5-Star

La determinación de actividad de agua (A_w) se realizó con un higrómetro de punto de rocío (Figura 28) marca Decagon Devices modelo Pawkit (WA, USA), el cual fue calibrado con cloruro de sodio (NaCl) 6 molal con un valor estándar de A_w de 0.76; las lecturas son directas.



Figura 28. Higrómetro de punto de rocío para A_w en carne

2.3.4 Análisis de parámetros de perfil de color por espectrofotometría

Para determinar los parámetros de perfil de color en las muestras de carne, se utilizó el protocolo descrito por la Asociación Americana de Ciencia de la Carne (AMSA, 2012):

- Instrumento: Espectrofotómetro Konica Minolta CM 600d (Tokio, Japón) (Figura 29)

- Iluminante: A
- Tamaño de apertura: 8mm
- Angulo de observación: 10°
- Método de estandarización: Conforme a CIE N° 15, ISO 7724/1, DIN 5033 parte 7, ASTM E 1164 y JIS Z 8722.
- Software colector de datos: Spectra Magic NX
 - Valores tri-estímulo: De acuerdo al sistema CIE (L^* , a^* y b^*)
 - Intervalo de longitud de onda: 400 a 700 nm
 - Respuesta: % Reflectancia
 - Cálculos especiales: Ángulo hue, Cromo, Cambios totales en el color (ΔE^*), % de las fracciones de mioglobina superficial
- Número de lecturas por muestra: 1
- Análisis estadístico utilizado: Medidas de tendencia central y de dispersión, Análisis de varianza de 1 vía con su prueba de diferencia mínima significativa honesta (Tukey) (Montgomery, 1991).
- Tiempo de prueba: 1 minuto por muestra después de la apertura del envase
 - Frecuencia de exploración: Se usarán 10 muestras de 1 cm³, a las cuales se les hará mediciones individuales
- Tipo de envase utilizado: Empaque pouche de Sealed Air Cryovac® México, Fabricado de material laminado bajo proceso de co-extrusión para así otorgarle propiedades finales de resistencia al abuso y como barrera de oxígeno, posee una capa exterior de nylon y el sellante es a base de polietileno modificado; las dimensiones son 25.4 cm de ancho y 30.48 cm de largo, con un espesor nominal de 0.01524 cm. Dentro de sus propiedades físicas se encuentra la transmisión de oxígeno de 3 cm³ (m² / día, a 23 °C y 0% HR) y la transmisión de vapor de agua es de 4 g (m² / día, a 38 °C y 98% HR), posee una resistencia al sello de 1.4286 kg / cm, sus características funcionales es que no presenta olores objetables, no transmite olores ni sabores residuales al producto, el material ofrece excelente hermeticidad para garantizar el aislamiento del producto y mantiene sus propiedades

durante el almacenamiento y aplicación, siempre y cuando se respeten las condiciones de uso.

- Apertura del envase: Si, para cada prueba de acuerdo a los lineamientos de la AMSA.



Figura 29. Espectrofotómetro Konica Minolta CM 600d

Posterior a la calibración del instrumento, las muestras se adecuaron para tomar las lecturas, por lo que los cubos de carne (ya sea refrigerada, congelada-descongelada o liofilizada) se colocaron individualmente en una celda de cuarzo (específica para las determinaciones) como se muestra en la Figura 30, y se posicionó sobre la muestra el cuarzo anti reflejante, cuidando que éste tuviera el mayor contacto con la muestra (Alvarado, 2001; AMSA, 2012; Salazar, 2010; Tapp *et al.*, 2011).



Figura 30. Muestra de carne en la celda de cuarzo

2.3.5 *Análisis microscópico*

Se realizó el análisis microscópico de las muestras frescas y liofilizadas con un microscopio de campo claro Axioskop 40 Carl Zeiss (Göttingen, Germany) acoplado a una cámara digital SSC-DC54A de Sony Electronics Inc. (NJ, USA) y un objetivo de 40x (Alvarado, 2001; Hernández y Ramírez, 2010).

2.3.6 *Análisis térmico por calorimetría TMDSC*

El instrumento que se empleó es un Calorímetro Diferencial de Barrido con Modulación de Temperatura, marca TA Instruments serie 2920 (NC, USA) (Figura 31), con un disco de constantán (aleación cobre - níquel; 55-45%) como elemento de transferencia de calor. Se utilizó nitrógeno como gas de purga a un flujo constante de $60 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, para evitar la condensación de agua dentro de la celda (Meléndez y Arjona, 2011; Meléndez *et al.*, 2011).

Calibración del equipo

La calibración del equipo se realizó con base en 4 aspectos fundamentales: línea base, constante de celda, temperatura y capacidad calorífica, a una velocidad de calentamiento de $5 \text{ }^\circ\text{C} / \text{min}$ y modulación de temperatura de $0.796 \text{ }^\circ\text{C} / 60 \text{ s}$.

La calibración de la línea base es importante para la evaluación del área bajo la curva, asegura un balance entre los flujos de calor. La calibración de la línea base debe hacerse en ausencia de muestra con la celda vacía.

La constante de celda es la relación entre el valor bibliográfico y el valor medido por el equipo del calor de fusión de un material estándar. Para la calibración de la temperatura se calienta o se enfría un material de punto de fusión conocido y se compara con el valor experimental; se utilizan materiales estándar igual que en la calibración de constante de celda y se deben de llevar a cabo en las mismas condiciones experimentales. Para este caso se calibró con Indio ($T_{\text{fusión}} = 156.6 \text{ }^\circ\text{C}$ y $\lambda_{\text{estándar}} = 28.71 \text{ J/g}$) (Meléndez y Arjona, 2011; Meléndez *et al.*, 2011; Solís, 2006).



Figura 31. Calorímetro TMDSC TA Instruments 2920

La calibración de la capacidad calorífica se llevó a cabo usando una muestra estándar de zafiro. Se relaciona el valor teórico reportado en las tablas con el valor reportado por el equipo a cada temperatura a las condiciones de 5 °C/min y la modulación correspondiente.

El procedimiento general para realizar la prueba es el siguiente:

1. Seleccionar y preparar la muestra. Esto involucra la preparación del tamaño y peso apropiado de la muestra con un sacabocados, bisturí y espátulas, donde se extrajo una porción de la carne de aproximadamente 14.8 ± 0.1 mg, la cual fue acomodada debidamente.
2. La selección del tipo de material de la charola y la encapsulación de la muestra en la charola.
3. Dar condiciones experimentales a través de los controladores TA.
4. Creación y selección del método térmico del controlador. En este caso para el análisis de la carne de cerdo se utilizarán las siguientes condiciones:
 - Equilibrado a -50 °C y a 10 °C
 - Modulado a ± 0.796 °C cada 60 s

- Isoterma para 120 s
 - Rampa de 5 °C / min a 150 °C
5. Colocar los accesorios externos requeridos como se muestra en la Figura 28 (flujo de gas de arrastre, sistema de enfriamiento a -50 °C con RCS (*Refrigerated Cooling System*)).
 6. Iniciar con la experimentación. (Bertram *et al.*, 2006; Cassel y Packer, 2010; Grinberg *et al.*, 2000; Meléndez y Arjona, 2011; Meléndez *et al.*, 2011; Solís, 2006; TA Instruments, 2012; Verdonck *et al.*, 1999).

3 ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

3.1 Análisis químico proximal (AQP)

Se realizó el Análisis Químico Proximal (AQP) de la carne refrigerada (AOAC, 2000). Los resultados se presentan en el cuadro 6, los cuales fueron contrastados con los resultados de Salazar, 2010; Meléndez *et al.*, 2011; Prieto, 2010; Prieto *et al.*, 2006 y Prieto *et al.*, 2009 no hay diferencia significativa, y se encuentran dentro de los parámetros de referencia:

Cuadro 6. Resultados del Análisis Químico Proximal

Método	Componente	Obtenido
Destilación azeotrópica (986.21)	Humedad	75.30 ± 1.19%
Extracción Werner-Schmidt (960.39)	Lípidos	1.87 ± 0.09%
Micro-Kjeldahl (977.14)	Proteína	21.83 ± 2.54%
Incineración directa (990.08)	Cenizas	1.0 ± 0.03%

3.2 Análisis fisicoquímicos

También se realizaron los análisis fisicoquímicos correspondientes a las muestras de carne refrigerada para su control de calidad y también para determinar en qué condiciones se está recibiendo la carne que será utilizada a lo largo del proceso de liofilización, estos resultados se muestran en el cuadro 7 sin mostrar algún comportamiento anormal en cuanto a lo mencionado por autores como Melendez *et al.*, 2011.

La liofilización como método de conservación ayuda a disminuir considerablemente el valor de actividad de agua (Aw) de la carne, esto ayuda a controlar la mayoría de las reacciones degradativas en alimentos explicadas por Labuza en 1970 (Figura 5) donde debe de considerarse que a valores bajos de actividad acuosa, el desarrollo de microorganismos, las degradaciones enzimáticas y no enzimáticas se verán inhibidas por efectos de la

ausencia de agua en la estructura cárnica, por lo que puede considerarse como un método de conservación.

Cuadro 7. Resultados de los análisis fisico-químicos de la carne

Método	Obtenido
Aw Carne refrigerada	0.90 ± 0.02
Aw Carne liofilizada	0.14 ± 0.02
pH Carne refrigerada	5.25 ± 0.23

3.3 Parámetros de perfil de color

Los parámetros de perfil de color por espectrofotometría, se obtuvieron los valores triestímulo del sistema CIE, los cuales incluyen la Luminosidad (L^*), los valores a^* (rojos a verdes) y b^* (amarillos a azules) mostrados en el cuadro 6, donde también se calcularon sus componentes como es el caso del ángulo hue (h^*), el cual está definido por la AMSA como *el ángulo θ creado por la inclinación de la línea formada por b^*/a^** (AMSA, 2012), en otras palabras es el grado en el que están mezcladas las coordenadas a^* y b^* .

También se determinó la Cromaticidad (C^*) o definido en la AMSA como *el Índice de saturación que es la distancia de un vector radial proveniente del punto de origen al punto de la muestra y en la carne esta saturación normalmente cae dentro de los colores rojos* (AMSA, 2012).

Todas estas determinaciones sirven para dar explicación a los cambios que existen en la percepción del color por efectos de los fenómenos de reflectancia de la luz sobre los cuerpos opacos, caso al que pertenece la carne de cerdo manejada durante la experimentación; ya que el color no es solamente una coordenada unidireccional, sino la combinación de 3 coordenadas en el espacio (L^* , a^* y b^*) y es lo que origina la sensación de la apreciación del color en los objetos.

La carne refrigerada al encontrarse sin un procesamiento previo se considera como muestra de referencia por lo cual para la obtención de la diferencia de color total (ΔE^*) no tiene un valor.

Cuadro 8. Resultados de los parámetros de perfil de color en el sistema CIE

Muestra	L*	a*	b*	h*	C*	ΔE^*
Refrigerada	51.30	4.98	5.23	46.38	7.22	-
Congelada	68.48	11.54	14.89	52.23	18.84	20.78
Descongelada	50.91	5.39	7.91	55.76	9.57	2.74
Liofilizada	84.13	8.78	14.24	58.36	16.73	34.25
Rehidratada	60.97	4.59	8.48	61.55	9.64	10.21

De acuerdo con autores como Skrlep *et al.*, 2006; Lesiów y Xiong, 2013, los valores triestímulo corresponden a los obtenidos, aunque existen diferencias que se tienen que tomar en cuenta de manera importante, lo que ocasiona cambios en los resultados como:

- El tipo de animales utilizados
- El sacrificio y sus condiciones
- El almacenamiento de la carne y su temperatura, entre muchos otros.

En cuanto a las metodologías llevadas a cabo para las determinaciones de color también hubo diferencias las cuales de igual manera influyen en los resultados, como lo son el iluminante, el diámetro de apertura, el ángulo de observación, el tiempo entre cada prueba, el instrumento, la iluminación del ambiente entre otros.

Para el análisis estadístico, se realizó una prueba de análisis de varianza (ANOVA) con el diseño de bloques completamente aleatorizados (1 Vía) con el uso del software Minitab 16

y un nivel de significancia (α) del 5% (0.05). Para el caso de los valores de Luminosidad (L^*) se tiene que entre los tratamientos (procesos en los que se evaluaron los parámetros de perfil de color) se planteó la siguiente prueba de hipótesis:

$$H_0: \mu_{\text{Refrigerada}} = \mu_{\text{Congelada}} = \mu_{\text{Descongelada}} = \mu_{\text{Liofilizada}} = \mu_{\text{Rehidratada}}$$

$$H_1: \text{No se acepta la } H_0$$

Debido a que el valor-p de los tratamientos es inferior a 0.05, se rechaza la hipótesis nula, dado que el nivel de significancia es alto, es decir hay diferencias entre los tratamientos en lo que respecta a valor de la luminosidad (L^*), por lo que se procede a realizar una prueba de Diferencia Mínima Significativa Honesta (DMSH) o comúnmente llamada “Prueba de Tukey” y se obtuvo que como el valor-p de las medias de cada uno de los tratamientos y sus interacciones son inferiores a 0.05, se considera que estadísticamente existen diferencias altamente significativas, excepto en el caso de las muestras que son refrigerada y descongelada, donde se observa que estadísticamente no hay diferencias significativas, por lo que su valores de luminosidad son muy parecidos entre sí, esto se puede ver en la Figura 32 con el gráfico de las medias y los tratamientos para los valores de L^* .

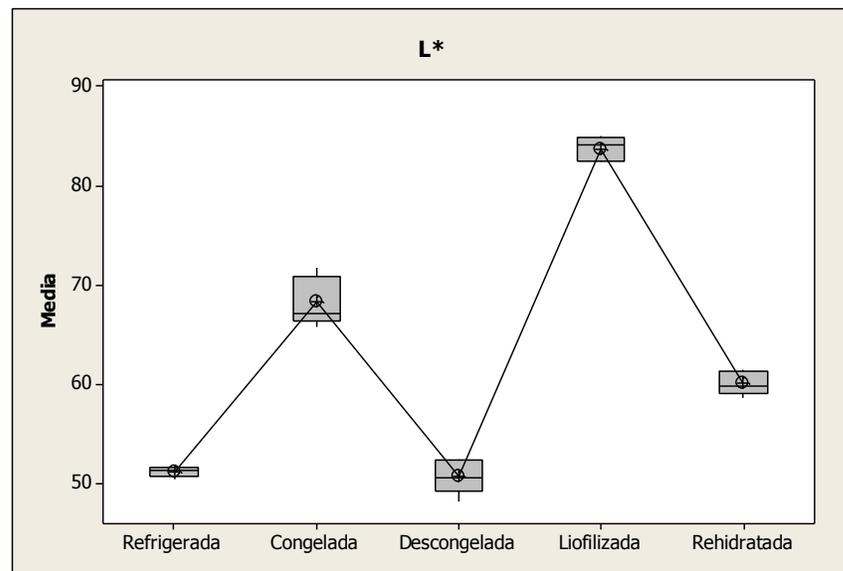


Figura 32. Valor promedio de L^* de carne a diversos procesos

La luminosidad es uno de los parámetros más importantes debido a que a partir de ella se puede deducir que tan clara o tan oscura es la muestra y así asegurar que su media es estadísticamente igual por lo que no hay diferencia en la claridad, ya que son valores positivos por arriba de las 50 unidades, esta coordenada del espectro del color puede definir alteraciones en la carne, y así poder lograr una clasificación como las conocidas DFD (*Dark, Firm and Dry*, Oscura, Firme y Seca) o PSE (*Pale, Soft and Exudative*, Pálida, Suave y Exudativa) (Lesiów y Xiong, 2013; Pearce *et al.*, 2011).

Como se observa en los resultados, para el caso de la carne liofilizada se tiene un valor de 84.13 en la coordenada L^* , indicando que existe una luminosidad alta, lo cual se atribuye a los cristales salinos formados por efectos de la deshidratación por congelación al vacío (liofilización), lo que genera que no exista agua disponible para ionizar estas sales que se encuentran de manera normal en el tejido cárnico.

De igual forma los valores del parámetro a^* que van de los colores rojos ($+a^*$) a verdes ($-a^*$) se analizaron estadísticamente con un análisis de varianza de un factor con su gráfico de promedio de las muestras mostrado en la Figura 33, utilizando la misma prueba de hipótesis que en el caso de los valores de luminosidad de lo cual se obtuvo que debido a que existe una alta significancia en los tratamientos, con un valor-p inferior al 5%, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula, lo que indica que al menos un par de medias es diferente, por lo que se procedió a realizar la prueba de Diferencia Mínima Significativa Honesta (DMSH) para los valores de la coordenada a^* .

Observando los resultados de la prueba de Tukey para los valores de a^* , casi todas las medias son estadísticamente diferentes entre sí, excepto en los casos donde el valor-p es superior a 0.05 como las interacciones entre la refrigerada, descongelada y rehidratada, y esto se puede ver en la Figura 33 con el gráfico de las medias, y se puede alcanzar a notar que existen similitudes entre estas medias, sin embargo aún la carne que ha sido congelada y liofilizada muestra diferencias estadísticamente marcadas. Este parámetro es indicativo en primera instancia de que los colores tienen mayor tendencia a rojos, es decir, la reflexión de la luz en la gráfica espectral (Figura 37) tiene mayor valor en la zona de los 600 a 700 nm, y en segunda a que las muestras de carne refrigerada, descongelada y rehidratada son

estadísticamente iguales en lo que respecta a esta coordenada que complementa el color de la muestra en función a las coordenadas triestímulo, lo que da a denotar que no existen cambios aparentes en esta coordenada y la carne sigue manteniendo sus pigmentaciones rojizas sin importar el proceso a la que está siendo sometida.

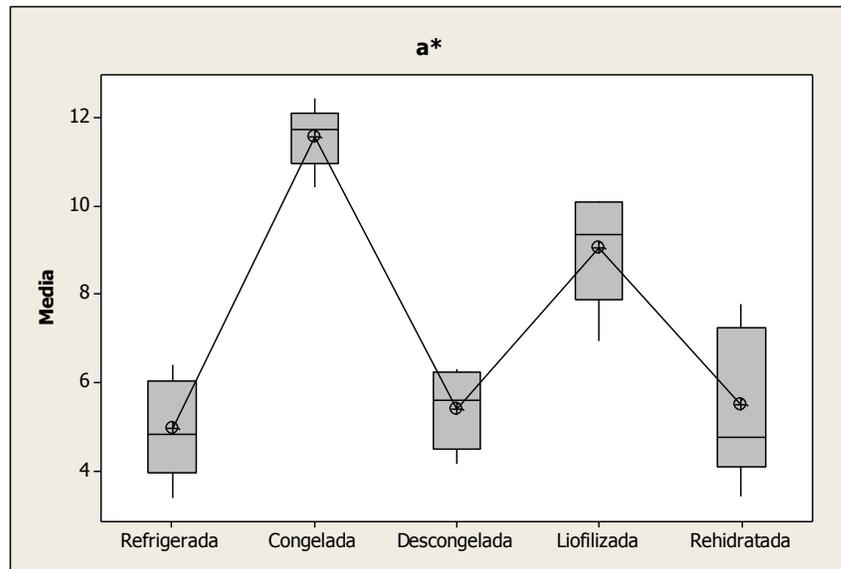


Figura 33. Valor promedio de a* de carne a diversos procesos

Para el caso del parámetro del perfil de color b* que va de los colores amarillos (+b*) a azules (-b*) se hizo el mismo análisis estadístico con un ANOVA de 1 vía para ver si existen diferencias entre las medias de cada una de las muestras en lo que respecta a esta variable de respuesta, se utilizó la misma prueba de hipótesis que en las pruebas anteriores; se observa que el valor-p de los tratamientos es inferior a 0.05, lo que indica una alta significancia, por lo que se rechaza la hipótesis nula. Por lo tanto es indicativo de que al menos un par de medias de los tratamientos es diferente, por lo que se realizó la prueba DMSH la cual muestra que existen diferencias significativas entre la mayoría de las medias, excepto en los casos donde se comparan los tratamientos de la carne liofilizada y la congelada. Lo mismo sucede para el caso de la carne rehidratada y descongelada, esto indica que entre estos pares de medias no existen diferencias estadísticamente significativas lo cual se puede observar en la Figura 34 donde se muestran las medias del valor de b* de

cada uno de los tratamientos. Debido a que los valores de esta coordenada del color posee un valor positivo, indica que las muestras de carne tienen mayor tendencia a poseer colores amarillos, los cuales de acuerdo a la curva espectral (Figura 37) se encuentran en un intervalo de los 550 a los 600 nm.

En lo que respecta a que no existen diferencias estadísticamente significativas para las muestras liofilizadas y congeladas, se debe a que la incidencia del haz de luz proveniente del espectrofotómetro se lleva a cabo en circunstancias distintas, por efectos de la presencia de agua en estado sólido o la ausencia de la misma en la muestra, por lo tanto en esta coordenada del espacio del color no se presentan diferencias estadísticas entre estas muestras.

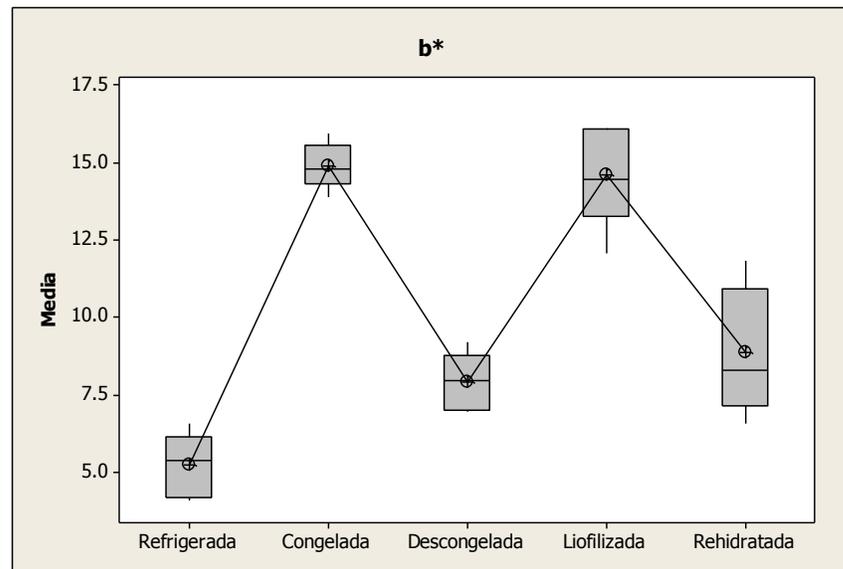


Figura 34. Valor promedio de b^* de carne a diversos procesos

En lo que respecta al valor del croma (C^*), se realizó el mismo análisis estadístico y se procedió a hacer la misma prueba de hipótesis para determinar la existencia de diferencias estadísticas entre las medias de esta variable de respuesta y se obtuvo que el valor-p es inferior al 5%, lo que indica que la hipótesis nula debe de ser rechazada y por consiguiente indica que existe al menos un par de medias que son diferentes, por lo que se realizó la

prueba de Tukey, la cual determinó que la mayoría de las interacciones entre las medias son distintas debido a que el valor-p es inferior a 0.05, excepto para el caso de la liofilizada y la carne congelada, pero también para la carne refrigerada, la carne descongelada y la rehidratada, esto indica que la percepción visual de la carne que está en las distintas etapas del proceso no es diferente entre las muestras, por lo que es el mismo grado del estímulo, lo cual se observa en la Figura 35, el valor de saturación más alto corresponde a las muestras congeladas y liofilizadas, debido a que en la congelada existen estructuras cristalinas formadas por la solidificación del agua y eso ocasiona la reflexión de la luz de manera distinta dentro de la estructura cárnica, y en las muestras liofilizadas se atribuye a la ausencia de agua que genere un fenómeno de reflexión de luz diferente por efectos de la formación de cristales salinos propios de la carne. Al ser este valor un derivado de las coordenadas L^* , a^* y b^* es coherente que se vea afectado en las muestras liofilizadas y congeladas por efectos del incremento en el valor de luminosidad, provocando así que estadísticamente sean diferentes, lo cual no es el caso para las otras muestras ya que poseen valores de saturación del color menores pero estadísticamente iguales entre sí.

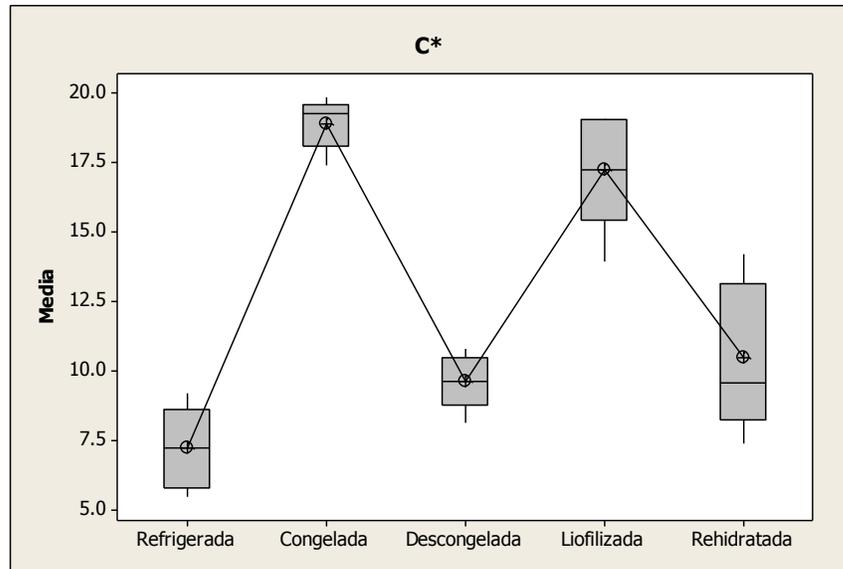


Figura 35. Valor promedio de C* de carne a diversos procesos

Para el caso del ángulo hue (h^*) se realizó el mismo procedimiento estadístico para determinar las diferencias que existen entre los tratamientos de la carne, utilizando la misma prueba de hipótesis de las determinaciones anteriores, y se obtuvo que de acuerdo al valor-p de los tratamientos, existe significancia entre cada uno de ellos, por lo que se rechaza la hipótesis nula queriendo decir que estadísticamente hay diferencias entre las medias para este parámetro de perfil de color, realizando una prueba de diferencia mínima significativa honesta, encontrando que estadísticamente no existen diferencias entre las muestras que son rehidratadas, liofilizadas y descongeladas, pero también no hay diferencia entre las muestras descongelada y congelada, aunque también existe un tercer grupo donde no hay diferencias estadísticas en lo que respecta al valor del ángulo hue, donde se encuentra la carne congelada y la carne refrigerada, mostrando así en la Figura 36, el gráfico de las medias.

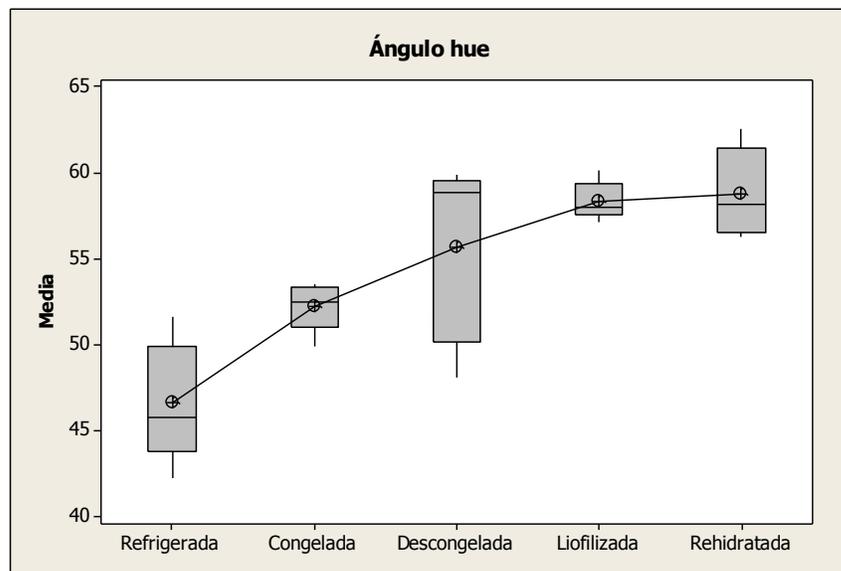


Figura 36. Valor promedio de h^* de carne a diversos procesos

De acuerdo a Lesiów y Xiong, 2013, que indican que si el valor del ángulo para carne de cerdo se encuentra entre 0° (rojo) y 90° (amarillo), la muestra tiende a encontrarse entre los colores rojizos, cosa que es normal para el caso de las muestras analizadas, sin importar el proceso en el que se estén evaluando, por lo que se afirma que el ángulo hue no se ve

afectado estadísticamente por efectos de la reflexión de la luz y las interacciones que ésta pueda presentar en el sistema, ya que las medias se encuentran entre los valores de 40 a 60 aproximadamente. Esto último indica que las muestras no afectan su cambio en pigmentación y a pesar del proceso por el que es sometida la carne sigue apreciándose en intervalos de coloraciones rojas.

Los cambios de color totales (ΔE^*) se muestran en el cuadro 6, de acuerdo a la normatividad ISO 12647-2, el máximo permitido es un valor de 5, para poder decir que las muestras tienen prácticamente el mismo color, que hay diferencias perceptibles, pero aceptables, aunque de acuerdo a la AMSA. Estos valores del cambio de color si son superiores a 1, son diferencias perceptibles, caso contrario, valores inferiores a 1 son cambios no perceptibles por la vista humana. De acuerdo a los resultados y tomando como referencia a la carne refrigerada sólo la carne descongelada tiene un valor inferior a 5, es decir, existen diferencias en los valores de ΔE^* con respecto a la carne refrigerada, pero son diferencias tolerables o muy poco perceptibles, cosa que no sucede con la carne de los otros tratamientos, ya que si tienen diferencias altamente perceptibles con respecto a la referencia.

Dentro de las determinaciones de los parámetros de perfil de color se obtuvieron también las curvas espectrales de las muestras, lo que indica con base en las longitudes de onda que van de los 400 a los 700 nm, el comportamiento de la luz reflectada sobre la carne en las diferentes etapas donde fue evaluada. En la Figura 37, se muestran las curvas promedio para cada una de las etapas donde se encuentra la carne y su comportamiento con base en la Reflectancia vs. Longitud de onda, donde el valor máximo de reflexión de la luz tendría que encontrarse alrededor de los 650 a los 700 nm, y es ahí donde las ondas de color rojas son las predominantes.

Se observa para el caso de la carne refrigerada y la carne descongelada tienen el mismo perfil en cuanto al espectro de reflectancia, lo que indica que las muestras aparentemente no presentan diferencias entre sí. Para el caso de la muestra rehidratada tiene ciertas similitudes a la refrigerada aunque no se sobreponen estas 2 gráficas, por lo que no se puede decir que las muestras sean iguales en su totalidad durante la reflexión de la luz,

aunque para el caso de la carne que ha sido congelada, el valor de la reflectancia se incrementa considerablemente, esto se debe a que la estructura del agua congelada y los cristales en la muestra reflejan de una manera diferente la luz, la molécula del agua al pasar de estado líquido a estado sólido abre su ángulo entre el átomo de oxígeno y los 2 átomos de hidrógeno de 104.5° a 109.47° lo que ocasiona que la luz refleje de diferente forma y esto a su vez aumenta los valores de reflectancia en la muestra.

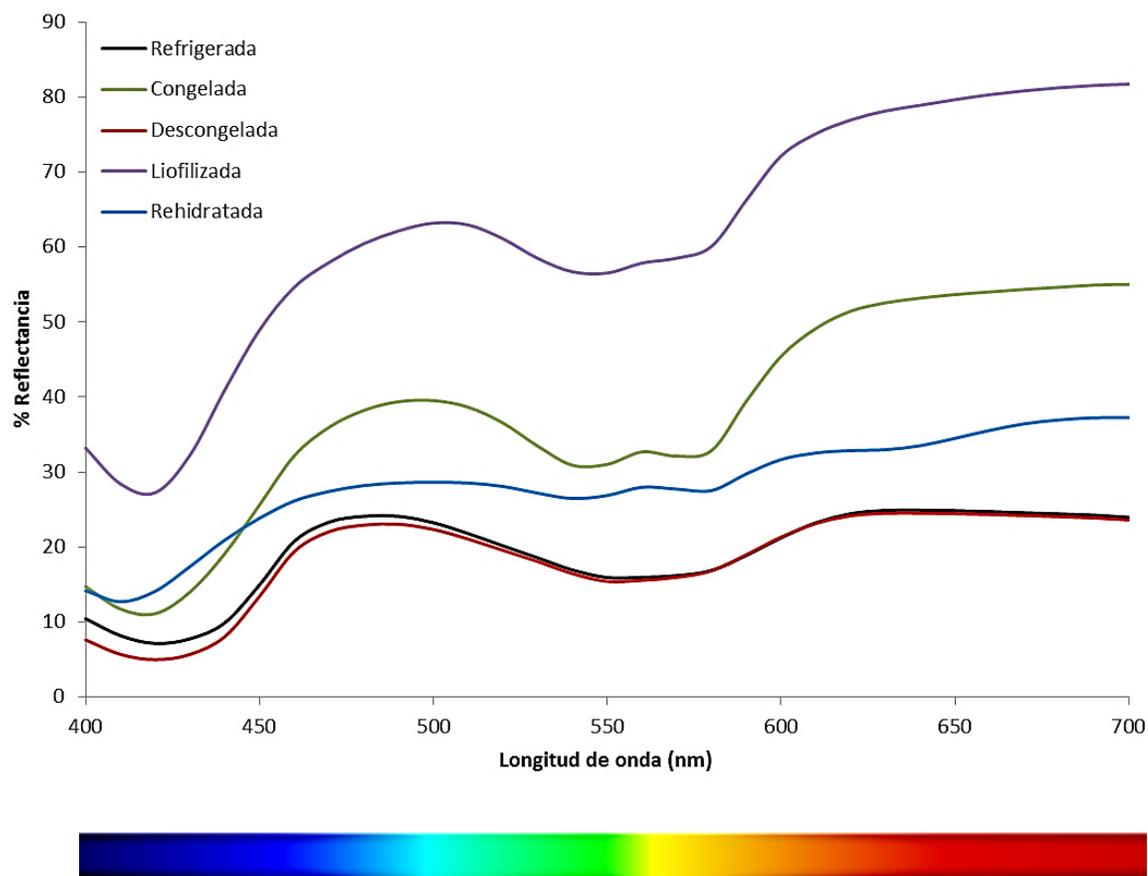


Figura 37. Espectro de % Reflectancia vs. Longitud de onda (nm)

También se puede observar en la carne liofilizada tuvo un aumento aún mayor de la reflectancia, el cual es atribuible a la ausencia de agua en la estructura de cárnica y como consecuencia la formación de cristales salinos de calcio, sodio, magnesio y potasio, entre muchos otros, como se muestra en la Figura 37. Todos estos valores si los comparamos con los cambios en color totales (ΔE^*) tienen relación, ya que de acuerdo al porcentaje de reflectancia y las diferencias que la muestra tenga en la coordenada de luminosidad (L^*)

dependerá que la muestra tenga mayor o menor su valor en diferencia de color, ya que el ΔE^* depende de los valores obtenidos en dicha coordenada del perfil de color.

Para realizar las determinaciones de las fracciones de mioglobina correspondientes a cada tratamiento se utilizó la metodología descrita por Ponce y Taylor, 2000; Tang *et al.*, 2004, lo cual implica la corrección de las ecuaciones propuestas por Krzywicki, 1979, donde se involucran los valores de absorbancia de las muestras analizadas (Figura 38) los cuales se utilizarán para sustituir cada fracción química de mioglobina existente durante el proceso de liofilización. Los resultados se muestran en el cuadro 9 para cada muestra donde podemos apreciar que las tres fracciones se encuentran en cada muestra, pero siempre existe una que es predominante.

$$\text{Desoximioglobina} = -0.543R_1 + 1.594R_2 + 0.552R_3 - 1.329 \quad (34)$$

$$\text{Oximioglobina} = 0.722R_1 - 1.432R_2 - 1.659R_3 + 2.599 \quad (35)$$

$$\text{Metamioglobina} = -0.159R_1 - 0.085R_2 + 1.262R_3 - 0.520 \quad (36)$$

$$R_1 = \frac{A_{582}}{A_{525}} \quad (37)$$

$$R_2 = \frac{A_{557}}{A_{525}} \quad (38)$$

$$R_3 = \frac{A_{503}}{A_{525}} \quad (39)$$

Cuadro 9. Fracción de mioglobina superficial en carne de cerdo

	Refrigerada	Congelada	Descongelada	Liofilizada	Rehidratada
DMb	0.3884	0.3015	0.3429	0.3297	0.2511
OMb	0.2282	0.3077	0.2769	0.3433	0.2983
MMb	0.3843	0.3831	0.3760	0.3152	0.4454

DMb: Desoximioglobina; OMb: Oximioglobina; MMb: Metamioglobina

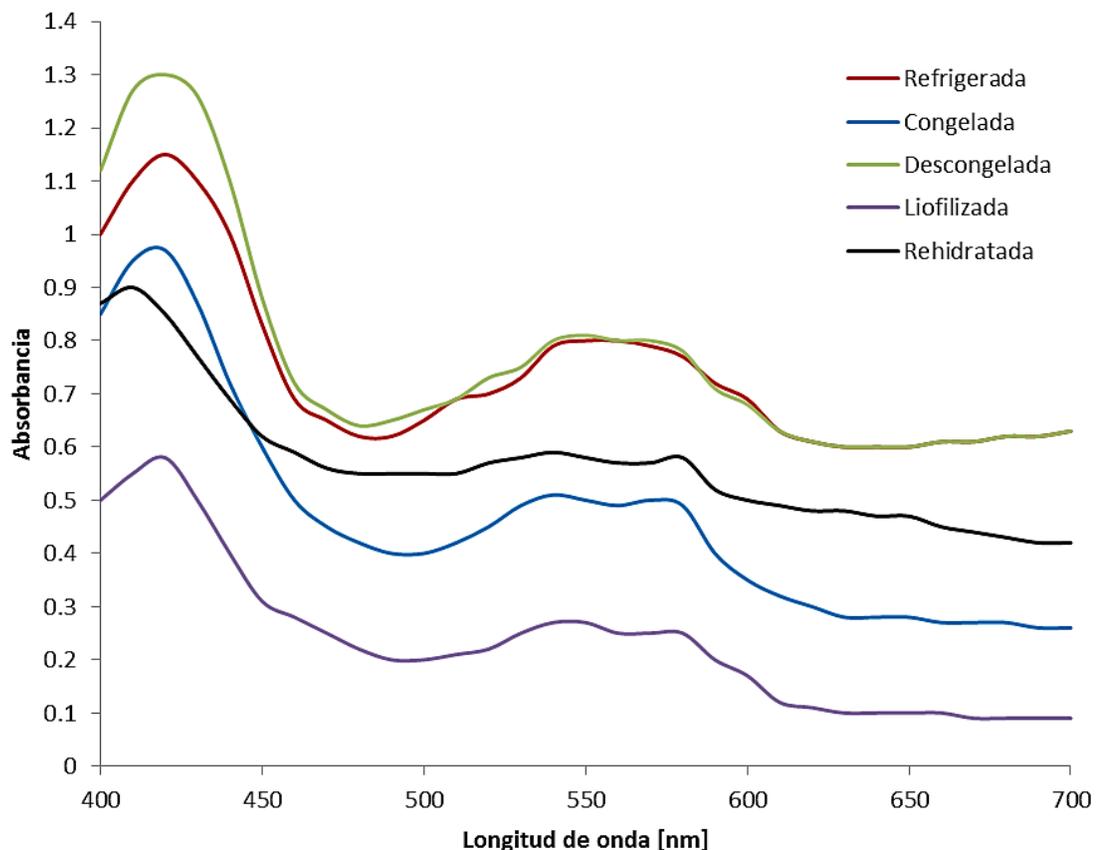


Figura 38. Espectro de Absorbancia vs. Longitud de onda (nm)

Se puede observar que para el caso de la carne la absorbancia se encuentra en función a los pigmentos (mioglobina) se lleva a cabo entre los 500 y 600 nm, por lo tanto la caracterización de las fracciones de mioglobina se llevan a los 503, 525, 557 y 583 nm donde la mioglobina y sus fracciones tienen los mayores valores de absorbancia, mostrando así que de acuerdo a las ecuaciones, para el caso de la carne refrigerada, la mayor cantidad de mioglobina se encuentra estadísticamente sin alteraciones perceptibles en su estructura (desoximioglobina). El proceso de enfriamiento de la carne que ha sido empacada inmediatamente después del sacrificio no tiene efectos importantes que modifiquen la estructura química de dicha proteína sarcoplásmica. Para la carne liofilizada, la mayor parte de la mioglobina se encuentra en estado oxidado (oximioglobina), esta variación puede ser por efectos de la formación de cristales en la estructura deshidratada de la carne y en consiguiente la inexistencia de puentes de hidrógeno que interaccionan con agua, por lo que

las moléculas de mioglobina (proteína altamente soluble) toman otra conformación estructural en el espacio lo que afecta que su apreciación en cuanto al color se vea modificada.

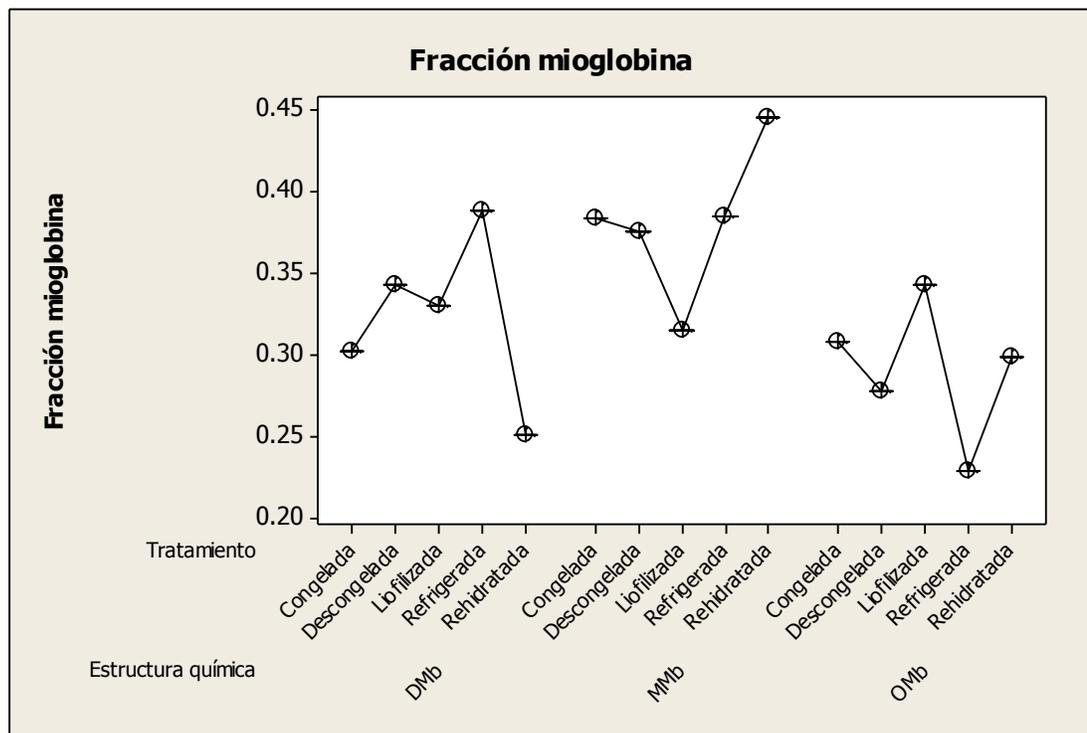


Figura 39. ANOVA de 2 vías para las fracciones de mioglobina existentes en función del proceso

Para el caso de las muestras congeladas, descongeladas y rehidratadas, la mioglobina se encuentra en estado reducido (metamioglobina) en mayor proporción, es decir, a partir del proceso de congelación la mioglobina sufre cambios químicos importantes de reducción por efectos del proceso térmico y contacto con la atmósfera, lo que ocasiona que existan diferencias importantes. Para la muestra congelada probablemente el agua refleja la luz de diferente manera lo que ocasiona que al realizar los cálculos se encuentre una mayor concentración de metamioglobina en la superficie, pero en el caso de las muestras descongeladas y rehidratadas pudo existir un efecto importante del medio sobre su mioglobina superficial.

Se procedió a realizar un análisis de varianza (ANOVA) de 2 vías con un nivel de significancia del 10% ($\alpha = 0.1$), donde los bloques fueron asignados a los tratamientos por los cuales la carne ha pasado durante el proceso, los tratamientos son las especies de mioglobina y la respuesta es la fracción de mioglobina encontrada, donde se plantearon las siguientes pruebas de hipótesis:

Para los tratamientos:

$$H_0: \mu_{\text{Desoximioglobina}} = \mu_{\text{Oximioglobina}} = \mu_{\text{Metamioglobina}}$$

$$H_1: \text{No se acepta la } H_0$$

Para los bloques:

$$H_0: \mu_{\text{Refrigerada}} = \mu_{\text{Congelada}} = \mu_{\text{Descongelada}} = \mu_{\text{Liofilizada}} = \mu_{\text{Rehidratada}}$$

$$H_1: \text{No se acepta la } H_0$$

De acuerdo al análisis estadístico se rechaza la hipótesis nula en ambos casos (tratamiento y bloques), ya que se puede apreciar en la Figura 39 que en todos los casos las medias de los valores de las fracciones de mioglobina son estadísticamente diferentes, por lo que el proceso influye directamente en las diferentes fracciones químicas de mioglobina que se pueden encontrar en la carne viéndose así modificada la estructura química de dicha proteína en función al tratamiento térmico. Lo anterior puede analizarse desde un punto de vista termodinámico como la existencia de cambios estructurales debido al estado de oxidación o reducción que sufre la mioglobina y así poder verse afectado cualquier parte del proceso preliminar o posterior a la liofilización.

3.4 Microscopía de campo claro

Se procedió a realizar de igual forma un análisis de las estructuras del tejido cárnico, tomando como referencia la carne refrigerada (Figura 40) donde se muestran los cortes transversales, así como los cortes longitudinales de las fibras, los cuales fueron observados bajo microscopía de campo claro.

Se puede apreciar que en la carne refrigerada no hay alteraciones estructurales aparentes, lo que indica que las fibras están en condiciones adecuadas antes de pasar por cambios importantes ocasionados por la congelación previa a la liofilización.

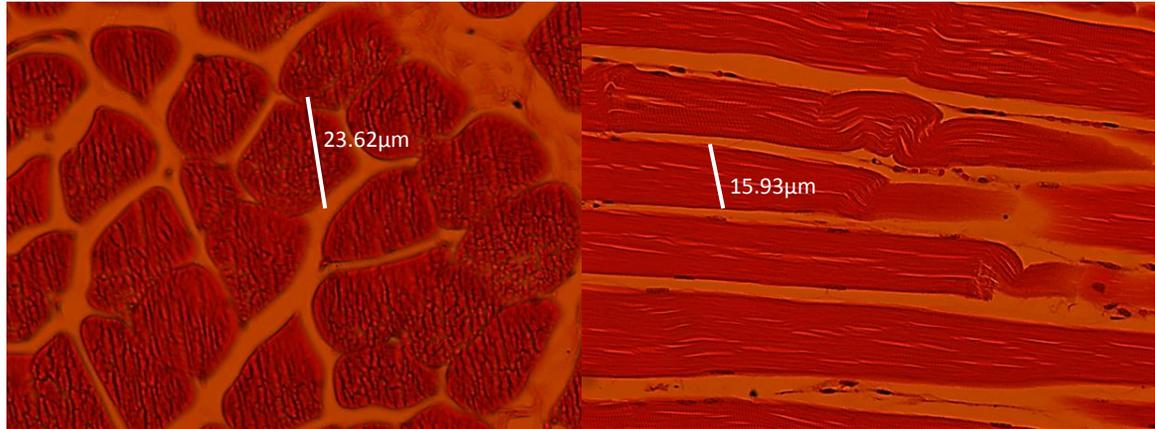


Figura 40. Micrografías de carne refrigerada a 40x

Posteriormente se analizaron de igual manera las muestras de carne liofilizada con un objetivo de 20x en microscopia de campo claro, (Figura 41) y se demostró que el tamaño de las fibras no se ve afectado aparentemente por efectos de la ausencia de agua. Sin embargo, también se encontró la formación de cristales atribuidos a la acumulación de sales de calcio, sodio, magnesio, entre muchas otras, debidos a que no existe agua disponible en las fibras por consiguiente estos cristales tienen un efecto importante a la hora de realizar las pruebas de espectrofotometría, ya que la reflectancia de la luz se ve incrementada y por lo tanto también aumenta los valores de luminosidad (L^*) lo que genera la apreciación visual del color diferente en la muestra.



Figura 41. Micrografía de carne liofilizada a 20x

En el cuadro 10 se muestran los resultados promedio de las dimensiones de los cristales salinos encontrados en las muestras liofilizadas, así como el diámetro de las fibras tanto de las muestras refrigeradas como de las muestras liofilizadas.

Cuadro 10. Dimensiones de las fibras de carne y cristales salinos

	Cristales salinos	Fibras liofilizadas	Fibras refrigeradas	
			Longitudinal	Transversal
Promedio	17.50 μm	33.05 μm	16.34 μm	21.48 μm
Desv. st.	13.80	9.32	4.57	2.93
C.V. (%)	78.85	28.19	27.97	13.65

3.5 Análisis térmico por calorimetría TMDSC

En lo que respecta al análisis térmico se aplicó la metodología propuesta por Kazemi *et al.*, 2009; Meléndez y Arjona, 2011; Meléndez *et al.*, 2011 y se hicieron las determinaciones de las muestras, para el caso de la carne refrigerada se colocaron 14.8 ± 0.1 mg de muestra encapsulada en las charolas de aluminio y se utilizaron 2 métodos de congelación de las muestras, para evaluar su comportamiento en un intervalo de -50 hasta 150 °C.

El proceso de congelación en cada muestra, se realizó de 2 formas: 1. Congelación rápida dentro del calorímetro TMDSC, para asegurar una formación de cristales de tamaño pequeño y así evitar dañar la estructura de las fibras de la muestra de carne; 2. En cámara de ultracongelación REVCO, mediante una congelación lenta, lo que asegura que la muestra sufra daños estructurales debido a bajas temperaturas.

Fracción de agua no congelada

Para obtener la fracción de agua no congelada se siguió la metodología propuesta por Cornillion, 2000 y Rosas, 2012, donde se indicó lo siguiente y de la cual se tomó la parte recta del gráfico para obtener la ecuación de regresión lineal:

$$\text{Fracción } H_2O \text{ no congelada} = \frac{\Delta H_{puntual}}{\Delta H_{total}} \quad (40)$$

Para apreciar gráficamente, se hizo la curva de fracción de agua no congelada vs. tiempo (Figura 42) y se observa que existen cambios en la pendiente, esto sirve para conocer la velocidad de fusión del hielo en la muestra cárnica en condiciones de calentamiento posterior a la congelación, por lo que se procedió a realizar regresión lineal para cada una de las curvas y así obtener las ecuaciones que servirán para conocer todas las velocidades de fusión del hielo, las cuales se muestran en el cuadro 11. De acuerdo a la teoría estas velocidades son similares debido a que se funden a las mismas condiciones, aunque existen diferencias por efectos de la formación de cristales cuando se congela de manera lenta o rápida.

Cuadro 11. Análisis de regresión lineal para obtener velocidades de fusión del hielo

Muestra	Ecuación de regresión	R ²
TMDSC (Congelación rápida)	y = 0.3448x – 4.5288	0.9923
REVCO (Congelación lenta)	y = 0.3292x – 4.0727	0.9700

Como se aprecia en el cuadro 11, la velocidad de fusión del hielo corresponde a la pendiente que se muestra en el análisis de regresión lineal de la parte recta del gráfico, esto se puede interpretar de una manera termodinámica como una reacción inversa, es decir, este valor puede ser interpretado como una velocidad de generación de hielo en la estructura cárnica (velocidad de congelación) donde aparentemente la mayor velocidad de congelación está presente en la muestra congelada en el calorímetro, es decir una congelación aparentemente rápida producida en el equipo ($5\text{ }^{\circ}\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$). Por esta razón se procedió a realizar el análisis térmico de la cristalización del agua presente en las muestras de carne de cerdo para el caso de la congelación que se muestra en la Figura 43. El proceso de cristalización del agua contenida en las muestras de carne, donde se pueden observar tanto los cambios cinéticos y los estructurales, del cual, también se obtuvieron las temperaturas y energías de cristalización, para el caso de la carne de cerdo proveniente del músculo *Longissimus dorsi* inicia a los $-16.54\text{ }^{\circ}\text{C}$, con un gasto energético de 166.5 J/g en toda el área de la curva y con una temperatura final a los $-18.16\text{ }^{\circ}\text{C}$ (pico máximo).

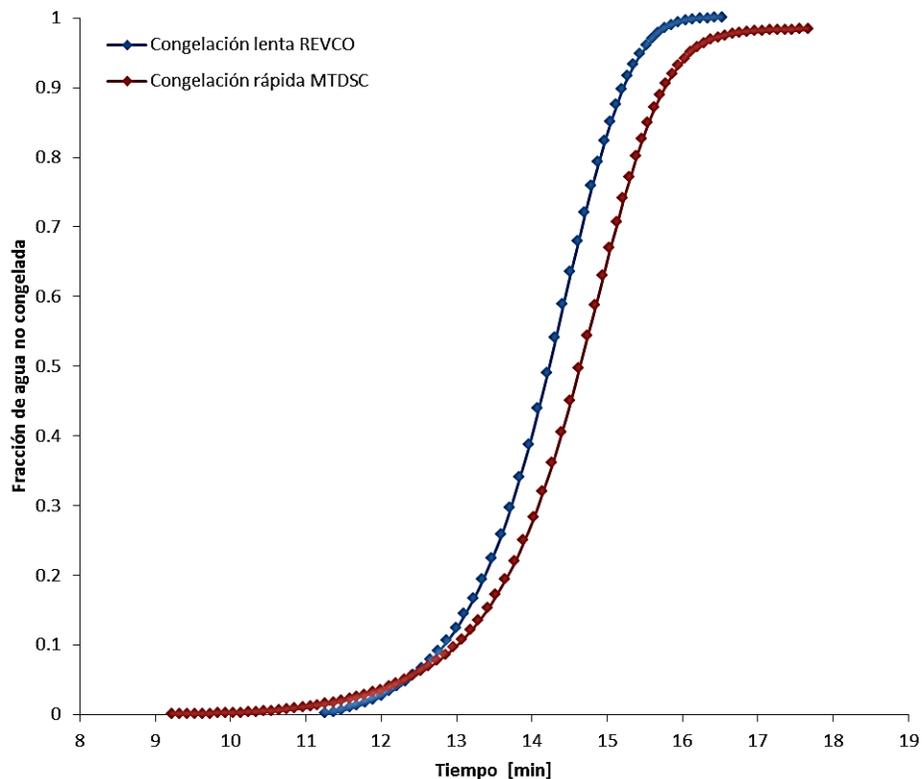


Figura 42. Fracción de agua no congelada vs. Tiempo

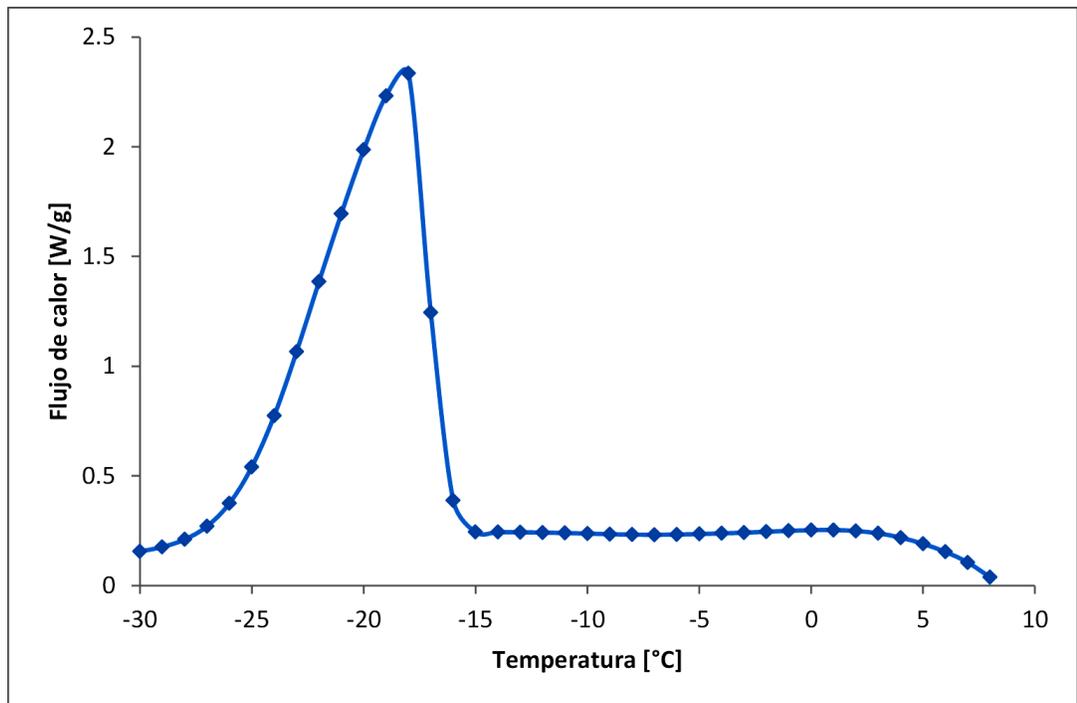


Figura 43. Flujo de calor en congelación de carne

Esto indica que la congelación en las muestras cárnicas inician alrededor de los $-16.54\text{ }^{\circ}\text{C}$, temperatura que se debe principalmente a la cantidad de sustancias por la que está conformada la muestra, cumpliendo de esta manera con una de las propiedades coligativas que indica *“Si la cantidad de solutos aumenta en un sistema, el punto de congelación se verá afectado provocando su disminución en comparación con un sistema puro”* (Schwartzberg y Hartel, 1992). Por lo tanto, la carne no puede congelarse a los $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ y su temperatura se ve modificada con respecto a su composición química, es decir, al existir biomoléculas y compuestos inorgánicos el punto de congelación de la muestra desciende.

De igual forma en la Figura 44 se pueden apreciar los cambios estructurales importantes en el sistema cárnico durante la congelación, es decir, desde la nucleación hasta el subenfriamiento mostrando así las modificaciones que ocurren durante este proceso de conservación, esto queda confirmado principalmente por el cambio en la pendiente que

existe entre los -10 hasta los -20 °C en el termograma, confirmando que se debe al proceso de congelación de la muestra, y demostrando que la velocidad de congelación es alta.

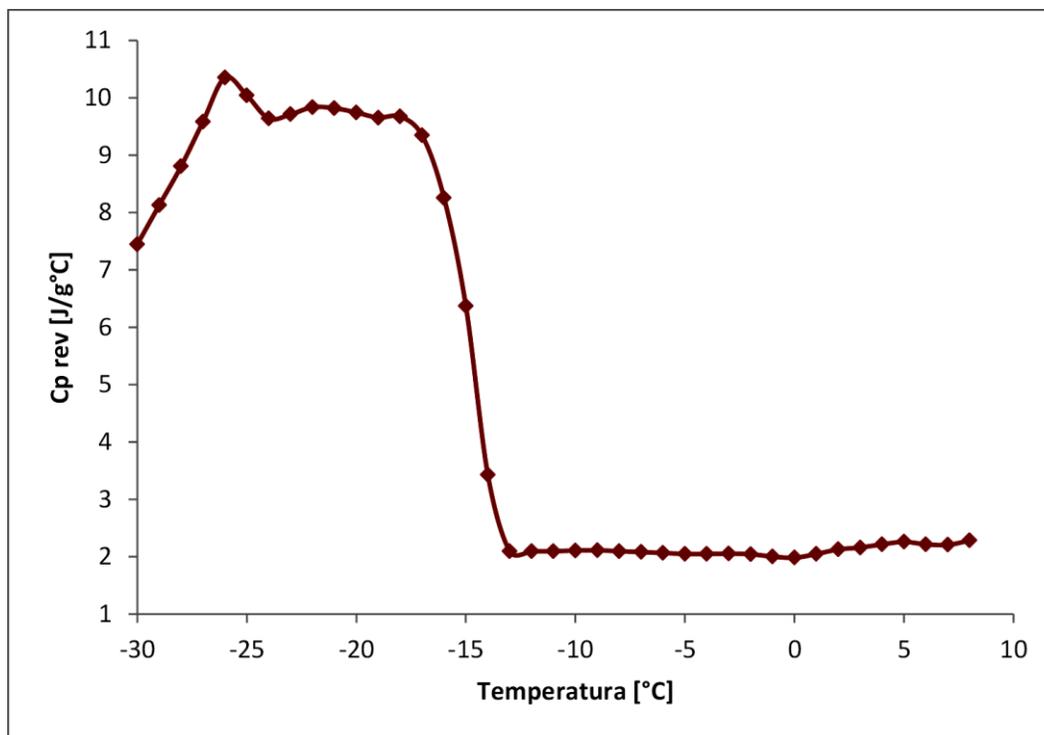


Figura 44. Comportamiento del calor específico (Cp) durante el cambio de fase

Posterior al análisis térmico en congelación de la carne se observó que aparentemente no existen cambios importantes dependiendo del método utilizado; sin embargo, para conocer las transiciones que suceden con las proteínas del sistema, se realizó el análisis térmico en calentamiento (10 - 150 °C) de acuerdo al método planteado, que es la zona donde se llevan a cabo las transiciones de las principales proteínas de la carne. En la Figura 45 se muestran los termogramas del flujo de calor total de los extractos de proteínas, donde se aprecia el comportamiento de las proteínas miofibrilares con una transición alrededor de los 59.84°C y 0.5312 J/g de entalpía correspondiente a miosina y 75.29 °C con gasto energético de 0.2178 J/g perteneciente a actina, para el caso del colágeno se identificó la transición a los 68.67 °C con 2.144 J/g de entalpía.

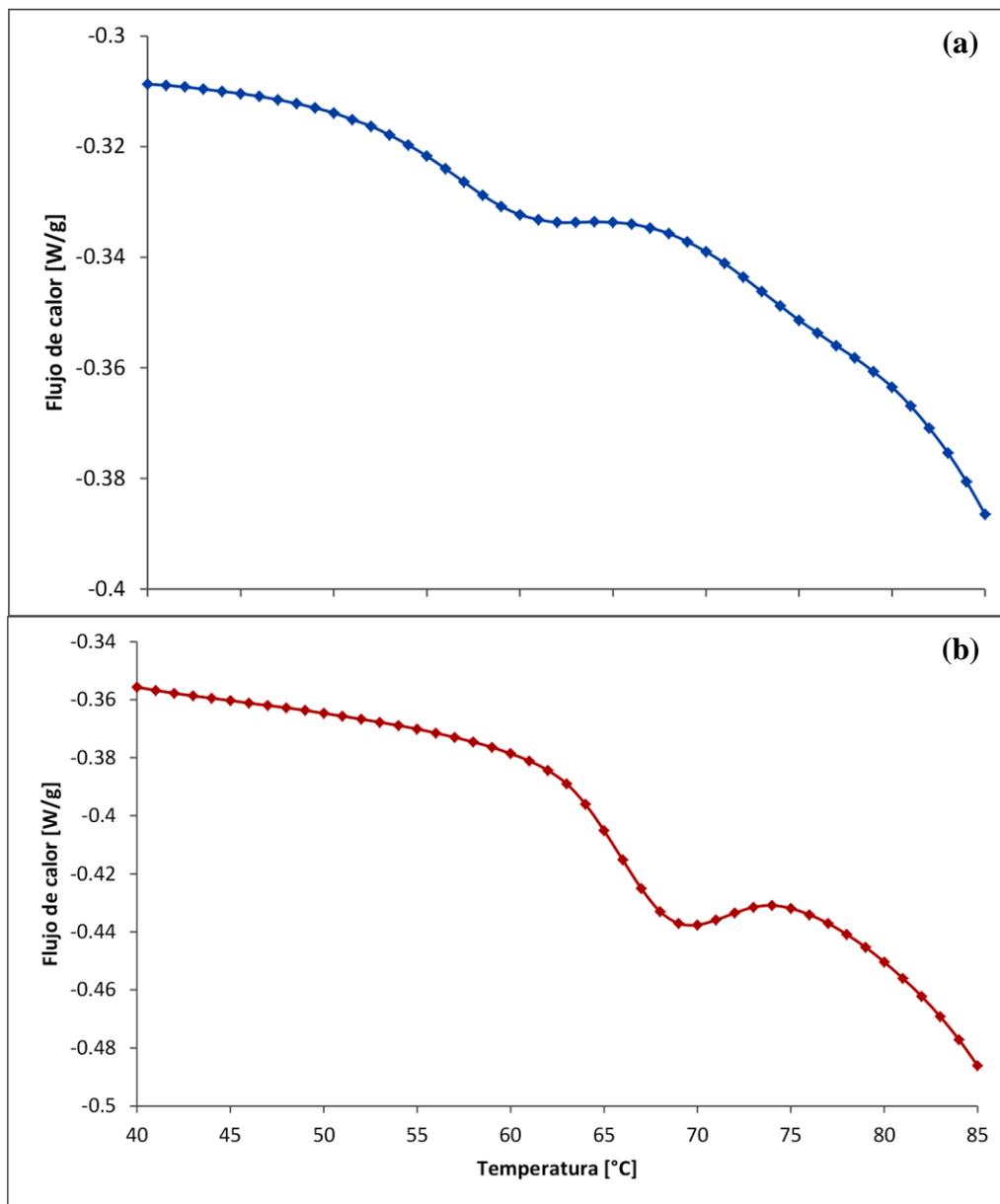


Figura 45. Flujo de calor total de extractos de proteínas (a) Proteínas miofibrilares; (b) Colágeno

Posterior al análisis de los extractos de proteínas se procedió a realizar en análisis en las cuatro muestras de carne como se muestra en la Figura 46 (Refrigerada, Congelada en cámara REVCO, Congelada en calorímetro TMDSC y Rehidratada), en donde se observa que el comportamiento de éstas es similar variando únicamente el comportamiento del flujo

de calor. Los cambios en las pendientes indican que hay procesos endotérmicos y por lo tanto está existiendo un proceso de desnaturalización de proteínas, y en todos los casos se muestran las tres transiciones que indican estos procesos de modificaciones en las estructuras.

De acuerdo con Kazemi *et al.*, 2009, Meléndez *et al.*, 2011 y Lesiów y Xiong, 2013 quienes demuestran que la carne de cerdo refrigerada tiene el mismo comportamiento térmico en calentamiento para las 3 transiciones observadas para cada proteína, miosina (entre 47 y 55 °C), actina (70 a 80 °C), colágeno y proteínas sarcoplásmicas (60 y 70 °C).

En el cuadro 12 se presentan los datos obtenidos de los termogramas que indican las temperaturas de transición en cada muestra para miosina, lo que sugiere que existen cambios conformacionales en su estructura debida a los fenómenos de desnaturalización relacionados con el gasto energético obtenido de la integración del área bajo la curva que indica la entalpía necesaria para modificarla y la temperatura máxima donde se alcanza el cambio total.

La miosina al ser una proteína constituida por 3 fracciones que a su vez se subdividen en cadenas ligeras y pesadas (Figura 6), al no contar con interacciones fuertes que unan esas estructuras, provoca que su estabilidad térmica sea baja, es decir, la temperatura a la que inicia la desnaturalización sea alrededor de los 47 °C y que el cambio en la estructura concluya entre los 53 y 55 °C, también se puede apreciar que los gastos energéticos para efectuar los cambios conformacionales son de alrededor de los 0.1633 hasta los 0.3390 J/g, el agua que está estabilizando a la estructura se encuentra unida de distinta manera por lo que existen pequeñas variaciones en la entalpía de desnaturalización, pero al final sigue tratándose de la misma proteína.

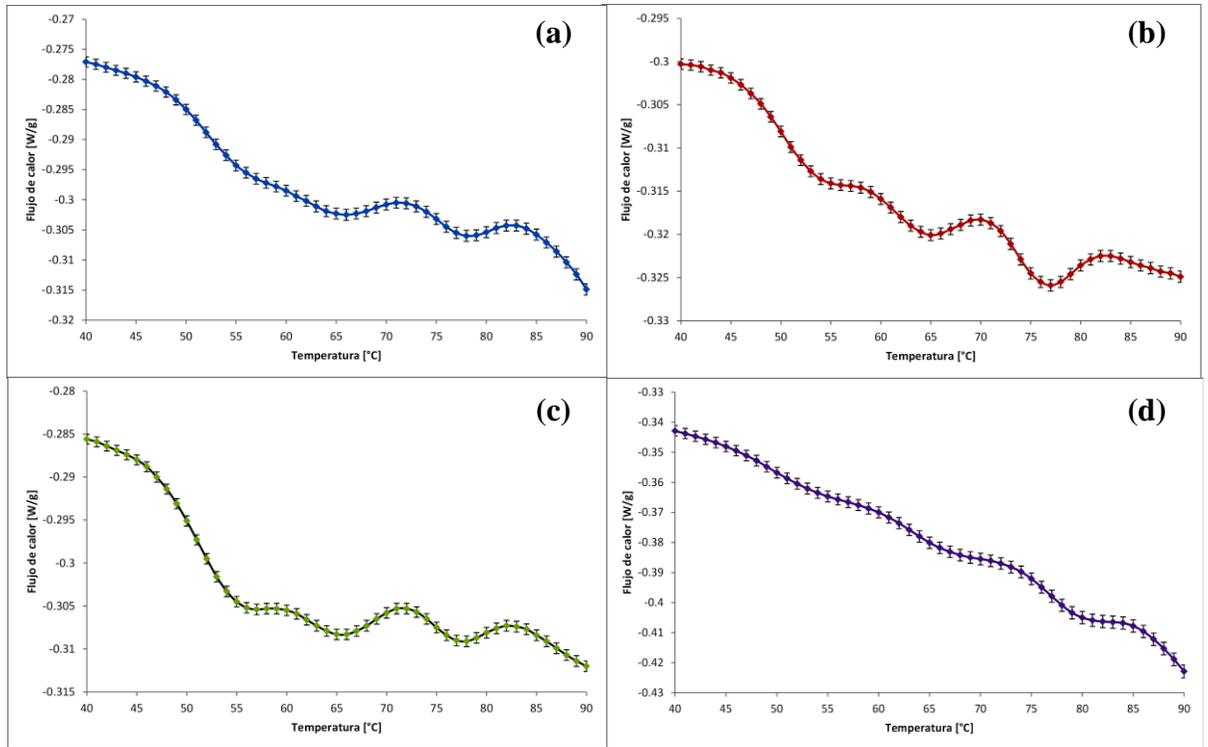


Figura 46. Termogramas de flujo de calor de carne de cerdo (a) refrigerada; (b) congelación en cámara REVCO; (c) congelación en MTDSC; (d) liofilizada-rehidratada

Cuadro 12. Temperaturas de desnaturalización y gastos energéticos para miosina

	Refrigerada	Congelada REVCO	Congelada MTDSC	Liofilizada- Rehidratada
Temperatura inicial (°C)	50.09	48.12	49.87	47.47
Temperatura máxima (°C)	55.07	53.38	53.24	53.00
Entalpía (J/g)	0.1633	0.2581	0.3390	0.2023

Para el caso de las proteínas sarcoplásmicas y el colágeno, se observa que también hay cambios estructurales importantes con sus respectivos gastos energéticos como se aprecia en la cuadro 13, donde los gastos energéticos no son muy diferentes entre sí, lo que indica que no hay diferencias significativas, por consiguiente, en todos los casos se están desnaturalizando éstas proteínas cárnicas. También se puede apreciar que este conjunto de proteínas que son solubles (sarcoplásmicas) e insolubles (colágeno) (Wu *et al.*, 1982) están dentro del mismo intervalo en cuanto a temperaturas de desnaturalización, para el caso de las proteínas que son solubles es debido a que la estructura de la mioglobina es debida a que solo es una sola cadena polipeptídica unida al grupo hemo, no existen enlaces covalentes con otros compuestos, aunque la estructura más compacta de esta proteína ocasiona que su temperatura de desnaturalización se vea ligeramente incrementada en comparación con la miosina, pero a su vez que reaccione fuertemente con otros compuestos como oxígeno o por efectos de la ausencia del mismo.

Cuadro 13. Temperaturas de desnaturalización y gastos energéticos de proteínas sarcoplásmicas y colágeno

	Refrigerada	Congelada REVCO	Congelada MTDSC	Liofilizada- Rehidratada
Temperatura inicial (°C)	59.75	59.36	58.48	61.07
Temperatura máxima (°C)	65.34	64.49	63.77	66.51
Entalpía (J/g)	0.2501	0.2429	0.2756	0.2786

En el caso del colágeno que también tiene una temperatura reportada en este intervalo, es diferente, ya que en este caso es una hélice compleja de 3 cadenas conformadas principalmente de glicina, prolina e hidroxiprolina, por consiguiente tiene una estabilidad

mayor a las temperaturas por efectos de sus interacciones inter e intracatenarias por efectos de puentes de hidrógeno, fuerzas electroestáticas, entre muchas más.

Para el caso de la última transición observada en la Figura 46, se tiene que corresponden a la actina, la cual ha demostrado que debido a su conformación en estado nativo, resiste modificaciones a temperaturas elevadas, en el cuadro 14, se aprecia que las modificaciones se encuentran superiores a los 70 °C.

Debido a la estructura compacta de la actina en sus 2 subunidades y por efectos de fuerzas electroestáticas, puentes de hidrógeno y algunos puentes disulfuro inter e intracatenarios esta molécula cuenta con una mayor estabilidad térmica lo que provoca que sus energías de desnaturalización sean ligeramente más elevadas en comparación con las otras transiciones y que la temperatura oscile entre los 76 y 79 °C para que empiecen las modificaciones de esta proteína miofibrilar.

Cuadro 14. Temperaturas de desnaturalización y gastos energéticos para actina

	Refrigerada	Congelada REVCO	Congelada MTDSC	Liofilizada- Rehidratada
Temperatura inicial (°C)	73.32	72.01	73.66	74.71
Temperatura máxima (°C)	77.88	76.59	76.10	79.56
Entalpía (J/g)	0.2202	0.3606	0.3006	0.3848

Se realizó un análisis estadístico para evaluar el efecto que tiene la temperatura y el proceso en función al flujo de calor total mediante un análisis de varianza de 2 vías con un nivel de significancia del 5% ($\alpha = 0.05$), donde se plantean las siguientes pruebas de hipótesis:

Para los tratamientos:

$$H_0: \mu_{\text{Refrigerada}} = \mu_{\text{Congelada MTDSC}} = \mu_{\text{Congelada REVCO}} = \mu_{\text{Liofilizada-Rehidratada}}$$

H_1 : Se rechaza la H_0

Para los bloques:

$$H_0: \mu_{40^\circ\text{C}} = \mu_{41^\circ\text{C}} = \mu_{42^\circ\text{C}} = \dots = \mu_{90^\circ\text{C}}$$

H_1 : Se rechaza la H_0

Donde se puede observar en la Figura 47 que estadísticamente las muestras analizadas son diferentes, ya que los tratamientos y las temperaturas influyen directamente en el flujo de calor existente durante el análisis térmico, es decir, en ningún caso las temperaturas de transición de las proteínas involucradas en el sistema son idénticas, todas ellas tienen diferencias significativas tanto en los tratamientos como en los bloques, lo que indica que el proceso de congelación o de liofilización – rehidratación tienen influencia sobre la transferencia de energía aun existiendo las reacciones de desnaturalización.

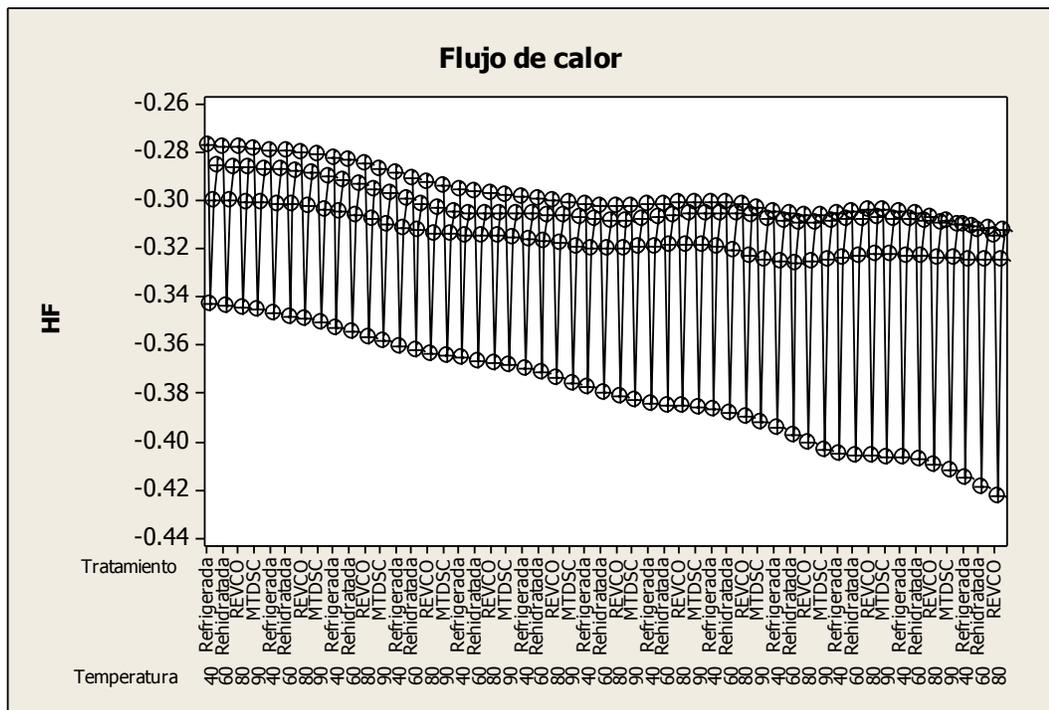


Figura 47. Estadístico del flujo de calor, tratamiento y la temperatura

Para corroborar que las transiciones se encuentran en cada una de las zonas que se muestran en la Figura 46, se analizaron los cambios estructurales (Figura 48) con los cambios en el calor específico (C_p), donde hay variaciones en las pendientes en las mismas zonas que se determinaron en el flujo de calor total.

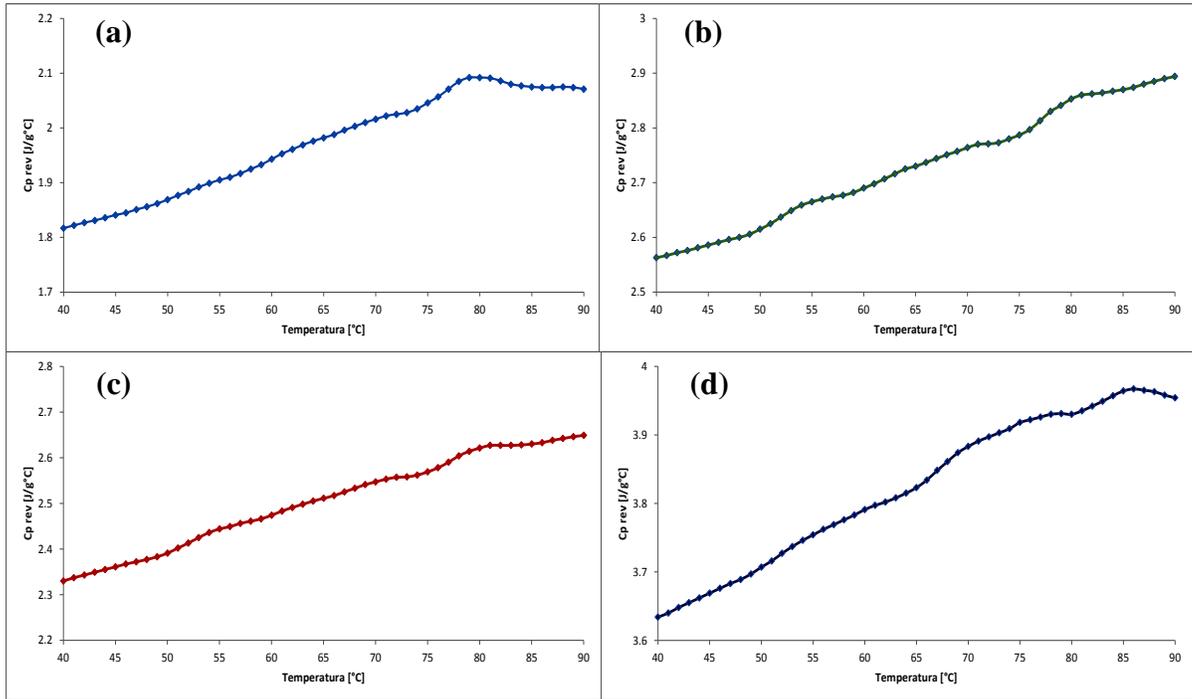


Figura 48. Calor específico para carne de cerdo (a) Refrigerada; (b) Congelación lenta (Cámara REVCO); (c) Congelación rápida (TMDSC); (d) Liofilizada-rehidratada

De acuerdo con Kazemi, *et al.*, Meléndez *et al.*, y Lesiów y Xiong, los intervalos corresponden a los mismos que se obtuvieron en las pruebas lo que indica que la primera transición observada corresponde a la desnaturalización de la miosina, seguida de la desnaturalización del colágeno y proteínas sarcoplásmicas como mioglobina, observada en la segunda transición y para finalizar el último cambio en las pendientes correspondido por la actina. Es importante mencionar que la forma en cómo están constituidos los cristales de hielo y cómo interactúa el agua en el sistema cárnico, determina los cambios que pueden sufrir las proteínas y cómo se encuentran conformadas, ya que al momento de congelar el agua, la forma en que se configuran los cristales de hielo y el daño que ocasionen éstos al sistema.

La remoción del agua por liofilización y luego su posterior rehidratación es lo que hace que las proteínas modifiquen su conformación en el espacio, es por ello que la forma en cómo se encuentren y modifiquen estas estructuras indicarán el grado de desnaturalización y por consiguiente se modifique su funcionalidad. Los cambios estructurales y funcionales de las proteínas se verán en ciertos atributos de calidad, como los cambios en los parámetros de perfil de color, así como también la capacidad de retención de agua (CRA), capacidad emulsificante y gelificante y la capacidad en la formación de cristales de sales.

Para este caso, también se procedió a realizar el análisis de varianza de 2 vías, con un nivel de significancia del 5% ($\alpha = 0.05$) para determinar si hay existencia de diferencias estadísticamente significativas entre las temperaturas y el calor específico (C_p específico), planteando las mismas pruebas de hipótesis (para bloques y tratamientos) utilizada en el análisis del flujo de calor total, mostrando en la Figura 49 que realmente existen diferencias importantes entre los valores del C_p específico y la temperatura de transición, lo que indica que el calor específico se ve modificado directamente por efectos de la temperatura y del tratamiento en el que se encuentre la muestra.

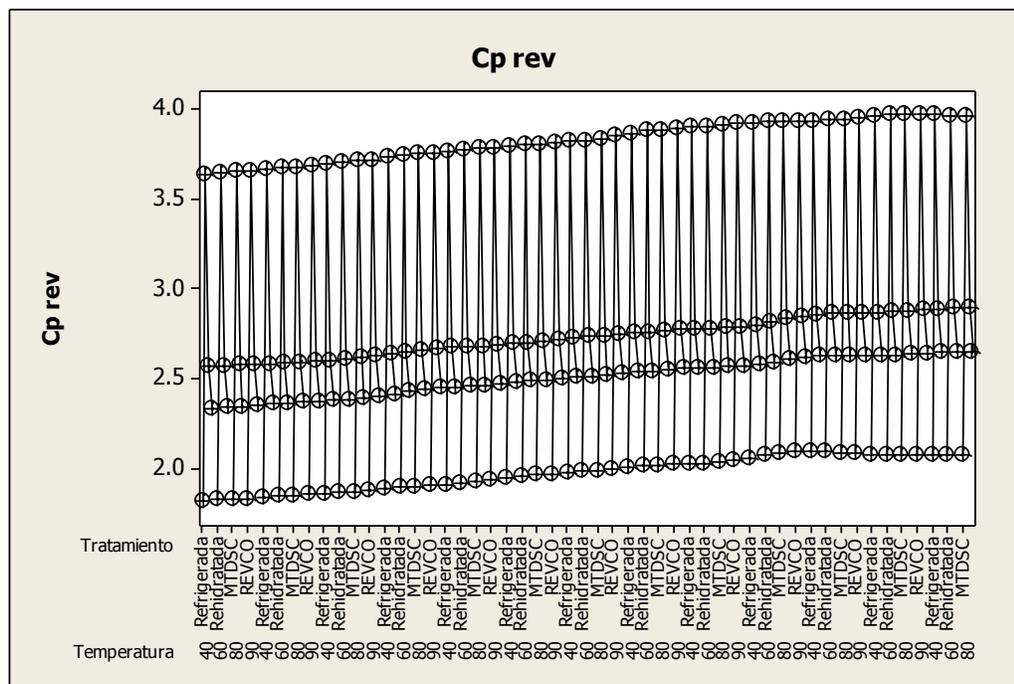


Figura 49. Estadístico del calor específico, tratamiento y la temperatura

La derivada del flujo de calor con respecto a la temperatura (Figura 50) confirma nuevamente la existencia de los cambios que ocurren dentro de los mismos intervalos que se muestran en la gráfica del flujo de calor total (Figura 46), lo que corrobora la existencia de modificaciones importantes, ya sea por el reacomodo de las proteínas o por el efecto que sufren al calentar dentro del calorímetro y sus previas modificaciones durante los distintos procesamientos o por efectos de una desnaturalización. Estas transiciones se generan en los mismos intervalos de temperatura, es decir, si la derivada no muestra cambios en la pendiente está indicando que no existen eventos térmicos durante el barrido realizado en el equipo, pero si existen modificaciones en la pendiente de la derivada del flujo de calor con respecto a la temperatura, quiere decir que existen eventos térmicos importantes, los cuales tienen que analizarse, en este caso se puede observar que realmente existen eventos térmicos en las mismas zonas donde se encuentran aparentemente las transiciones de las proteínas.

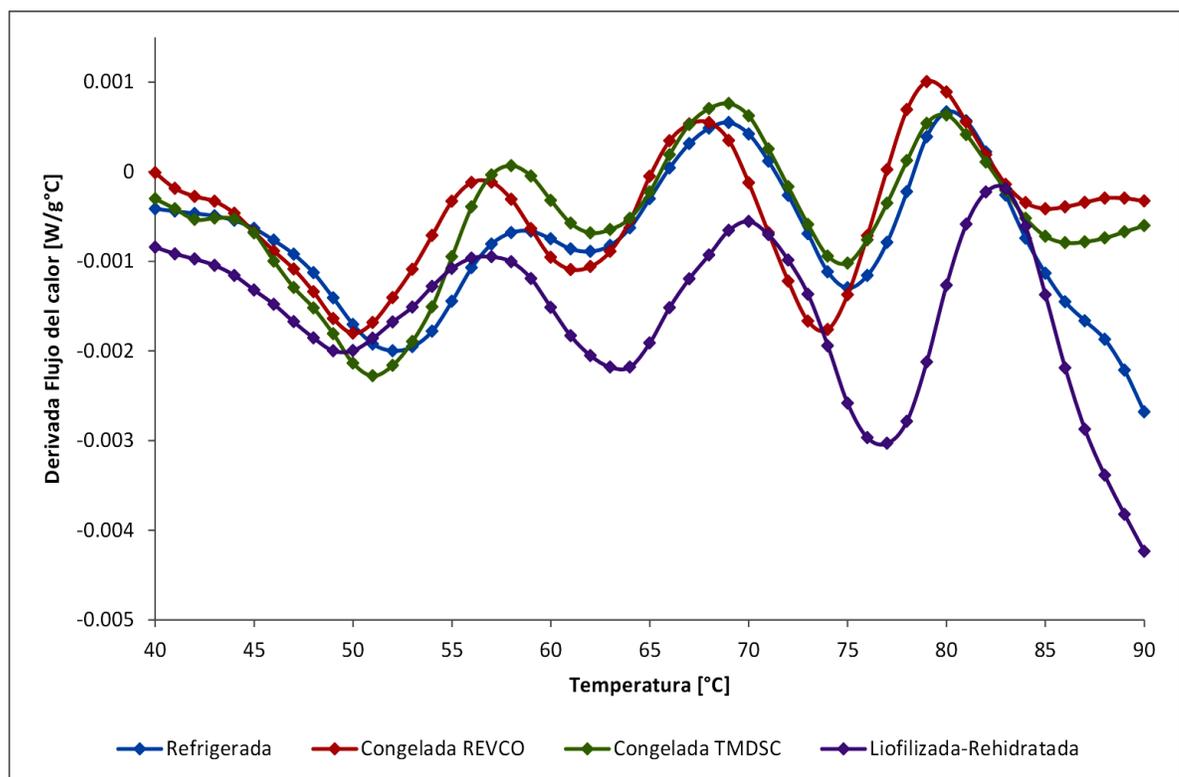


Figura 50. Derivada del flujo de calor total en función a la temperatura para carne de cerdo

Desde este punto de vista, se procedió a realizar un análisis de varianza de 2 vías para determinar la influencia del proceso (refrigerada, congelada con cámara, congelada en calorímetro o liofilizada – rehidratada) en función a la temperatura y la derivada del flujo de calor en función de la temperatura. Esta prueba estadística se realizó de igual manera con las pruebas de hipótesis planteadas para el análisis del flujo de calor, donde tenemos a los tratamientos y los bloques. En la Figura 51 se aprecia que existen diferencias estadísticas entre los valores de la derivada del flujo de calor, la temperatura y el tratamiento.

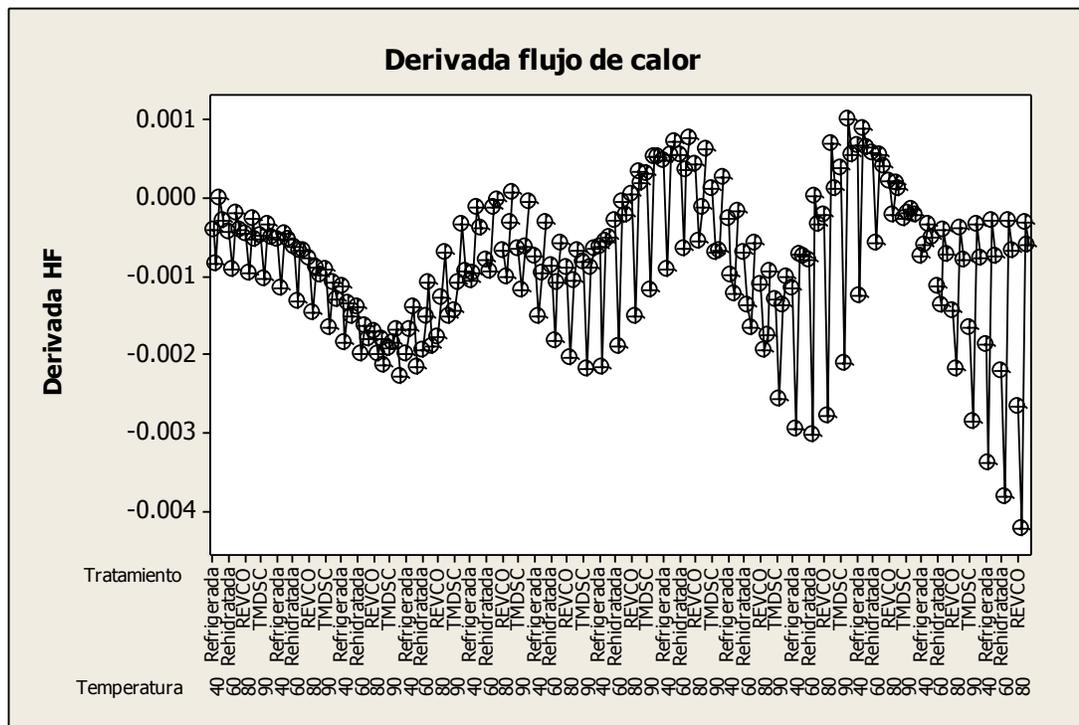


Figura 51. Estadístico de la derivada de flujo de calor en función de la temperatura

La Figura 51 muestra estas diferencias estadísticas sobre la línea base, las cuales indican que existen eventos térmicos relevantes, aunque también se observa que a pesar de esas diferencias, las transiciones se llevan en los mismos intervalos de temperatura. Esto confirma que las proteínas se están modificando estructuralmente, siendo las mayores diferencias dadas por la muestra liofilizada-rehidratada, lo que indica que el proceso de

congelación y liofilización tienen un efecto importante en la modificación estructural de las proteínas cárnicas.

CONCLUSIONES

La liofilización es un método efectivo de conservación de la carne logrando llegar a valores de actividad acuosa de aproximadamente 0.14.

El método de congelación de la carne previa a su proceso de liofilización influye de manera importante en el grado de modificación que las proteínas del sistema sufran, además de ser un punto crítico que determinará si la liofilización como tal afectará la estructura cárnica para efectos de calidad.

Los cambios que existen en los parámetros del perfil de color durante el procesamiento de la carne, están íntimamente relacionados con el grado de desnaturalización que sufre la mioglobina, ya sea por efectos propios de la deshidratación o efectos del método de congelación.

La deshidratación de la carne utilizando el método de secado por congelación al vacío provoca la acumulación de cristales salinos en las fibras cárnicas, lo que genera un cambio en la reflexión de la luz, ocasionando que los cambios en el perfil de color se vean modificados y puedan ser apreciados por la vista humana.

Los gastos energéticos que se aprecian en el análisis térmico corresponden a modificaciones estructurales de la carne sometida a diferentes procesos como refrigeración, congelación lenta y rápida y liofilización-rehidratación, que permiten el conocimiento de las temperaturas de desnaturalización de proteínas de interés cárnico debido a su funcionalidad dentro del sistema.

El conocer la velocidad de congelación de la muestra cárnica ayuda a poder establecer mejores condiciones de temperatura y tiempo que deberán aplicarse a la congelación del sistema durante su transporte y/o almacenamiento para su posterior procesamiento, así como establecer el método como un punto crítico del proceso de conservación.

Conocer las condiciones en que se encuentra la mioglobina superficial de la carne durante las diferentes etapas del proceso de liofilización permitirá determinar las especies químicas

en que se encuentra dicha proteína y su comportamiento al inicio, durante y al final del proceso para efectos de calidad para el consumidor.

La fracción de agua no congelada durante el proceso térmico tiene un descenso importante en la zona de los 0 a los -10 °C lo que indica que en ese intervalo se lleva a cabo la congelación de la mayor cantidad de agua de la carne.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alvarado J.D. (2001). Métodos para medir propiedades físicas en industrias de alimentos. España: Acribia pp 410
2. American Meat Science Association [AMSA], (2012). Meat color measurement guidelines. Illinois, USA.
3. Association Of Analytical Communities [AOAC], (2000). Official methods of analysis (17th. Ed.) Washington, D.C. USA.
4. Arjona R. J. L., Álvarez C. A., Flores M. J. (1996). Aplicación de frío a productos perecederos. México: PUAL-UNAM-UAY.
5. Babic J., Cantalejo M.J., Arroqui C. (2009). The effects of freeze-drying process parameters on *Broiler* chicken breast meat. *Food Science and Technology* **42**, 1325-1334.
6. Badui D.S. (2006). Química de los alimentos. México: Pearson educación pp 716
7. Belichmeier J.A., Cammenga H.K., Schneider P.B., Steer A.G. (1998). A simple method for determining activation energies of organic reactions from DSC curves. *Thermochimica ACTA* **310**, 147-151.
8. Bertram H. C., Wu Z., Frans vanden Berg, Henrik J. Andersen, (2006). NMR relaxometry and differential scanning calorimetry during meat cooking. *Meat Science* **74**, 684–689.
9. Brewer M.S., Zhu L.G., Bidner B., Meisinger D.J., McKeith F.K. (2001). Measuring pork color: effects of bloom time, muscle, pH and relationship to instrumental parameters. *Meat Science* **57**, 169-176.
10. Calzetta A.R., Suarez C. (2001). Gelatinization kinetics of amaranth starch. *International Journal of Food Science and Technology* **36**, 441-448.
11. Cassel B., Packer R. (2010). Modulated temperature DSC and the DSC 8500: A step up in performance. U.S.A.: PerkinElmer Inc.
12. Cho K.C., Choy C.L. (1980). Thermal stability of hemoglobyn and myoglobin. *Biochimica et Biophysica ACTA* **622**, 320-330.
13. Coria H.J. (2011). Evaluación del efecto de la liofilización-hidratación en las proteínas miofibrilares de carne de cerdo fresca y cocida. México: Tesis de

- Licenciatura. Ingeniería en Alimentos. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. U.N.A.M.
14. Cornillon P. (2000). Characterization of osmotic dehydrated Apple by NMR and DSC. *LWT - Food Science and Technology* **33**, 261-267
 15. Creighton E.T. (1993). Proteins structures and molecular properties. U.S.A.: W. H. Freeman and Company pp 507.
 16. Damez J.L., Clerjon S. (2008). Meat quality assessment using biophysical methods related to meat structure. *Meat Science* **80**, 132-149.
 17. Del Castillo S.A.L. (2001). Evaluación del daño estructural en tejido muscular (carne de cerdo) mediante el uso de pruebas enzimáticas y su contrastación con pruebas texturales en carnes congeladas por 2 diferentes métodos. México: Tesis de Licenciatura. Ingeniería en alimentos. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. U.N.A.M.
 18. Dias C.L., Ala-Nissila T., Wong-ekkabut J., Vattulainen I., Grant M., Karttunen M. (2010). The hydrophobic effect and its role in cold denaturation. *Cryobiology* **60**, 91-99.
 19. Duun A.S., Hemmingsen A.K.T., Haugland A., Rustad T. (2008). Quality changes during superchilled storage of pork roast. *Food Science and Technology* **41**, 2136-2143.
 20. Estévez M. (2011). Protein carbonyls in meat systems: A review. *Meat Science* **89**, 259-279.
 21. Feeney R.E., Yeh Y. (1993). Antifreeze proteins: Properties, mechanism of action, and posible applications. *Food Technology* **January**, 82-88
 22. Fenemma O.R. (2010). Química de los alimentos. 3° ed. España: Acribia.
 23. Gómez D.R. (1994). Actividad de agua de los alimentos. Métodos de determinación. *Alimentaria* **77**; 77-81
 24. Grinberg V.Y., Burova T.V., Haertlé T., Tolstoguzov V.B. (2000). Interpretation of DSC data on protein denaturation complicated by kinetic and irreversible effects. *Journal of Biotechnology* **79**, 269-280.

25. Hammaström P., Jonsson B.H. (2013). Protein denaturation and denatured state. John Wiley and sons. **Doi: 10.1002/9780470015902.a0003003.pub2**
26. Hanafusa N. (1972). Denaturation of enzyme protein by freeze-thawing and freeze-drying. *Institute of Low Temperature Science* **B17**, 1-20
27. Hernández R.E.N., Ramírez O.M.A. (2010). Protocolo para evaluación de muestras para microscopía confocal. México: Instituto de neurobiología, U.N.A.M.-Juriquilla.
28. Irie M., Swatland H.J. (1992). Relationships between Japanese pork color standards and optical properties of pork before and after frozen storage. *Food Research International* **25**, 21-30.
29. Kazemi S., Ngadi O.M., Gariépy C. (2009). Protein Denaturation in pork Longissimus muscle of a different quality groups. *Food Bioprocess Technology*. **Doi:10.1007/s11947-009-0201-3**.
30. King V.A.E., Chen J.F. (1998). Oxidation of controlled low-temperature vacuum dehydrated and freeze-dried beef and pork. *Meat Science* **48**, 11-19.
31. Krzywicki K. (1979). Assesment of relative content of myoglobin, oximyoglobin and metmyoglobin at the surface of beef. *Meat Science* **3**, 1-10.
32. Lab-Ferrer (2007). Actividad de agua en los alimentos. España: AQUALAB Decagon Devices inc.
33. Laopoolkit P., Suwannaporn P. (2011). Effect of pretreatments and vacuum drying on instant dried pork process optimization. *Meat Science* **88**, 553-558
34. Lawrie R.A. (1988). Developments in meat science – 4/ Development series; Elsevier applied science, London.
35. Ledward D.A. (1978). Scanning calorimetric studies of some protein-protein interactions involving myoglobin. *Meat Science* **2**, 241-249.
36. Lee S.H., Joo S.T., Ryu Y.C. (2010). Skeletal muscle fiber type and myofibrillar proteins in relation to meat quality. *Meat Science* **86**, 166-170.
37. Lesiów T., Xiong Y.L. (2013). A simple, reliable and reproductive method to obtain experimental pale, soft and exudative (PSE) pork. *Meat Science* **93**, 489-494.

38. Lindahl G. (2005). Colour characteristics of fresh pork. Suecia: Tesis de doctorado. Swedish University of Agricultural Sciences.
39. Lindahl G., Karlsson A.H., Lundström K., Andersen H.J. (2006). Significance of storage time on degree of blooming and colour stability of pork loin from different crossbreeds. *Meat Science* **72**, 603-612.
40. Lindahl G., Lundström K., Tornberg E. (2001). Contribution of pigment content, myoglobin forms and internal reflectance to the colour of pork loin and ham from pure breed pigs. *Meat Science* **59**, 141-151.
41. Matejtschuk P. (2007). Cryopreservation and freeze-drying protocols. *Methods in molecular biology* **368**, 59-72
42. Meléndez P.R., Arjona R.J.L. (2011). On the thermal properties of frozen, refrozen and freeze drying porcine *Longissimus dorsi*. *Journal of Animal and Veterinary Advances* **10 (22)**, 2956-2960
43. Meléndez P.R., Rosas M.M.E., Arjona R.J.L. (2011). Comparison of melting frost layers after 2 frozen methods in pork cuts (*longissimus dorsi*). *Procedia Food Science* **1**, 363-369
44. Montgomery C.D. (1991). Diseño y análisis de experimentos. México: Grupo editorial Iberoamérica pp 589.
45. Neurath H., Greenstein J.P., Putnam F.W., Erickson J.O. (1943). The chemistry of protein denaturation. *Public Health Service* 158-253
46. Niinivaara F.P., Antila P. (1973). El valor nutritivo de la carne. España: Acribia pp 184.
47. Norma Oficial Mexicana NOM-009-ZOO-1994. Proceso sanitario de la carne. Publicada en el Diario Oficial de la Federación (DOF) en el año 1994.
48. Pearce K.L., Rosenvold K., Andersen H.J., Hopkins D.L. (2011). Water distribution and mobility in meat during the conversion of muscle to meat and ageing and the impacts on fresh meat quality attributes – A review. *Meat Science* **89**, 111-124.
49. Ponce A.E., Taylor A.J. (2000). Extraction and ESI-CID-MS/MS analysis of myoglobins from different meat species. *Food Chemistry* **69**, 81-86.
50. Prabhu V.N., (2005). Heat Capacity in proteins. *Physical Chemistry* **56**, 521 – 548.

51. Prieto N. (2010). Aplicación de la tecnología NIRS para estimar parámetros indicativos de la calidad de la carne de vacuno. España: Tesis de Doctorado. Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Estación agrícola experimental. Universidad de León.
52. Prieto N., Andrés S., Giráldez F.J., Mantecon A.R., Lavín P. (2006). Potential use of near infrared reflectance spectroscopy (NIRS) for the estimation of chemical composition of oxen meat samples. *Meat Science* **74**, 487-496
53. Prieto N., Roehe R., Lavín P., Batten G., Andrés S. (2009). Application of near infrared reflectance spectroscopy to predict meat and meat products quality: A review. *Meat Science* **83**, 175-186
54. Privalov P.L., Griko Y.V., Venyaminov S.Y. (1986). Cold denaturation of myoglobin. *Journal of Molecular Biology* **190**, 487-498.
55. Ranganathan R., Socolich M., Lockless S.W., Russ W.P., Lee H., Gardner K.H. (2005). Evolutionary information for specifying a protein fold. *Nature* **437**, 512-518
56. Rosas M.M.E. (2012). Evaluación del fenómeno de transferencia de masa durante la deshidratación osmótica asistida por ultrasonido, de mango ataulfo (*Mangifera indica* L.) y manzana starking (*Malus domestica borkh*). México: Tesis de Doctorado en Tecnología Avanzada. Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada. I.P.N.
57. Salazar B.R.M. (2010). Manual de color de carne y productos cárnicos. México: Material de apoyo a la docencia. Ingeniería en alimentos. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. U.N.A.M.
58. Schwartzberg G.H., Hartel W.R. (1992). Physical chemistry of foods. U.S.A.: Marcel Dekker inc. pp 747.
59. Skrlep M., Candek-Potokar M. (2006). Pork color measurement as affected by bloom time and measurement location. *Journal of Muscle Foods* **18**, 78-87.
60. Solís D.A. (2006). Evaluación del comportamiento calorimétrico del nopal (*Opuntia ficus indica*) por calorimetría diferencial de barrido con modulación de la temperatura. México: Tesis de Licenciatura. Ingeniería en alimentos. Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. U.N.A.M.

61. Spigno G., De Faveri M.D. (2004). Gelatinization kinetics of rice starch studied by non-isothermal calorimetric technique: influence of extraction method, water concentration and heating rate. *Journal Food Engineering* **62**, 337-344
62. Sun D.W., Zheng L. (2006). Vacuum cooling technology for the agri-food industry: Past, present and future. *Journal of Food Engineering* **77**, 203-214.
63. TA Instruments. (2012). Thermal analysis review, Modulated DSC™ theory. Germany: Thermal Analysis and Rheology
64. Tapp W.N., Yancey J.W.S., Apple J.K. (2011). How is the instrumental color of meat measured?. *Meat Science* **89**, 1-5
65. Tang J., Faustman C., Hoagland T.A. (2004). Krzywicki revisited: Equations for spectrophotometric determination of myoglobin redox forms in aqueous meat extracts. *Journal of Food Science* **69** (9), 717-720
66. Toldrá F., Miralles M.C., Flores J. (1992). Protein Extractability in dry-cured ham. *Food Chemistry* **44**, 391-394.
67. Uddin M., Okazaki E., Ahmad M.U., Fukuda Y., Tanaka M. (2006). NIR spectroscopy: A non-destructive fast technique to verify heat treatment of fish-meat gel. *Food Control* **17**, 660-664
68. Van der Sman R.G.M. (2012). Thermodynamics of meat proteins. *Food Hydrocolloids* **27**, 529-535.
69. Verdonck E., Schaap K., Thomas L.C. (1999). A discussion of the principles and applications of Modulated Temperature DSC (MTDSC). *International Journal of Pharmaceutics* **192**, 3-20.
70. Wu J.J., Dutson T.R., Carpenter Z.L. (1982). Effect of post-mortem time and temperature on bovine intramuscular collagen. *Meat Science* **7**, 161-168.
71. Wu J.Y., Xugan N.J. (2007). Histological characteristics of *longissimus dorsi* muscle and their correlation with restrictions fragment polymorphisms of calpastatin gene in F2 Jinghua X Pietrain crossbred pigs. *Animal* **9**, 2433-2440.
72. Xia X., Kong B., Liu Q., Liu J. (2009). Physicochemical change and protein oxidation in porcine longissimus dorsi as influenced by different freeze-thaw cycles. *Meat Science*. **Doi: 10.1016/j.meatsci.2009.05.003**.

73. Yancey J.W.S., Kropf D.H. (2008). Instrumental reflectance values of fresh pork are dependant on aperture size. *Meat Science* **79**, 734-739.
74. Zhou G.H., Xu X.L., Liu Y. (2010). Preservation technologies for fresh meat – A review. *Meat Science* **86**, 119-128.