



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BARCELONA
FACULTAD DE VETERINARIA
DOCTORADO EN CIENCIA DE LOS ALIMENTOS
DEPARTAMENTO DE CIENCIA ANIMAL Y DE LOS ALIMENTOS

TESIS DOCTORAL

**CALIDAD DE LA CARNE DE CERDO, EFECTO DE LA CONGELACION Y
DESCONGELACION, USO DEL CALENTAMIENTO DIELECTRICO PARA
LA DESCONGELACION Y LA ESPECTROSCOPIA DIELECTRICA PARA
EVALUAR LA CALIDAD TECNOLOGICA**

Wondwossen Bekele Beshah

2014

**CALIDAD DE LA CARNE DE CERDO, EFECTO DE LA CONGELACION Y
DESCONGELACION, USO DEL CALENTAMIENTO DIELECTRICO PARA
LA DESCONGELACION Y LA ESPECTROSCOPIA DIELECTRICA PARA
EVALUAR LA CALIDAD TECNOLOGICA**

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

Wondwossen Bekele Beshah

Directores:

Dr. Xavier Serra Dalmau

Dr. Pierre Picouet

Investigadores del Programa de Tecnología Alimentaria del IRTA (Monells)

Tutor:

Dr. Antonio José Trujillo Mesa

**Profesor Titular del Departamento de Ciencia Animal y de los Alimentos de la
Universidad Autónoma de Barcelona**

**MEMORIA PRESENTADA PARA OPTAR AL TITULO DE DOCTOR DEL
PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIA DE LOS ALIMENTOS DEL
DEPARTAMENTO DE CIENCIA ANIMAL Y DE LOS ALIMENTOS**

BELLATERRA, JULIO, 2014.

Dr. Xavier Serra Dalmau y Dr. Pierre Picouet, investigadores del Programa de Tecnología Alimentaria del IRTA en Monells (Girona),

Certifican:

Que la memoria titulada “Calidad de la carne de cerdo, efecto de la congelación y descongelación, uso del calentamiento dieléctrico para la descongelación y la espectroscopia dieléctrica para evaluar la calidad tecnológica”, presentada por Wondwossen Bekele Beshah para optar al grado de Doctor, ha sido realizada bajo nuestra dirección y, considerándola acabada, autorizamos su presentación para que sea juzgada por la comisión correspondiente.

Y para que conste a los efectos oportunos, firman la presente en Monells, 7 de julio de 2014.

Dr. Xavier Serra Dalmau
Director

Dr. Pierre Picouet
Director

Dedicatoria

A Hirut Astatike

A Binyam Wondwossen

A Bethelhem Wondwossen

Por el cariño, amor y lealtad sin límites mostrado hacia mí que, a pesar de la distancia me sirvieron como fuerza de impulso.

Agradecimientos

En primer lugar quiero agradecer a Dios, por darme fuerza y valor para superar la adversidad de vivir por largo tiempo, lejos de mi familia y país.

A los directores de mi tesis Dr. Xavier Serra y Dr. Pierre Picouet, por ayudarme en la preparación del diseño, realización y correcciones minuciosas, que a pesar de sus grandes responsabilidades de trabajos de investigación e innovación no escatimaron sus esfuerzos y tiempo en ayudarme a realizar este trabajo, sin las instrucciones y correcciones fundamentales de ellos no fue posible finalizar esta tesis, mil gracias por su paciencia y comprensión.

A mi tutor de la UAB, Profesor Toni Trujillo, por brindarme su ayuda profesional en momentos decisivos, con aclaraciones e instrucciones muy precisas, que me sirvieron a realizar el trabajo, así como por darme consejos generales de cómo seguir a delante para alcanzar la meta final, muchas gracias por todo.

Quiero agradecer también a la Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo (Aecid), por darme la oportunidad de beca de estudio, especialmente a la representante de dicho organismo en Barcelona, Teresa María de Manuel por ser muy comprensible y siempre amable con los becarios.

Al Dr. Jacint Arnau, coordinador del Programa de Tecnología Alimentaria del IRTA de Monells, por darme la oportunidad de incorporarme a este centro de referencia mundial.

A la Dra. Dolors Guardia, Sra. Montse Pages, Dr. Luis Guerrero y Dr. Josep Comaposada, por su ayuda profesional, gracias por estar ahí y aconsejarme para impulsar el ánimo y la moral, en momentos difíciles.

A todos los investigadores y técnicos del IRTA de Monells, que me han ayudado cientos de veces y con los que siempre he podido contar con ellos desde compartir coches hasta en momentos de mudanza ayudándome a trasladar mi equipaje, en especial a Raúl Encinas, Israel Muñoz, Anna Claret, Elena Fulladosa, Marc Rubio, Anna Villanueva y Luis, Nicolletta, María José, Dani, Jordi, Grau, Cristina, Marta y Mireia gracias por ser muy cooperantes.

A mis amigos Albert y Olga, mil gracias por acogerme en su casa como un amigo, por las cenas familiares ofrecidas en reiteradas ocasiones, con mucho respeto y cariño amistoso, así como por toda su hospitalidad.

A todos los profesores del departamento de ciencia animal y de los alimentos de la UAB, en especial a Josep Juste, Montserrat Mor-Mur, Marta Capellas, Victoria Ferragut, Manuel Castillo, Jordi Saldo y José Juan Rodríguez, por ayudarme en mi formación profesional.

A todos, mi agradecimiento sincero.

Índice de contenidos

ÍNDICE DE TABLAS	1
ÍNDICE DE FIGURAS.....	2
ABREVIATURAS	4
RESUMEN.....	5
SUMMARY	6
1. INTRODUCCION	7
1.1. JUSTIFICACIÓN.....	9
1.2. OBJETIVOS.....	10
1.2.1. <i>Objetivo general</i>	10
1.2.2. <i>Objetivos específicos</i>	10
2. MATERIALES Y METODOS.....	13
2.1. PROCEDIMIENTO GENERAL.....	15
2.2. CONTENIDO DE LA REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	15
3. CALIDAD DE LA CARNE DE CERDO.....	19
3.1. GENERALIDADES	21
3.2. PERSPECTIVAS FUTURAS DE LA CARNE DE CERDO EN EL MUNDO.....	22
3.3. FACTORES QUE AFECTAN LA CALIDAD DE LA CARNE DE CERDO	23
3.3.1. <i>Los factores genéticos</i>	25
3.3.1.1. El gen Halotano	26
3.3.1.2. El gen Rendimiento Napole (RN').....	29
3.4. CONVERSIÓN DEL MÚSCULO A CARNE	29
3.5. EL PH DE LA CARNE.....	34
3.5.1. <i>Factores que afectan el pH de la carne</i>	36
3.5.1.1. Factores <i>ante-mortem</i>	36
❖ El transporte.....	38
❖ Manejo pre-sacrificio	39
❖ El ayuno.....	42
❖ Efecto del aturdimiento sobre la calidad de la carne.....	44
3.5.2. <i>Factores post-mortem</i>	45
3.5.2.1. La carne PSE	46
3.5.2.2. La carne DFD.....	48
3.5.2.3. El pH y tipos de músculos.....	50
3.5.2.4. Tipos de fibras	51
3.6. CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA	55
3.6.1. <i>El sitio y la forma de unión del agua con la carne</i>	57
3.6.2. <i>Factores que afectan la capacidad de retención de agua</i>	61
3.6.2.1. La conversión del músculo en carne y la CRA	62
3.6.2.2. <i>Rigor-mortis</i>	64
3.6.2.3. El impacto del pH en la capacidad de retención de agua	65

3.6.3. <i>Determinación de la capacidad de retención de agua</i>	67
3.6.3.1. Métodos que utilizan la presión.....	68
3.6.3.2. Método de cocinado	69
3.6.3.3. La pérdida por goteo	70
3.6.3.4. Otras técnicas utilizadas para la determinación de la CRA.....	74
3.7. EL COLOR DE LA CARNE	76
3.7.1. <i>La base química del color de la carne</i>	78
3.7.2. <i>Factores de variación del color</i>	80
3.7.2.1. Factor biológico.....	81
3.7.2.2. Factor bioquímico	82
3.7.2.3. Factores extrínsecos.....	83
❖ Especie.....	83
❖ La temperatura.....	84
❖ El oxígeno	85
❖ El efecto de la luz.....	85
3.7.3. <i>La vida útil del color de la carne</i>	86
4. CONGELACION Y DESCONGELACION DE LA CARNE	89
4.1. GENERALIDADES	91
4.2. REFRIGERACIÓN.....	94
4.3. CONGELACIÓN.....	96
4.3.1. <i>El objetivo de la congelación</i>	100
4.3.2. <i>Tipos de congelación</i>	102
4.3.3. <i>El fenómeno de la cristalización</i>	104
4.3.3.1. El tamaño de los cristales.....	106
4.3.3.2. Morfología de los cristales	107
4.3.4. <i>Nuevos métodos de congelación para controlar la cristalización</i>	108
4.3.4.1. La cristalización de agua mediante la técnica de ultrasonido.....	108
4.3.4.2. Supresión de la formación de hielo.....	110
4.3.4.3. Sistema CAS (Cells Alive System).....	112
4.3.4.4. Congelación criogénica por CO ₂ y N ₂	113
4.3.4.5. Súper-enfriamiento	114
❖ Ventajas del súper-enfriamiento.....	115
4.3.5. <i>Efectos del método y tiempo de duración de la congelación</i>	116
4.4. LA DESCONGELACIÓN.....	119
4.4.1. <i>Principios fundamentales de la descongelación</i>	119
4.4.2. <i>Tipos de descongelación</i>	122
4.4.2.1. Descongelación por ventilación forzada	122
4.4.2.2. Descongelación por inmersión en agua	123
4.4.2.3. Descongelación en la cámara de refrigeración	123
4.4.2.4. La descongelación por microondas.....	123
4.4.2.5. La descongelación mediante alta presión.....	126
4.4.2.6. Descongelación por campo electrostático	127
4.4.2.7. La descongelación al vacío	128
4.4.3. <i>Efectos negativos de la descongelación sobre la carne</i>	128

4.4.3.1. Parámetros de la calidad de la carne afectados por la descongelación	129
❖ El contenido de agua	129
❖ Desnaturalización de proteínas.....	131
❖ El color	131
❖ El pH	132
5. USO DE LAS RADIOFRECUENCIAS PARA LA DESCONGELACION DE LA CARNE.....	133
5.1. INTRODUCCIÓN.....	135
5.2. LAS RADIOFRECUENCIAS EN EL ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO	136
5.3. LAS CONSTANTES DIELECTRICAS	138
5.4. FACTORES QUE INFLUYEN EN LAS PROPIEDADES DIELECTRICAS DE LOS ALIMENTOS	139
5.5. LOS EQUIPOS DE RADIOFRECUENCIAS.....	142
5.6. APLICACIÓN DE LAS RADIOFRECUENCIAS EN LA DESCONGELACIÓN DE PRODUCTOS CÁRNICOS.....	146
5.7. VENTAJAS E INCONVENIENTES DE LAS RADIOFRECUENCIAS.....	149
6. LA UTILIZACIÓN DE LA ESPECTROSCOPIA DIELECTRICA EN LA INVESTIGACION ALIMENTARIA.....	151
6.1. INTRODUCCIÓN.....	153
6.2. PRINCIPIOS DE FUNCIONAMIENTO	154
6.2.1. <i>Espectroscopia dieléctrica</i>	154
6.2.2. <i>Espectroscopia de dominio en tiempo (TDR)</i>	157
6.3. EL USO DE LA ESPECTROSCOPIA EN PRODUCTOS CÁRNICOS	159
6.3.1. <i>Aplicación de la espectroscopia dieléctrica directa</i>	159
6.3.1.1. Evaluación de la calidad tecnológica en el músculo de porcino	160
6.3.1.2. Determinación de marcadores bioquímicos	161
6.3.1.3. Adición fraudulenta de agua en productos cárnicos	162
6.4. APLICACIÓN DE LA ESPECTROSCOPIA TDR	162
6.4.1. <i>Evaluación de la frescura del pescado</i>	162
6.4.2. <i>Determinación del contenido de sal en jamón curado</i>	163
7. CONCLUSIONES.....	167
8. BIBLIOGRAFIA.....	171

Índice de tablas

Tabla 1. Lista de palabras clave usadas.....	16
Tabla 2. Lista de revistas, libros y artículos utilizados como referencias.....	17
Tabla 3. Resumen de los acontecimientos que conducen a carnes PSE y DFD.....	49
Tabla 4. Concentración de Mioglobina en diferentes especies.....	84
Tabla 5. Guía para almacenar alimentos en el congelador a 0 °F (-17,8 °C).....	99
Tabla 6. Principales diferencias entre la congelación por campo magnético y el método tradicional de congelación.....	112
Tabla 7. Bandas ISM de uso libre, es decir sin licencia.....	137
Tabla 8. Constante dieléctrica ϵ'_r y ϵ''_r de productos cárnicos que pueden ser descongelados.....	141
Tabla 9. Descongelación de la carne por RF, realizada por diferentes autores.....	147
Tabla 10. Ventajas e inconvenientes de las radiofrecuencias.....	150
Tabla 11. Características de diferentes sondas en espectroscopia dieléctrica.....	154

Índice de Figuras

Figura 1. Representación esquemática de la relación entre el cambio <i>post-mortem</i> del pH del músculo (<i>Longissimus dorsi</i>) de cerdo según las categorías PSE, Normal y DFD.....	50
Figura 2. La forma de la unión del agua en la carne.....	58
Figura 3. Esquema que muestra la naturaleza dipolar del agua.....	60
Figura 4. Relación del pH con la CRA.....	67
Figura 5. Diferencias entre carne PSE, normal y DFD.....	72
Figura 6. Método de la pérdida por goteo más utilizado actualmente: <i>The bag Method</i>	72
Figura 7. Representación gráfica de técnicas de pérdida por goteo.....	73
Figura 8. Piezas de carne de cordero con la mioglobina en forma de oximioglobina (izquierda) y metamioglobina (derecha).....	79
Figura 9. La presencia del color rojo brillante ' <i>blooming</i> ' (oximioglobina) y el desarrollo de la coloración marrón en vacuno (metamioglobina).....	86
Figura 10. Representación de una onda electromagnética con los vectores de los campos eléctrico y magnético.....	135
Figura 11. Espectro electromagnético.....	136
Figura 12. Esquema de un equipo de radiofrecuencia.....	143

Figura 13. Esquemas de los tipos de equipo de radiofrecuencias convencional y 50 ohmios que se puede utilizar para la descongelación de bloques de carne.....	144
Figura 14. Diferentes tipos de electrodos para procesar bloques de carne.....	145
Figura 15. Túnel semi-industrial de Radiofrecuencias (27,12 MHz) con una potencia máxima de 15 kW.....	146
Figura 16. Gráfico del tiempo de descongelación mediante RF y Convencional...	148
Figura 17. Esquema de un equipo para medir las constantes dieléctricas con la frecuencia.....	155
Figura 18. A) Equipo Sequid RFQ-Scan. Dispositivo manual (izquierda) dispositivo de control (derecha). B) sensor del equipo.....	157
Figura 19. Curvas TDR típicas del aire (en guión negro) y del agua destilada.....	158

Abreviaturas

a*	tendencia al rojo (CIELab)
ADN	Acido desoxirribonucleico
ATP	Adenosintrifosfato
a _w	actividad de agua
b*	tendencia al amarillo (CIELab)
CO ₂	dióxido de carbono
CRA	Capacidad de retención de agua
DFD	Dark, Firm and Dry (oscura, firme y seca)
DSC	Differential Scanning Calorimetry
EFSA	Agencia Europea de Seguridad Alimentaria
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
GP	Potencial glucolítico
HM	Hipertermia maligna
L*	Luminosidad (CIELab)
nn	Homocigoto recesivo del gen RYR1 (halotano positivo)
NN	Homocigoto dominante para el gen RYR1 (halotano negativo)
OCDE	Organización para la Cooperación y Desarrollo
OIE	Organización Mundial de Sanidad Animal
PCR	reacción en cadena de la polimerasa
pH ₄₅	pH medido a los 45 min <i>post-mortem</i>
pHu	pH medido a las 24 horas <i>post-mortem</i>
PSE	Pale, Soft and Exudative (pálida, blanda y exudativa)
RFN	carne roja, firme y no exudativa
RN	Rendimiento Napole
USDA	United States Department of Agriculture

Resumen

La calidad de la carne de cerdo está determinada por múltiples factores que están interrelacionados entre sí, ya que durante el periodo antes del sacrificio, los animales experimentan situaciones de estrés que repercuten en su bienestar. Estos elementos relacionados con el periodo *ante-mortem* pueden posteriormente afectar la calidad de la carne. Por tal motivo, el objetivo fundamental de esta tesis documental es revisar los factores relacionados con la genética y los periodos *ante-mortem* y *post-mortem*. Con el fin de cumplir el objetivo de este trabajo, esta tesis se subdivide en 6 capítulos principales.

En los capítulos uno y dos, se presentan los objetivos y los medios bibliográficos utilizados. En el capítulo tres se realiza una revisión sobre los efectos genéticos (la presencia del gen del halotano), los efectos del transporte de los animales a los mataderos, así como las prácticas de ayuno y aturdimiento y su repercusión en la calidad tecnológica de la carne, incluyendo el análisis de los factores *post-mortem* abordando los sucesos más relevantes de este último que, son la aparición de las características PSE (carnes pálidas, blandas y exudativas) y DFD (carnes oscuras firmes y secas). En la parte final de este capítulo, se aborda la capacidad de retención de agua de la carne de cerdo, los factores que la determinan y las técnicas más usadas en el análisis de la misma, así como los aspectos importantes del color de la carne.

En el cuarto capítulo, se presenta los procesos de congelación y descongelación de la carne incluyendo sus efectos sobre la calidad de la carne, dando especial énfasis al fenómeno de la cristalización del agua durante la congelación y a las técnicas de congelación y descongelación. El capítulo cinco se dedica a aspectos relacionados con la descongelación de la carne mediante la técnica de radiofrecuencias, presentando aplicaciones, sus ventajas y desventajas. En el capítulo seis se abordan investigaciones relacionadas con la evaluación de la calidad de la carne y diferentes productos cárnicos, mediante espectroscopia dieléctrica (espectroscopia dieléctrica directa y espectroscopia en dominio en tiempo o *Time Domain Reflectometry*, TDR) y su aplicación en la industria alimentaria.

Palabras clave: calidad de la carne de cerdo, gen del halotano, ayuno, bienestar animal, congelación, descongelación, cristalización de hielo, radiofrecuencias, propiedades dieléctricas, reflectometría en el dominio del tiempo.

Summary

The quality of pork is determined by many factors that are interrelated, since during the period before slaughter animals experience stress affecting their welfare. These items related to ante-mortem period may subsequently affect the quality of the meat. Therefore, the main objective of this documental thesis is to review the factors related to genetics and the ante-mortem and post-mortem periods. In order to meet the objective of this study, this thesis is divided into 6 main chapters.

Bibliographic objectives and means used are presented in chapters one and two. In chapter three a review of the genetic effects (the presence of the halothane gene), the effects of the transport of animals for slaughter as well as fasting and stunning practices and their impact on the technological quality of the meat is done, including the analysis of post-mortem factors tackling the most important events of the latter that are the appearance of PSE (pale, soft and exudative meat) and DFD (dark firm and dry meat) features. In the final part of this chapter, the water holding capacity of pork is addressed, together with the factors that determine it and the most used techniques for its analysis, as well as important aspects of meat color.

Processes of freezing and thawing of meat including its effects on the quality of the meat is in the fourth chapter, giving special emphasis to the phenomenon of crystallization of water during freezing and to the freeze-thaw techniques. Chapter five is devoted to issues related to defrost meat using the technique of radio frequencies, presenting applications, advantages and disadvantages. In chapter six research works related to the evaluation of the quality of meat and various meat products by dielectric spectroscopy (direct dielectric spectroscopy and time domain spectroscopy TDR) and its application in food industry research are discussed.

Keywords: Meat quality, Halothane gene, Fasting, Animal welfare, Freezing, Thawing, Ice crystalization, Radio frequency, Dielectric properties, Time domain reflectometry.

1. INTRODUCCION

En el mundo actual hay una demanda creciente de carne de calidad, y la calidad de la carne de cerdo es influenciada por varios factores, tales como, la genética, nutrición, el estrés, el manejo y procesamiento (Warriss, 1995). Dentro de los principales objetivos de la industria ganadera, se destaca el de proporcionar productos inocuos y de calidad a los consumidores. Sin embargo, para ellos la calidad de la carne va más allá de la inocuidad, calidad organoléptica o nutricional, valorando también aspectos relacionados con las condiciones de producción y el impacto de la actividad sobre el medio ambiente (Sepúlveda *et al.*, 2008). Cabe mencionar, que la globalización de la economía mundial ha impulsado el crecimiento en la demanda de proteínas de origen animal, que a su vez dio lugar, al aumento en la crianza y sacrificio de los animales en el planeta.

1.1. Justificación

La carne de cerdo es la más consumida a nivel mundial ya que, la mayoría de grasas presentes son insaturadas y es rica en proteínas, potasio, hierro y selenio. Además, la carne porcina es una de las producciones más eficientes debido a la precocidad de los animales y la gran capacidad de transformación de nutrientes, por tal motivo, debería formar parte de la alimentación habitual de la población a cualquier edad. En Etiopía el consumo de esta carne fue limitado, básicamente por cuestiones culturales, religiosas y por la disponibilidad de los grandes y pequeños rumiantes (bovinos, ovinos y caprinos).

Sin embargo, debido al desarrollo económico logrado en los últimos cinco años en mi país se ha incrementado la llegada de turistas e inversores extranjeros que han estimulado la construcción de grandes Hoteles (Vaughan, AFP/2013), los cuales tienen una demanda muy elevada de carne porcina (FDRE, 2013). Además en los últimos cinco años se observa una tendencia de crecimiento del consumo de la carne de cerdo, por una cierta parte de la población local, especialmente por grupos de personas que han regresado a re-establecer su vida en su país de origen, después de haber vivido durante muchos años en EE.UU y Europa.

Entre otras, éstas fueron las razones principales que influyeron en mi decisión de realizar esta tesis documental que abarca en su mayor parte los factores relacionados con la calidad de la carne de cerdo, haciendo especial énfasis en los temas del bienestar animal, los factores tecnológicos de la calidad de carne, las técnicas de congelación y

descongelación, el uso de las radiofrecuencias y microondas en la descongelación de carne así como la aplicación de la espectroscopia dieléctrica en la investigación alimentaria. El objetivo principal de esta tesis es ampliar y profundizar en el conocimiento de los temas elegidos con el fin de impulsar y favorecer el proceso de transferencia tecnológica desde uno de los países punteros en la investigación agroalimentaria en Europa, como es España, hacia mi país. Estoy completamente convencido de que este trabajo además de apoyarme en las labores de asesoramiento a empresas ganaderas y mataderos de exportación también me servirá como punto de partida para profundizar más en los problemas mencionados y buscar soluciones mediante el trabajo conjunto con los investigadores del sector público y privado.

1.2. Objetivos

1.2.1. Objetivo general

El presente trabajo tiene como objetivo general hacer una revisión actualizada de los temas elegidos, valiéndose en una revisión descriptiva, que se apoya en datos e información de textos y documentos, así como conceptos y definiciones ya antes comprobadas por otros autores.

1.2.2. Objetivos específicos

El capítulo 3 de calidad de la carne de cerdo, pretende estudiar los efectos *ante-mortem* y *post-mortem*, especialmente la genética, los factores de manejo asociados al estrés, sobre la calidad de la carne de cerdo, abordando también los aspectos PSE (carne pálida, blanda y exudativa) y DFD (carne oscura, firme y seca), en sus siglas en inglés, así como explicar las propiedades influyentes en la capacidad de retención de agua y el color de la carne.

En el capítulo 4 se intenta hacer una síntesis de los aspectos fundamentales, relacionados con la teoría y práctica de la congelación y descongelación de la carne, las tecnologías existentes para realizar de manera eficaz dichos procesos, comparando las ventajas e inconvenientes de la aplicación de las mismas y su implicación en la calidad de la carne.

En el capítulo 5 se revisan los principios de funcionamiento de las tecnologías que se basan en la utilización de la energía electromagnética (radiofrecuencias y microondas), en la descongelación de la carne, abordando también, la relevancia que tiene el uso de estas tecnologías, con respecto a la preservación de la calidad organoléptica de la carne y en el ahorro de energía y tiempo en la industria cárnica.

En el capítulo 6 se trata de revisar el conocimiento, sobre las tecnologías muy novedosas de la espectroscopia dieléctrica directa y la espectroscopia en el dominio del tiempo (Time Domain Reflectometry o TDR en sus siglas en inglés), capaces de analizar las propiedades dieléctricas de los alimentos, así como su aplicabilidad en líneas de producción, para la determinación de diferentes parámetros de la calidad de la carne y el reconocimiento de distintos marcadores bioquímicos, en el procesamiento alimentario.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1. Procedimiento general

Para realizar esta tesis documental se ha utilizado el procedimiento siguiente:

- ❖ Preparación de un bosquejo escrito, que contiene la estructura de la presentación de manera que tenga sentido y sea comprensible. Luego de identificar y ordenar los temas de interés, se han seguido los pasos enumerados a continuación.
- Identificar palabras claves o conceptos por investigar.
- Búsqueda electrónica o manual de la bibliografía especializada.
- Leer las referencias pertinentes y tomar notas.
- Organizar las referencias.
- Analizar e integrar los materiales.
- ❖ Una vez que se han determinado los temas principales y el orden de presentación, se han revisado las notas, no sólo para recordar el material leído, sino para sentar las bases de la decisión sobre el lugar que le corresponderá a una referencia específica.
- ❖ Escribir la revisión.

2.2. Contenido de la revisión bibliográfica

La tarea de revisar la bibliografía de investigación comprende identificación, selección, análisis y descripción escrita de la información existente, de manera que se revela el estado actual del conocimiento sobre el tema elegido.

A continuación se indican las palabras clave, base de datos, libros, revistas y sitios web utilizados para la búsqueda bibliográfica.

En la **Tabla 1**, se puede observar la lista de las palabras clave usadas para llevar a cabo la búsqueda bibliográfica con el fin de desarrollar los diferentes capítulos. En la **Tabla 2** se presentan las bases de datos, libros, revistas y artículos científicos consultados.

Tabla 1. Lista de palabras clave usadas

Pre-slaughter handling	Halothane gene	Freeze–thawing cycle
Meat quality	<i>Ante-mortem</i> treatment	Microwave
<i>Post-mortem</i> period	Animal welfare	Radio frequency
Genotypes	Water-holding capacity	Dielectric properties
Carcass quality	Chilling	Dielectric constant
Ultimate pH	Freezing	Dielectric loss factor
PSE meat	Ice crystal	Permittivity
High pH meat	Thawing of meat	Dielectric spectroscopy
Drip loss	Stunning methods	Dielectric time domain reflectometry

Los diferentes documentos consultados provienen de las bibliotecas de la UAB y del IRTA, y de las bases de datos de las editoriales científicas Elsevier (Scopus y Science Direct) y Wiley, y de la base de datos Web of Science.

Con respecto a las revistas cabe mencionar que, los que aparecen escritos en la **Tabla 2**, son los que se han utilizado en mayor por ciento. En general, entre libros, revistas, artículos y sitios web, se han seleccionado un total de 520 documentos para leer y de éstos se han utilizado 473 materiales, como referencias para realizar este trabajo.

Tabla 2. Lista de revistas, libros y artículos utilizados como referencias

	Tipo de documento	Cantidad utilizada
Capitulos de Libros	Libros de referencia	7
Articulos Tecnicos	EUROCARNE	4
	Fleischwirtschaft International	4
	Agro Food Industry Hi-Tech,	1
Artículos Científicos	Meat Science	79
	Journal of Food Science	22
	Journal of Agricultural and Food Chemistry	3
	Journal of the Science of Food and Agriculture	2
	Food Research International	4
	International Journal of Food Science and Technology	2
	American Meat Science Association	3
	Critical Reviews in Food Science and Nutrition	1
	Post harvest Biology and Technology	2
	Food Technology	6
	Food and Bioprocess Technology	9
	Canadian Journal of Animal Science	1
	Trends in Food Science & Technology	2
	Journal of Food Engineering	20
	European Food Research Technology	4
	Food control	4
	Measurement Science and Technology	2
	Journal of Agricultural and Food Chemistry	1
	Biosystems Engineering	2
	Cryobiology	2
	Journal of Food Protection	2
	Journal of Microwave Power	3
	Chemical Engineering and Processing	2
	Drying Technology	1
	Journal of Animal Science	13
	International Journal of Refrigeration	1
	Biotechnology Progress	2
	Foods Hydrocolloids	2
	Journal of Molecular Biology	2
	Chemical Engineering Science	2
	Journal of Pharmaceutical Sciences	1
	Livestock Production Science	4
	Journal of Muscle Foods	2
Animal Welfare	4	
The Veterinary Record	3	
International Congress of Meat Science	3	
British Veterinary Journal	1	
Journal of Animal Breeding and Genetics	2	

3. CALIDAD DE LA CARNE DE CERDO

3.1. Generalidades

La carne se considera la fuente de proteínas de mayor calidad tanto por sus características nutricionales como por su apreciado sabor. Además de la musculatura esquelética de los animales de sangre caliente, también se incluyen en el concepto de la carne, la grasa, la sangre y las vísceras (como la lengua, el hígado, los riñones y los sesos (Potter, 1978; Belitz *et al.*, 1985). La carne de las aves y los peces se denominan carnes blancas, con el fin de diferenciarlas de la carne proveniente de los grandes rumiantes (bovinos), pequeños rumiantes (ovinos y caprinos), así como de la carne de los monogástricos (equinos y porcinos) o carnes rojas (Potter, 1978).

Tal como afirman varios investigadores, muchas de las propiedades gastronómicas o nutricionales de la carne, tales como la textura, su comportamiento tras la cocción o la conservación o la pérdida de jugos, están estrechamente ligadas a la estructura proteica del músculo. Por lo tanto, conocer esta estructura y sus reacciones presenta un gran interés desde el punto de vista tecnológico (Pearson *et al.*, 1997; Pietrasik *et al.*, 2000).

La carne según el Código Alimentario Español (Decreto 2484/67), se define como la parte comestible de los animales sanos sacrificados en condiciones higiénicas. En general, la composición de la carne se establece durante la vida del animal, mientras que su calidad se ve fuertemente afectada por factores *ante-mortem* y *post-mortem*. Aunque, la importancia de los diferentes aspectos cualitativos de la calidad de la carne difiere en función del segmento de la cadena cárnica en que se analice (producción industrialización o comercialización) (Belitz y Grosh, 1992).

Según un documento de United States Department of Agriculture ([USDA], 2007) “La carne de cerdo es carne porcina de cerdos adultos, domesticados por el hombre desde tiempos inmemoriales y la domesticación de cerdos jóvenes para la alimentación, data desde cerca del año 7000 A.C. en el Medio Oriente. Sin embargo, existen evidencias de que el hombre de la edad de piedra comía carne de jabalí, el antepasado de los cerdos de hoy, y la receta de cocina para carne de cerdo, más antigua que se ha preservado hasta la actualidad proviene de la China y tiene por lo menos 2000 años de existencia”.

El cerdo se encuentra hoy entre los animales más eficientemente productores de carne; sus características particulares, como gran precocidad y prolificidad, corto ciclo

reproductivo y gran capacidad transformadora de nutrientes, lo hacen especialmente atractivo como fuente de alimentación.

3.2. Perspectivas futuras de la carne de cerdo en el mundo

La producción de carne de cerdo creció un 1,5 por ciento, es decir a un nivel récord de 114,2 millones de toneladas en 2013. Casi dos tercios de la producción de carne de cerdo se originan en los países en desarrollo, que es donde la mayor parte del aumento de la producción se pronostica. Asia es la principal región, lo que representa casi el 60 por ciento de la producción de carne de cerdo del mundo. Se anticipan las políticas de demanda de los consumidores y firme apoyo del gobierno para dar lugar a la producción de carne de cerdo de China alcanzando 53,8 millones de toneladas, o sea casi la mitad del total mundial. La recuperación de la fiebre aftosa, debe impulsar la producción en la República de Corea. En otras partes de Asia, listado por la magnitud de la producción, se pronostica que la producción sea moderadamente superior en Vietnam, Filipinas, Japón, Tailandia e Indonesia.

En las Américas, se espera que Brasil, que es el cuarto productor más grande del mundo, un aumento de la producción de carne de porcino, estimulada por los precios del porcino mejorados. En México, la producción sigue creciendo, respaldada por la mejora genética y la productividad, que se traduce en más lechones por camada y peso de los animales superiores. En la UE en 22,4 millones de toneladas, el segundo productor de carne de cerdo más importante después de China. Se recomienda el cumplimiento de las normas de bienestar animal, relativas al alojamiento de las cerdas para suprimir la producción por segundo año consecutivo, con un descenso previsto del 2 por ciento.

En los Estados Unidos, el país que ocupa el tercer rango en cantidad de producción, menores costos de alimentación y un mayor nivel de sacrificio, asociada a una expansión del rebaño de cría, podrían conducir a un crecimiento limitado. En Canadá, las luchas de los productores para seguir siendo rentables han dado lugar a la reducción de una cantidad importante de las operaciones en consecuencia, se prevé un ligero descenso de la producción. En la Federación de Rusia, donde se prevé un crecimiento sostenido del 4 por ciento, la industria está siendo asistida por los precios del pienso

reducidos y se beneficia de las políticas gubernamentales a favor de las grandes explotaciones ([FAO] Food & Agriculture Organization of the United Nations, 2013). Los africanos también están empezando a comer más carne, aunque tanto la oferta como la demanda todavía no están creciendo tan rápido como en otras partes del mundo. La producción ha aumentado en muchos países de África, pero significativamente sólo en los países con más población tales como: Sudáfrica, Egipto, Nigeria, Marruecos y Etiopía. (Friends of the Earth Europe, 2014).

Todo lo anterior nos hace reflexionar, que la importancia de la carne (especialmente, la carne de cerdo), en la alimentación humana, es y seguirá siendo muy relevante durante mucho tiempo, ya que según el informe de la FAO (2013), para el año 2050, los mercados emergentes van a cubrir sólo el 46 por ciento de su consumo de calorías con los granos y cereales, mientras que otro 29 por ciento proviene de la carne, los huevos, la leche y el queso. Si esto ocurre los agricultores del mundo y las empresas agrícolas tendrán que aumentar su producción de carne a partir de 300 millones de toneladas a 470 millones de toneladas para el año 2050 (FAO, 2013).

3.3. Factores que afectan la calidad de la carne de cerdo

El concepto calidad de la carne está formado por factores sensoriales, nutricionales, higiénicos y tecnológicos. Ante las mayores exigencias expresadas por el mercado, actualmente la producción de carne de cerdo deben abarcar todos los puntos que constituyen la cadena de la carne, es decir, desde la producción en la granja, hasta el consumo; pasando por el transporte, procesamiento y conservación. (Gómez *et al.*, 2001). La calidad de la carne siempre ha sido importante para el consumidor, y es un tema especialmente crítico para la industria de la carne en el siglo XXI. Como la demanda de carne de alta calidad está aumentando en la mayoría de los países, la industria de la carne debe producir y suministrar carne de buena calidad para el consumidor, con el fin de asegurar el consumo continuo de productos cárnicos.

El término calidad de la carne es muy ambiguo, porque su definición varía en función de los antecedentes de los consumidores en las diferentes regiones del mundo. En consecuencia, en primer lugar, calidad de la carne debe ser definido por la mayoría de las preferencias del consumidor. Las preferencias del consumidor están relacionadas

directamente con los sentidos como la apariencia, el olor, el sabor y la sensación en la boca. Además, la calidad de la carne fresca puede ser definido por factores científicos, tales como: la composición, los nutrientes, la capacidad de retención de agua (CRA), la ternura, funcionalidad, el deterioro, la contaminación, etc.

Existe un concepto con respecto a parámetros mínimos de calidad. La calidad bromatológica hace referencia al valor nutritivo de la carne. La calidad tecnológica se relaciona con las propiedades de la carne que determinan su aptitud para la transformación y se considera como la propiedad compleja de la carne, que está influenciada por múltiples factores interrelacionados, que incluyen la raza, genotipo, alimentación, manejo pre-sacrificio, tipo de aturdimiento, el método de sacrificio, condiciones de refrigeración y almacenamiento y tal como indicaron (Rosenvold et al, 2003), una comprensión básica de la inter-relación de estos factores, podría significar un gran avance, en el control de la calidad tecnológica de la carne de cerdo.

También existen otras acepciones como la calidad simbólica, relacionada con prohibiciones religiosas, imágenes ligadas a campañas publicitarias, etc., o la calidad de presentación, que hace referencia a las modificaciones de los cortes tradicionales, a nuevos productos con nuevas presentaciones, etc., que pueden variar la intención de compra (Sañudo, 1992).

La calidad tecnológica de la carne fresca indica su utilidad para el consumidor y su aceptabilidad para cocinar. Las características importantes de calidad de la carne fresca son el color, la capacidad de retención de agua (CRA), la textura y la cantidad de grasa (grasa intramuscular / grasa intermuscular / grasa subcutánea), mientras que los rasgos importantes para la calidad de carne cocida son la ternura, sabor y jugosidad. En general, los consumidores consideran el color como el rasgo de calidad más importante de la carne fresca, mientras que la ternura está clasificada como el rasgo de palatabilidad más relevante para la carne cocida, seguido de sabor y jugosidad (Glitch, 2000). Sin embargo, esto puede variar entre los consumidores, dependiendo de las experiencias pasadas y antecedentes culturales. Por lo tanto, el orden de importancia de la calidad de la carne puede variar según el país (Warner, *et al.*, 2010).

En los últimos años ha habido un considerable aumento de la preocupación del consumidor con respecto a cómo se produce la carne. La preocupación por el bienestar animal se ha incrementado enormemente en todo el mundo, y se ha producido un

enorme desarrollo de la cría "orgánica" de los animales. Los consumidores exigen que los animales sean criados, transportados y sacrificados en condiciones humanitarias. Además, los consumidores quieren estar seguros de que la carne que compran proviene de los sistemas de producción éticamente sólidos. En consecuencia, los agricultores, los veterinarios, los envasadores y los científicos necesitan más conocimientos sobre la forma de evaluar y auditar el bienestar de los animales tanto en las granjas de explotación, como en los mataderos (Grandin, 2010).

La calidad es un término muy complejo que tiene diversas acepciones dependiendo de cuál sea la etapa del proceso (producción, comercialización, etc.) que se considere. La calidad higiénica es lo primero que debe tener la carne, libre de agentes bacterianos y de residuos que constituyan un riesgo para el consumo de esa carne (Grace, 1989). La calidad de la carne se determina por el conjunto de propiedades higiénicas, nutricionales, sensoriales, tecnológicas y está ampliamente influenciado por los factores tales como:

- Factores genéticos
- Factores *ante-mortem*
- Factores *post-mortem*

Dentro de los factores *ante-mortem* debido al objetivo de este trabajo se hace énfasis en los siguientes aspectos:

- El transporte
- El manejo pre-sacrificio
- El ayuno
- El tipo de aturdimiento

Mientras que, con respecto a los factores *post-mortem*, en esta revisión se abordan, la conversión del músculo a carne y la evolución del pH.

3.3.1. Los factores genéticos

Uno de los factores con mayor influencia en la calidad de la carne de cerdo es la genética. Los programas de selección genética de las razas cárnicas mejoradas en las últimas décadas han estado orientados hacia rápidos crecimientos de las canales, buena conformación de las canales, alta proporción muscular y bajo contenido en grasa. Se

han conseguido buenos resultados en los parámetros mencionados pero muchas veces se ha empeorado colateralmente la calidad tecnológica de la carne. Este empeoramiento se ha relacionado a una mayor presencia de fibras blancas en el músculo que trae asociado un color más pálido, un valor de pH bajo, una menor capacidad de retención de agua y, desde un punto de vista fisiológico una peor capacidad de las células musculares a adaptarse a situaciones de estrés (De Vries *et al.*, 1999).

En un estudio de análisis del mapa genético de porcino y la repercusión de determinados genes sobre la calidad de la carne, los que se han abordado como genes directamente implicados en la calidad son: el gen halotano (responsable del síndrome de estrés porcino (Porcine Stress Syndrome) (Channon *et al.*, 2000) y el gen Rendimiento Napole (Gen RN⁺), responsable de la carne acida (Alarcón, 2005). Ambos provocan la aparición de carnes, de baja calidad tecnológica. El primero es responsable en gran parte de la carne pálida, blanda (deformable) y exudativa (PSE), mientras que el segundo es responsable de carne con bajo pH y por lo tanto con baja capacidad de retención de agua (Moelich *et al.*, 2003).

3.3.1.1. El gen Halotano

En los últimos treinta y cinco años, los productores de la carne de cerdo, se han esforzado en seleccionar cerdos con carne magra. Sin embargo, a partir de los finales de la década de los ochenta, se observó que los resultados de selección, iban unidos a una alta mortalidad por estrés. Al analizar la causa del problema, se detectó que la selección de reproductores con mejores características magras y mayor desarrollo muscular implicaba animales enfermos o portadores de enfermedad llamada, Síndrome de Estrés Porcino (Porcine Stress Syndrome (PSS)) y transmitían este carácter a su descendencia (Calvo *et al.*, 1997).

El Síndrome Estrés Porcino o conocido también como Malignant Hypertermia (MH) es una enfermedad hereditaria monogénica recesiva, que se caracteriza por un desorden neuromuscular, con un locus autosomal único, denominado inicialmente gen halotano (HAL) y actualmente llamado gen receptor de la ryanodina "Ryr1". El PSS se caracteriza por producir muerte súbita en los cerdos homocigotos recesivos, así como la aparición de canales con carne pálida, blanda y exudativa (PSE), en cerdos homocigotos dominantes y heterocigotos. La mayoría de los estudios entre cerdos estrés positivo y cerdos estrés negativo muestran diferencias en pH, color, ternura y capacidad de

retención de agua en la carne. Esta variación estaba directamente relacionada con la incidencia de carne pálida, blanda y exudativa en los dos genotipos. Esto representa graves pérdidas económicas para la industria porcina, ya que estas carnes no son aceptadas por los consumidores (Dekkers, 1999).

Lo anterior coincide con las afirmaciones de diferentes autores, que explican como dos mutaciones en el genoma del cerdo afectan la calidad de la carne: el gen Halotano (Hal) y el gen Rendimiento Napole (RN) (Naveau 1986; Oliver *et al.* 1993). Según Warris, (2000), el gen halotano (Halⁿ) se llama así porque su presencia en un cerdo como el genotipo recesivo doble, confiere susceptibilidad al gas anestésico común de halotano. Cerdos susceptibles, denominados halotano positivos, exhiben una respuesta característica, cuando se respiran el gas a través de una máscara facial. Sus extremidades se vuelven extendidas y rígidas y desarrollan una temperatura corporal elevada o hipertermia. La hipertermia empeora progresivamente y se le conoce como 'maligno'. Si la exposición al gas no se rectifica rápidamente los cerdos mueren. La prueba de halotano sólo identifica los animales con el genotipo doble recesivo (nn), no el heterocigoto (Nn). Estos animales portadores, al igual que el homocigoto normal (NN), no se ven afectados negativamente por halotano, y se les conoce como halotano negativos.

La incapacidad de la prueba de halotano para identificar el heterocigoto era una desventaja considerable en los intentos de controlar la presencia del gen en razas de cerdos de cría selectiva. Esta situación se vio agravada por la dificultad en la interpretación de los resultados de las pruebas. La duración de la exposición al halotano en la prueba se limita a 3-5 minutos, para reducir las muertes en los animales positivos, pero esto podría no ser suficiente para detectar algunos cerdos positivos. Además, el estado fisiológico del animal parece afectar a la prueba. Esto es importante, ya que un poco de estrés se asocia inevitablemente con la realización de la prueba en sí. Sin embargo, mediante la prueba basada en el ADN ha sido desarrollada, una técnica que permite la diferenciación exacta de los tres genotipos (NN, Nn, nn).

El gen halotano al principio fue descubierto de estar estrechamente asociado con la ocurrencia de susceptibilidad al estrés en algunas razas de cerdos. Razas susceptibles mostraron dificultades para hacer frente a episodios estresantes, una mortalidad relativamente alta durante el transporte y las canales producidas mostraban una alta

prevalencia de la carne PSE. Sin embargo, la sensibilidad al halotano también se asoció con los atributos positivos de la musculatura y de buena conformación de la canal, sin duda, la razón de su selección involuntaria en algunas razas, especialmente el Pietrain y Landrace Belga en Europa, Polonia, China y en América del Norte. Debido a la naturaleza recesiva de su herencia, se pensó en algún momento, que el beneficio del gen halotano (mejor calidad de la canal), podría ser explotada al tiempo que, elimina los problemas de la baja calidad de la carne (un alto nivel de carne PSE), mediante la realización de sacrificios de animales cuidadosamente seleccionados, con generación de heterocigotos. Con el advenimiento de las nuevas tecnologías para identificar y eliminar a este causante principal de la condición PSE, se ha logrado una gran reducción de la incidencia y gravedad de carne PSE, por la industria (Warriss, 2000).

Los avances en el campo de la genética molecular han puesto claramente en evidencia el descubrimiento de la equivalencia entre el PSS y la mutación del gen *Ryr1* en el nucleótido 1843. Por medio de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR), hoy se diagnostican a los cerdos de tres maneras:

- Individuos normales: sanos no portadores, homocigotos dominantes (NN).
- Individuos portadores: sanos, portadores del alelo mutado T a la descendencia, transmisores del alelo mutado, heterocigotos (Nn).
- Individuos enfermos: trasmisores del alelo mutado, homocigotos recesivos (nn)

La estrategia de selección de las empresas genéticas parece ser la eliminación del gen *Ryr1* con la mutación 1843 en las líneas materna y paterna (De Vries, *et al.*, 2000; Fujii, *et al.*, 1991; Calvo, 1997; Brascamp *et al.*, 1995; Oliver, 2013).

Por último cabe mencionar las características de la canal y de la carne que son afectadas por la presencia del gen halotano en el cerdo (Oliver, 2013):

- Composición de la canal (% de magro y el nivel de engorde)
- Conformación de la canal
- Calidad de la carne : color, exudado y veteado
- Calidad sensorial: sabor, aroma, etc.

3.3.1.2. El gen Rendimiento Napole (RN⁻)

Otro gen que se ha demostrado que afecta a la calidad de la carne, es el gen Rendimiento Napole (RN⁻), también conocido como el gen Napole o el gen de la carne ácida o de efecto Hampshire, ya que sus influencias se han observado en gran medida en los cerdos puros y cruzados de la raza Hampshire, o líneas comerciales con ascendencia Hampshire. Monin y Sellier (1985), trabajando con las poblaciones de Hampshire en Francia, fueron los primeros en demostrar que el bajo pH final, es decir la presencia de la carne ácida fue el resultado de un elevado potencial glucolítico en el músculo, o sea se caracterizan por presentar un alto contenido de glucógeno en el músculo. El potencial glucolítico (GP), es un índice de potencial del músculo para el proceso de la glucólisis y este índice se encuentra elevado en los cerdos de la raza Hampshire en comparación con otras razas (Monin y Sellier, 1985), al contrario de lo que ocurre debido al efecto del gene halotano, el gene Rendimiento Napole no provoca una caída rápida del pH, sin embargo, aunque la velocidad del descenso es normal, el intervalo de tiempo en el que transcurre dicho descenso es muy prolongado, dando como resultado una carne de pH final anormalmente baja o carne ácida.

Los animales portadores del alelo RN⁻ comparados con los animales normales tienen un nivel de glucógeno muscular superior al 70% (Estrade *et al.*, 1993), 7% menos de proteína y un pH final de la carne más bajo que en los animales no portadores de dicho alelo (Monin, *et al.*, 1985). Los dos genes son causa de grandes pérdidas económicas en la industria porcina debido al bajo rendimiento en la carne procesada (Fernández y Monin, 1994; Maddock, *et al.*, 2002).

3.4. Conversión del músculo a carne

La conversión de músculo en carne es un proceso complejo en el cual todos los mecanismos responsables del desarrollo de la calidad de carne resultan ser interdependientes. Luego del sacrificio del animal, la carne sufre varios procesos físico-químicos, que afectan distintas características de la misma, que son descritos a continuación.

Desde el punto de vista bioquímico, la carne es el resultado de una serie de transformaciones y reacciones químicas y metabólicas, que tienen lugar en el músculo

tras la muerte del animal y que definirán en gran parte la calidad de la carne. El proceso de conversión de músculo a carne se lleva a cabo en tres fases. La fase de demora del rigor o *pre-rigor*, comprende el tiempo tras el sacrificio del animal en que las proteínas del músculo todavía no han sufrido cambios y el músculo aún es extensible y elástico; en cerdo varía de 15 minutos a 3 horas.

Las primeras etapas en la conversión del músculo a carne, son los cambios que se producen en la exsanguinación. Durante el sacrificio la estimulación hormonal se lleva a cabo (Honikel, 1993) en combinación con el suministro de oxígeno reducido (anoxia) que provoca la perturbación osmótica de las células musculares (Lamberte *et al.* 2001). En consecuencia, la situación en las células musculares durante el sacrificio, es comparable con la anoxia / isquemia, que a partir de otros sistemas celulares, se sabe que está asociada con el aumento de la fuerza iónica. La fuerza iónica también se refleja directamente en la osmolaridad de las células, lo que aumenta de manera significativa durante el desarrollo del *rigor-mortis* (Winger y Pope, 1981).

El aumento de la fuerza iónica significará aumentar el volumen de las células musculares como resultado de (1) un aumento en la cantidad de agua intracelular (debido al flujo osmótico de agua para mantener la osmolalidad) y (2) aumento de la repulsión electrostática entre las proteínas de los miofilamentos. Estos procesos concurrentes se producirán, hasta que ocurre la regulación del volumen celular, al tamaño original en vivo (Bertram *et al.*, 2004).

En las primeras horas *post-mortem*, aumenta el espacio de miofilamentos debido a una disminución en la longitud del sarcómero, como resultado del *rigor-mortis* es inducida una contracción longitudinal (comúnmente conocido como el músculo o el acortamiento del sarcómero). La contracción longitudinal es causada, por la liberación de iones de calcio desde el retículo-sarcoplásmico, mientras que la ATP está aún disponible. Esto permite que las fibras se contraigan longitudinalmente, que en combinación con la caída de temperatura de los músculos provoque que, el retículo-sarcoplásmico secuestre o capte menos iones de calcio, a partir de la separación de los miofilamentos, acelerando así la contracción de las fibras. De manera similar al músculo contraído en el animal vivo, la contracción implica una disminución de la longitud de la región de la banda I, mientras que la banda A en el sarcómero permanece constante (Roma, 1967).

La medida de la contracción longitudinal, depende de los niveles de glucógeno, en el momento de sacrificio y la temperatura muscular *post-mortem*. El proceso de contracción longitudinal, tiene consecuencias importantes, para la movilidad del agua en la carne (Bertram *et al.*, 2004; Tornberg, Wahlgren, Brondum, y Engelsen, 2000).

La disminución en la longitud del sarcómero, cambia las características de las poblaciones de agua de relajación, tanto rápidas, como lentas a (1) un aumento en el diámetro de la fibra, (2) un aumento en el diámetro de las miofibrillas, y (3) un aumento en la separación lateral entre los filamentos gruesos y delgados dentro del sarcómero.

Durante la conversión del músculo a carne, el sarcómero no sólo sigue disminuyendo longitudinalmente, sino también lateralmente, como dos procesos simultáneos que se llevan a cabo dentro del sistema miofibrilar que son: (1) el desarrollo del *rigor-mortis*, es decir, la asociación irreversible de filamentos gruesos y finos después de la depleción de ATP formando el complejo actomiosina y (2) la disminución en el pH que causa alteraciones de la estructura en las proteínas miofibrilares (principalmente la miosina y la actina) (Honikel *et al.*, 1986).

La disminución del pH se produce, debido a la conversión anaeróbica de glucógeno que resulta en una acumulación de iones de hidrógeno a través de la formación de ácido láctico (Lawrie, 1998; Mc Geehin *et al.*, 2001). Dependiendo del tipo de músculo y la concentración de glucógeno, el pH disminuye desde 7,0 en el músculo vivo a pH 5,4 a 6,3 (media de alrededor de 5,5 hasta 5,6) en la carne (Honikel, 2004).

Este aumento en iones de hidrógeno reduce la repulsión electrostática entre las proteínas miofibrilares y por lo tanto disminuye la repulsión entre los filamentos, lo que contribuye a la contracción lateral de las fibras musculares. Si el pH *post-mortem* disminuye rápidamente, mientras que la temperatura muscular sigue siendo alta, las cabezas de miosina se desnaturalizan y se contraen (Offer, 1991).

La desnaturalización de las cabezas de miosina también se piensa que hace una contribución significativa a la contracción miofibrilar lateral. Este proceso es importante, ya que la miosina desnaturalizada pierde la capacidad de unirse al agua, lo que resulta en la disminución de la capacidad de retención de agua (CRA), por ejemplo, la carne pálida, blanda y exudativa (PSE). Anteriormente, esta condición fue

especialmente frecuente en las canales de cerdo debido a la alta prevalencia del gen halotano (Briskey, 1964), lo que provocó un aumento de la incidencia de PSE de cerdo.

Aunque, dependiendo de la velocidad con que se lleve a cabo el metabolismo *post-mortem*, la carne de cerdo puede experimentar una gran variedad de cambios que definirán su calidad y esto tiene un gran impacto económico durante su venta como carne fresca o procesada. La temperatura, a la cual se almacenan las canales de los animales recién sacrificados, influye de manera definitiva en la velocidad con que ocurren dichas reacciones químicas.

Sin embargo, el cambio de pH durante la transformación *post-mortem* del músculo a carne es posiblemente la causa más importante de la variación existente en la calidad, afectando sustancialmente al color y a la capacidad de retención de agua (CRA), atributos importantes desde el punto de vista tecnológico. Por lo tanto en función de cómo sucede el proceso de maduración *post-mortem*, la carne se ha clasificado en cuatro grandes categorías de calidad, que son , la carne pálida, blanda y exudativa (PSE), la carne roja blanda y exudativa (RSE), según el mismo autor esta carne es de color roja al igual que la carne normal del cerdo, pero es exudativa tal como la carne (PSE), la carne oscura, firme y seca (DFD) y la carne roja, firme y no exudativa (RFN) (Kauffman, *et al.*, 1992) y por su importancia transcendental en la valoración de la calidad de la carne, los atributos más relevantes de las carnes PSE y DFD son tratados en el apartado de factores *post-mortem* de la calidad de la carne de cerdo.

Finalmente se puede resumir el fenómeno más importante de la conversión del músculo en carne utilizando, los siguientes sucesos significativos, cuando se termina el suministro de oxígeno, cesa la fosforilación oxidativa y con ello el aporte de ATP aeróbico. La ruta metabólica se dirige hacia la glucólisis anaeróbica, acumulando piruvato, seguido de la producción de ácido láctico a partir de glucógeno, lo cual conduce a un descenso progresivo del pH hasta valores cercanos a 5,5. Desde el punto de vista mecánico se produce el acortamiento y endurecimiento de la fibra muscular debido a la unión irreversible entre la actina y la miosina provocada por falta de energía suministrada por el ATP (Adenosín trifosfato).

En este instante del proceso aparece el *rigor-mortis*, el cual provoca una disminución en la capacidad de retención de agua causada por el descenso del pH, produciendo la

desnaturalización de las proteínas sarcoplasmáticas, la aproximación de las proteínas a su punto isoeléctrico y la formación de actomiosina (Lawrie, 1998).

La fase de *rigor-mortis* que consta de dos etapas, el acortamiento de los sarcómeros (formación de enlaces entrecruzados entre filamentos finos y gruesos) y la rigidez (tensión continua de las fibras musculares). Así, en esta fase se forma el complejo proteico actina/miosina por agotamiento del ATP (adenosín trifosfato), se produce ácido láctico y el músculo se vuelve duro (Andújar *et al.*, 2003). Finalmente, en la fase de resolución o maduración, la extensibilidad de los músculos se recupera y la carne sufre un proceso de ablandamiento paulatino (Ouali y Sentandreu, 2002). Durante esta última etapa, la textura y el sabor mejoran sustancialmente después de un período de almacenamiento en temperatura de refrigeración (Vázquez y Vanaclocha, 2004).

Según, Honikel (2004), durante la conversión de músculo a carne, los procesos bioquímicos fundamentales se dirigen a la ejecución de *rigor-mortis*. Un proceso bioquímico clave es la hidrólisis del ATP en la célula del músculo, que es necesario para mantener el sarcómero relajado, es decir no contraído. Con la progresión de la glucólisis *post-mortem*, los niveles de glucógeno caen (Immonen y Poulanne, 2000) y el ATP disminuye a una concentración excesivamente baja. Como la glucólisis *post-mortem* alcanza la cesación final y se agotan los niveles de ATP, los músculos comienzan a acortarse hasta cierto punto, siendo el grado de su acortamiento, dependiente de la temperatura de *pre-rigor* (Locker y Hagyard, 1963). Una vez que el músculo está excesivamente bajo en ATP, las cabezas de miosina empiezan a ser permanentemente unidas a los filamentos de actina, que resultan en la formación del complejo actomiosina (Rawn, 1989) y esto causa que el músculo sea inextensible. Esta contracción da como resultado, un espacio reducido para contener agua entre los miofilamentos (Lawrie, 1998).

Durante el proceso de maduración sucede la proteólisis miofibrilar como resultado de la actividad de las enzimas proteolíticas endógenas, tales como la calpaina y la catepsina. Se considera que mientras pasa el tiempo de almacenamiento *post-mortem*, ocurren cambios estructurales debidos a la actividad enzimática y su efecto en la carga eléctrica neta.

Desde hace mucho tiempo se sabe que, las enzimas de los lisosomas intervienen en la degradación de proteínas, polisacáridos y lípidos, además de otros compuestos, ya que

los lisosomas están relacionados con la digestión intracelular. Las enzimas se localizan en el interior de los lisosomas y se liberan cuando desciende el pH después del sacrificio, durante la etapa *post-mortem*, debido a que las membranas lipoproteicas de los lisosomas se rompen al existir diferencias en presión ejercida por los iones hidrogeno en el ambiente celular. Cuando los lisosomas se rompen, se destruye la célula, debido a que las enzimas contenidas son capaces de degradar los componentes principales de ésta. Como consecuencia, el tejido muscular sufre una lesión grave donde las enzimas proteolíticas empiezan su acción. Estudios histoquímicos han reportado la localización de las catepsinas explicando su participación, en el ablandamiento de la carne. Se ha encontrado que al cuarto día del proceso de maduración las catepsinas están más difundidas en la fibra muscular, lo que permite deducir que una vez degradada la membrana de los lisosomas durante el descenso de pH *post-mortem*, la acción de las enzimas se incrementa con el tiempo de almacenamiento (Tang, 1998).

Cuando el valor del pH se encuentra cercano al punto isoelectrico de las proteínas constitutivas del músculo, en especial de la miosina, las cargas eléctricas negativas y positivas dentro de la proteína son atraídas entre sí, causando la reducción de la cantidad de agua que puede ser retenida por la proteína, además, hace que la estructura proteica sea compactada y pierda el espacio dentro de la proteína causando una desnaturalización parcial (Huff-Lonergan y Lonergan, 2005).

3.5. El pH de la carne

Durante las primeras horas del periodo *post-mortem*, el pH muscular cae de valores entre los 7,0 -7,2 en los animales vivos a 5,4 – 6,2 en la carne. Este valor se denomina pH final o pH último (pHu) y su descenso se debe a la formación de ácido láctico en el músculo, producto de la obtención de energía por la vía anaeróbica de la glicólisis. Tanto la velocidad del descenso como el valor final del (pHu) determinan características tan importantes como son el color, la textura, la capacidad de retención de agua, y la calidad tecnológica de la carne en general. Cuando el pH baja muy rápido, alcanzando un valor menos de 6,0 en las primeras horas *post-mortem* o si el pH último (pHu) es menos de 5,6, la carne adquiere un color pálido, pierde textura, y exuda agua (carnes PSE). Su origen es multifactorial, pues viene determinado por factores que causen estrés

a los animales como los ambientales del manejo, por la infraestructura de granjas y del matadero y por la genética (Bendall & Swatland, 1998; Ledward, 1992).

Tal como se indica al inicio de este apartado, en la evolución y valoración de una carne respecto a su pH es tan importante el pH último, que se obtiene como la velocidad con la que se alcanza, rápidas caídas del pH producen carnes con menos capacidad de retención de agua y más pálidas y blandas: un pH inferior a 6 en los primeros 45 minutos *post-mortem* conduce a carnes pálidas y exudativas. El pH último está correlacionado negativamente con la actividad ATPasa miofibrilar y tiene importante relación con el potencial glicolítico, siendo la evolución del pH muy útil para conocer el estado en que se encuentra el músculo en la fase entre el sacrificio y la instauración del *rigor-mortis*.

Un pH último elevado trae consigo la aparición de carne oscura, firme y seca (DFD) con una mayor capacidad de retención de agua, consistencia firme, aspecto seco de la superficie y más susceptible a la putrefacción, por la menor formación del ácido láctico, que posee un efecto conservador frente a agentes patógenos, fenómeno estudiado en vacuno ("carnes de corte oscuro") y porcino (Fischer y Hamm, 1980). El agua es retenida, debido al alejamiento del punto isoeléctrico de las proteínas y por la presencia de abundantes cargas libres, que fijan a la molécula dipolar de agua. El elevado pH está causado por la utilización de las reservas de glucógeno muscular antes del sacrificio, con lo cual la formación de ácido láctico *post-mortem* es escasa. Un pH bajo, próximo al punto isoeléctrico de las proteínas (debido al equilibrio de las cargas positivas y negativas, ocurre una disminución de cargas que fijan al dipolo agua), nos dará carnes, pálida, blanda y exudativa (PSE), con menor poder de retención de agua. En estos músculos tiene lugar un metabolismo glicolítico rápido, que provoca un descenso acelerado del pH y de desaparición del ATP. Las fibras musculares separadas producen una estructura desordenada con un gran espacio extracelular y la luz se refleja en mayor proporción desde la superficie (Mac Dougall, 1970). Así el color, la jugosidad, la textura e incluso el aroma están directa o indirectamente relacionados con el pH muscular obtenido tras la maduración de la canal (Lawrie, 1985).

En sus estudios previos, sobre los cambios *post-mortem* del músculo Warris, (2003) afirma que, después del sacrificio del animal, ocurren dos cambios bioquímicos en el músculo que se pueden separar en dos fases que son: el establecimiento del *rigor-mortis*

y la maduración muscular. El principal proceso que se lleva a cabo durante el establecimiento del *rigor-mortis* es la acidificación muscular.

En un músculo en reposo, el adenosin trifosfato (ATP) sirve para mantener el músculo en estado relajado, tras la muerte del animal, cesa el aporte sanguíneo de oxígeno y nutrientes al músculo, de manera que el mismo debe utilizar un metabolismo anaeróbico para transformar sus reservas de energía (glucógeno) en ATP con el fin de mantener su temperatura e integridad estructural. El ATP formado se obtiene a través de la degradación de glucógeno en ácido láctico. Este último ya no puede ser retirado por el sistema sanguíneo, por lo tanto va a provocar el descenso del pH muscular.

Tanto el valor final del pH último (pHu), que es medido aproximadamente a las 24 horas después del sacrificio, como la velocidad de caída del mismo durante el periodo *post-mortem*, afectan las características organolépticas y tecnológicas de la carne. El descenso del pH depende del tipo de fibras que predominan en el músculo y de la actividad muscular antes del sacrificio. Así, los músculos con predominio de fibras de contracción rápida (blancas) alcanzan valores finales de pH 5,5 mientras que, en los músculos en donde predominan las fibras de contracción lenta (rojas) el pH no baja de 6,3 (Garrido, 2005). Los músculos del animal que más trabajo realizan en el período previo al sacrificio son los que presentan un pH *post-mortem* más elevado. El proceso de acidificación dura normalmente de 4 a 5 horas en porcinos, 12-14 horas en ovinos y 15-36 horas en vacunos (Dransfield, 1994).

3.5.1. Factores que afectan el pH de la carne

Varios procesos afectan el pH de la carne, siendo más importantes los factores: *ante-mortem* y *post-mortem* y los cuales son abordados en detalle, en los apartados siguientes.

3.5.1.1. Factores *ante-mortem*

Todos los animales de carne, experimentan un cierto nivel de estrés previo al sacrificio y esto, a su vez, puede tener efectos perjudiciales para la calidad de la carne. El pH final muestra una relación directa con el estrés de los animales. El estrés *ante-mortem*, implica modificaciones importantes en la bioquímica *post-mortem* del músculo y la

calidad de la carne. El mayor efecto se ejerce a través de su influencia en la movilización de las reservas de glucógeno muscular, si éste se reduce o se agota durante el sacrificio, el grado de la acidificación *post-mortem* de la carne se reducirá de forma significativa (Beltrán *et al.*, 1997). Los corrales de espera de los animales antes del sacrificio, influyen en la glucólisis *post-mortem* de la carne y pueden afectar la terneza de la misma, llegando a producir la carne DFD, esto se debe a las peleas entre los animales, por tal motivo, es recomendable construir dichos corrales de espera de forma individual, con el fin de evitar los contactos entre los animales (Pipek, 1995).

La magnitud de cualquier efecto negativo, se piensa generalmente puede ser una función del tipo, la duración y la intensidad de los factores de estrés, que se encuentra estrechamente relacionado a la susceptibilidad del animal a dichos factores (Ferguson *et al.*, 2001). Sin embargo, se sabe menos acerca de los efectos específicos de los factores de estrés y las interacciones entre ellos, sobre los cambios biofísicos en los músculos y los consiguientes efectos sobre las características de calidad de la carne. Además, no está del todo claro si la variabilidad intra-animal en la capacidad de respuesta al estrés puede ser causa de la variación en los rasgos sensoriales como la terneza. Como un ejemplo a esto, cabe mencionar el estudio de Jacob *et al.* (2005) en el que afirmaron la variación media de glucógeno muscular en el músculo *semitendinoso* y *semimembranoso* de ovejas analizadas en la granja y durante el sacrificio, variaba de negativo a positivo, entre los diferentes lotes de envíos. Lo cual se atribuyó a las diferencias individuales en la respuesta al estrés.

En general se pueden mencionar las afirmaciones de Harris, (1981), sobre el impacto de los factores *ante-mortem* en la calidad de la carne de cerdo, que ha subrayado que, la glucólisis anaeróbica, es la base fisiológica común del problema de estrés en los animales de abasto, incluyendo sus consecuencias tanto en el animal vivo como en la calidad final de la carne y según este mismo autor para que el músculo de cerdo alcance un pH último de 5,5 oscila entre 4-8 horas, mientras que en otras especies dicho proceso dura de 12- 24 horas en ovinos y de 24 -48 horas en bovinos. En ciertas circunstancias algunas canales de cerdo pueden completar el proceso de *rigor-mortis* en un tiempo tan corto (5-10 minutos), que trae como consecuencia la aparición de la carne de peor calidad con síntomas típicos de la carne PSE (pálida, blanda y exudativa). Toda esta reacción es causada por la combinación de los efectos de la temperatura (temperaturas mayores de 30°C) y el pH (descenso rápido) basado en las propiedades bioquímicas del

músculo (Warriss, 1981). Debido al mencionado efecto combinado ocurre la desnaturalización de las proteínas estructurales del músculo, causando la acidificación y pérdida de la capacidad de retención de agua del mismo.

❖ El transporte

En la última década el transporte de los animales ha cobrado importante atención por parte del público, organizaciones para el derecho de los animales, gobiernos y partes interesadas, debido a los efectos reales relacionados con respecto al bienestar animal, así como por su vinculación directa a la seguridad alimentaria y calidad de carne (Keeling, 2005, Marahrens *et al.*, 2011). Esto nos hace reflexionar que el cumplimiento de las normas de buenas prácticas, recomendadas en el transporte de los animales a los mataderos, ya no es solo interés de las autoridades de inspección *ante-mortem* y *post-mortem* de la carne, sino también de los consumidores.

Estas preocupaciones se acentúan por el hecho de que la Organización Mundial de Sanidad Animal (OIE) ha reconocido la importancia de mantener una buena protección de los animales durante el transporte, ya que el transporte es una de las variables más importantes pre-sacrificio con respecto a la calidad de la carne y debe ser considerado como un punto de control crítico (Broom, 2006; OIE, 2005; Speer *et al.*, 2001).

El transporte resulta un fenómeno desconocido y estresante para los animales, ya que involucra una serie de situaciones de manejo tales como: carga, confinamiento, descarga e encierro en un nuevo ambiente desconocido que puede llevar al malestar del animal si no se planean con cuidado y debidamente (Grandin, 1993). Durante el transporte los animales son expuestos a factores ambientales estresantes como son: temperaturas extremas, ruidos y movimientos. Un estrés adicional puede ser causado por el agrupamiento social llevado a cabo después de la descarga en las plantas de faena. Cibils *et al.*, (1994) y Vande Water *et al.*, (2003) señalaron que el transporte por cualquier medio que sea, afecta las condiciones físicas del animal, así como la calidad de la carne y su vida útil, modificando las condiciones de acidez muscular y la velocidad y duración del *rigor-mortis*.

Geverink *et al.* (1998) reportaron que el transporte fue el factor más estresante antes del sacrificio en los cerdos. El estrés es capaz de provocar, fatiga, heridas, la aparición de una peor calidad de carne y la muerte de los animales (Bench *et al.*, 2008). En una

revisión de 23 trabajos experimentales de campo en los EEUU, llevado a cabo entre los años 2000 y 2007, se ha reportado que de todos los cerdos comercializados durante el periodo mencionado el 0,25 % murieron en el transporte y el 0,44 % llegaron enfermos y debilitados a los mataderos (Ritter *et al.*, 2009). En Canadá se ha reportado la muerte hasta 17,000 (0,08%) cerdos por año al momento de su llegada al matadero, que representa una pérdida económica muy significativa, tanto para los productores como para los transportistas.

Con respecto al ganado vacuno, Jones y Tong (1998) reportaron que la frecuencia de aparición de cortes oscuros es directamente proporcional a la duración del transporte, es decir la aparición de cortes oscuros aumenta, a medida que la distancia de transporte es mayor. Gallo (1994) indicó que tanto el transporte, como los procedimientos de manejo de los animales pueden ser causantes de estrés que a menudo están relacionados con la disminución en calidad de la carne, medidos en términos de pH. Garriz (1995) explicó que es fundamental la formación de lotes homogéneos en el transporte, evitando la mezcla de animales de mayor edad con los de menor de edad, machos con hembras, sanos con enfermos, o animales de distinta procedencia.

De acuerdo a un estudio sobre el transporte de los animales en Canadá se observó, que la mayoría de los cerdos son transportados en menos de 3 horas a los mataderos y solo un 4% pasan más de 24 horas en el traslado (Aalhus *et al.*, 1992) sin embargo debido al aumento de la centralización de los centros porcinos ocurrido en los últimos 15 años, se especula que un gran porcentaje de los cerdos son transportados a larga distancia (Bench *et al.*, 2008).

Según otro estudio basado en un meta-análisis de 27 estudios que evalúan los efectos pre-sacrificio, que incluye el tiempo de transporte y su relación con la calidad de la carne de cerdo, se reveló que la duración del transporte solo tuvo un efecto sobre la pérdida por goteo (*drip-loss*) y que este efecto solo se relacionaba con su interacción al tiempo que dura el ayuno (Salmi *et al.*, 2012).

❖ Manejo pre-sacrificio

En los momentos previos al sacrificio, los animales de abasto experimentan situaciones estresantes debido a su manejo (ayuno, carga y descarga del camión, transporte, etc). Estas prácticas pueden afectar negativamente al bienestar de los animales, y en el caso

concreto del sector porcino, una incorrecta manipulación de los cerdos en el período previo al sacrificio puede originar canales y carnes defectuosas (De Souza *et al.*, 1998; Grandin, 1980; Van der Wal *et al.*, 1999; Warriss *et al.*, 1990), que pueden suponer importantes pérdidas económicas para la industria (Gispert *et al.*, 1996).

Para minimizarlas, el sector ha aumentado sus esfuerzos para mejorar las condiciones de trato de los animales justo antes del sacrificio así como las prácticas realizadas por los operarios del matadero durante el propio sacrificio. Así, la motivación de los ganaderos para mejorar el bienestar de los cerdos no sólo tiene lugar por cuestiones legales y/o éticas, sino que cada vez existen más evidencias que relacionan la mejora del bienestar animal con repercusiones muy positivas en las características de la canal y en la calidad tecnológica de la carne (Terlow, 2005). De hecho, defectos de calidad de la carne repercuten negativamente en los ingresos económicos de todos los eslabones de la cadena cárnica porcina.

Las últimas 24 horas previas al sacrificio son de gran importancia en el porcino, ya que los animales se someten a muchas situaciones novedosas que son fuentes de estrés, como el ayuno, el proceso de la carga y descarga, el movimiento del camión, nuevos ruidos y olores asociados al transporte, la mezcla de animales en los corrales de espera del matadero y el manejo durante el sacrificio (Gispert *et al.*, 1996). El manejo previo al sacrificio incluye factores como la conducción hasta el lugar del aturdimiento, la sujeción del animal y el propio aturdimiento, los cuales pueden influir en el bienestar de los animales y en la calidad de la canal y de la carne (EFSA, 2004).

Entendiendo las causas y el alcance de estos defectos, se podrían optimizar las prácticas en el sistema de producción para minimizar los efectos negativos o eliminarlos. Así, unas condiciones adecuadas de ayuno y durante el transporte de los animales desde las explotaciones hasta los mataderos, y unas buenas prácticas de manejo en los corrales de espera y durante el aturdimiento, pueden contribuir a minimizar estos efectos negativos.

Un parámetro a controlar durante la llegada de los animales al matadero, es el porcentaje de estos que ya llegan muertos. En el caso del cerdo, se ha observado que la mortalidad durante el transporte incrementa en el caso de genéticas más susceptibles al síndrome del estrés porcino (gen del halotano) y con cerdos alimentados justo antes del transporte o con densidades demasiado elevadas. En el caso de las aves, las mortalidades aumentan a medida que incrementa el tiempo de espera antes del

sacrificio. Es por este motivo que hay que sacrificar a los animales lo antes posible tras su llegada al matadero. Antes de que esto ocurra, los animales deben ser alojados en zonas con ventilación mecánica lateral que les ayude a refrescarse en caso de que sufran estrés térmico.

Según Junqueira (2009) la intensidad del manejo a que los cerdos son sometidos durante la carga, transporte y llegada a la planta de sacrificio, son los principales factores responsables de la incidencia del estrés previo al procesamiento. Además de la pérdida de animales, el estrés previo al procesamiento proporciona una producción de carne con calidad inferior. En el caso de que haya estrés muy cercano al momento del sacrificio, puede haber un aumento en la producción de carne PSE (pálida, blanda y exudativa), en virtud del aumento de la temperatura del músculo ($>38^{\circ}\text{C}$), acumulación de ácido láctico y aumento de la tasa metabólica, la que causa una rápida caída del pH (<6) antes del enfriamiento de las canales, que a su vez desnaturaliza las proteínas musculares. Esto reduce la capacidad de retención de agua y aumenta la palidez de la carne, lo cual causa un rechazo del consumidor y consecuencias económicas serias para el sector y la industria.

Este mismo autor ha reportado sobre el uso de alternativas nutricionales para reducir el estrés previo al procesamiento, una de las cuales es el uso del triptófano sintético adicionado a las raciones de cerdos en finalización. La mejora en la calidad de la carne con la adición de este aminoácido ocurre debido a la competencia del triptófano con la tirosina por el sitio de unión en la barrera hematoencefálica. De esta forma, los productos de tirosina, principalmente la epinefrina que es responsable de la manifestación del estrés al procesamiento, no se liberan en concentraciones suficientes para que el animal manifieste el estrés. Esto resulta en una menor incidencia del metabolismo anaeróbico y en consecuencia en una menor liberación de lactato en el músculo.

Los corrales de espera tienen la finalidad principal de proporcionar al matadero un *stock* suficiente de animales para poder mantener una velocidad de matanza constante. El porcino es la única especie en la que por razones de calidad de la carne se aconseja un tiempo mínimo de estancia en los corrales de espera, que sería de dos horas. Por tanto, en esta especie, la capacidad de los corrales del matadero debe ser como mínimo de 2-3 veces la velocidad de sacrificio de la cadena. En el resto de especies, los animales

deberían sacrificarse tan rápido como sea posible y en el cerdo no mucho tiempo después de transcurridas dos horas. Desde un punto de vista productivo, se corre el riesgo que tras los tiempos de carga, transporte y descarga un tiempo prolongado de espera en el matadero haga que los animales se queden sin reservas energéticas y empiecen a utilizar proteína muscular para funciones de mantenimiento, lo que supone una pérdida, a menudo poco considerada, para el ganadero. Además, si en el momento del sacrificio el animal ha gastado las reservas de glucógeno del músculo en las fases previas, se corre el riesgo de producir carnes oscuras, secas y firmes, de baja calidad y menor durabilidad por falta de ácido láctico en el músculo.

Para reducir las agresiones a la llegada en el matadero, los animales deberían ser alojados respetando los grupos de la granja de origen siempre que esto sea posible o respetando los grupos formados en el momento del transporte. Las densidades altas incrementan los niveles de agresión porque los animales que son agredidos tienen mayores dificultades para escapar de su agresor y mostrar así sumisión. Los cerdos que se mantienen en grupos grandes (30 cerdos) pasan más tiempo en pie y luchando que animales mantenidos en grupos pequeños (10 cerdos), por lo que el tamaño de grupo en los corrales es otro aspecto a tener en cuenta todos los corrales deben disponer de agua de bebida potable en un número suficiente y de forma tal que asegure que todos los animales puedan acceder a ella siempre que lo deseen (Velarde, *et al.*, 2013).

❖ El ayuno

La pérdida de peso acompañada al ayuno de los animales, no tiene importancia comercial, sino es reflejada en la pérdida de peso en las canales o en las vísceras comestibles. La condición del estomago lleno es importante, para determinar la velocidad de pérdida del peso vivo en la fase inicial del ayuno, especialmente por su repercusión en el momento de inicio, de la pérdida de peso en las canales. En comparación con los rumiantes, los cerdos presentan el pase rápido de los alimentos a través de los intestinos, lo cual provoca que sean más susceptibles a los efectos de privación de alimentos. Una reducción controlada del potencial glucolítico (GP) en el animal vivo antes del sacrificio, puede ser una medida muy eficaz, para reducir la caída del pH *post-mortem* y mejorar las propiedades más importantes de la calidad de la carne, tales como el color y la capacidad de retención de agua (CRA) (Faucitano *et al.*, 2006; Leheska, Wulf, y Maddock, 2002). Tal como se ha mencionado anteriormente el

potencial glucolítico de los músculos, puede estar influenciada por factores como genotipo (Monin and Sellier, 1985; Enfalt, Lundstrom, Hansson, Lundeheim, & Nystrom, 1997), por la estrategia de la nutrición (Bee, 2002; Rosenvold *et al.*, 2001; Ruusunen *et al.*, 2007), por las condiciones de crianza (Enfalt *et al.*, 1997), por el ayuno (Bertol *et al.*, 2005), y por las practicas de manejo, antes del sacrificio (Hambrecht *et al.*, 2004).

En la práctica se recomienda un periodo de ayuno de 16-24 h (Eikelenboom, Bolink, y Sybesma, 1991) con el fin de reducir el volumen del contenido del estómago y el riesgo de contaminación microbiana, en el período de la evisceración. Muchos estudios han demostrado que, el ayuno prolongado antes del sacrificio, provoca la reducción del nivel de glucógeno y la aparición de un pH final alto en el músculo a las 24 horas *post-mortem* (Eikelenboom *et al.*, 1991; Partanen *et al.*, 2007; Warriss & Bevis, 1987; Wittmann *et al.*, 1994) mientras que Bidner *et al.* (2004) no encontraron ningún efecto sobre el pH ultimo (pHu) incluso después de 60 horas de ayuno. (Bertol *et al.*, 2006) encontraron una reducción de glucógeno muscular en cerdos ayunados y mantenidos en buenas condiciones, durante 24 horas.

En general, se recomienda ayunar a los cerdos antes de transportarlos al matadero. Dicha restricción alimentaria oscila entre 12 y 18 h según Gispert *et al.*, (1996) o entre 16 y 23 h según Eikelenboom *et al.*, (1991).

De acuerdo a las revisiones de Faucitano *et al.*, (2010), los motivos principales por los cuales se recomienda realizar el ayuno son:

- Reducir el contenido del tracto intestinal para minimizar los mareos (Bradshaw *et al.*, 1996).
- Disminuir el riesgo de contaminaciones de la canal por enterobacterias por la rotura del conducto digestivo durante la evisceración (Berends *et al.*, 1996).
- Reducir la mortalidad durante el transporte.

Se ha relacionado el ayuno con cambios en las características de la canal, en los parámetros relacionados con la calidad de la carne (cómo el pH, la capacidad de retención de agua y/o el color), con el bienestar animal e incluso con el impacto ambiental y económico (Eikeenboom *et al.*, 1994, Gregory, 1998).

Se han publicado muchos trabajos enfocados en estudiar el efecto del ayuno sobre la calidad de la canal y de la carne, los cuales indican que el ayuno en las horas previas al sacrificio reduce la cantidad de glucógeno disponible en el músculo, que en condiciones *post-mortem* se convierte en ácido láctico, disminuyendo el pH inicial y la incidencia de carnes PSE. Sin embargo, un ayuno muy prolongado reduce extremadamente, la cantidad de glucógeno muscular en el momento del sacrificio, dando lugar a un pH final más alto de lo deseable e incrementado la incidencia de carnes DFD. Para evitar estos problemas, se recomienda que la duración del ayuno este comprendida entre 10 y 24 horas (Bidner *et al.*, 2004).

❖ Efecto del aturdimiento sobre la calidad de la carne

En el matadero, la legislación obliga al aturdimiento de todos los animales de abasto antes de su sacrificio (Reglamento (CE) N° 1099/2009). Actualmente, para el porcino los métodos de aturdimiento más utilizados en la Unión Europea (UE) son la exposición a elevadas concentraciones de dióxido de carbono (CO₂), superior al 80% al aire atmosférico y la electronarcosis (paso de corriente eléctrica a través del cerebro). El (CO₂) es un gas que, cuando se inhala en altas concentraciones, deprime la actividad de las neuronas del cerebro e induce la pérdida de la conciencia (Rodríguez *et al.*, 2008, Raj, 1999, Raj y Gregory, 1996).

El uso del (CO₂) como sistema de aturdimiento, se ha incrementado notablemente en los mataderos en los últimos años, debido a su efecto positivo sobre la calidad del producto final en comparación con el aturdimiento eléctrico (Velarde *et al.*, 2001). Larsen (1982) reportó que, los animales aturdidos eléctricamente, presentaron entre 10% y 19% incidencia de carne PSE, mientras que los animales aturdidos con CO₂, solo han tenido una incidencia entre 2% a 9%. Channon *et al.* (2003) encontraron diferencias, con modificaciones en los niveles de amperaje (0.9, 1.3, 2), y el tiempo de contacto, durante el aturdimiento eléctrico, que tuvo un efecto sobre la incidencia de carne PSE, hemorragias, el pH, pérdida por exudación y fracturas; que eran más altos que los cerdos aturdidos con cámaras CO₂.

Además el aturdimiento con CO₂ tiene ciertas ventajas desde el punto de vista del bienestar de los animales, ya que no implica la sujeción del animal además de permitir

el aturdimiento en grupos lo que reduce significativamente el estrés previo al aturdimiento (EFSA, 2004). Sin embargo, la exposición al CO₂ también ha sido un método criticado con relación al bienestar animal. En primer lugar, porque la pérdida de la conciencia no es inmediata (Rodríguez et al, 2008, Raj y Gregory, 1995), con rangos de tiempos variables y que dependen de la concentración de (CO₂) utilizada y la rapidez con la que los animales son expuestos a la máxima concentración deseada (Raj y Gregory, 1996; Troeger y Woltersdorf, 1991). En segundo lugar, la inhalación de CO₂ en altas concentraciones (>30%) provoca la irritación de las membranas de las mucosas nasales. En tercer lugar, el CO₂ es un fuerte estimulante respiratorio que provoca hiperventilación (Gregory *et al.*, 1987) y sensación de asfixia antes de la pérdida de la conciencia (EFSA, 2004). Todos estos efectos provocan que durante la exposición a este gas aparezcan algunas conductas descritas en cerdo como de aversión (conductas de rechazo).

A la hora de evaluar las ventajas y desventajas de los diferentes sistemas de aturdimiento, la industria cárnica considera la calidad de la carne y la presencia de hemorragias y fracturas óseas.

De acuerdo al planteamiento de diferentes investigadores, los músculos de los cerdos aturridos eléctricamente presentan una disminución más rápida del pH en las primeras horas *post-mortem* y una capacidad de retención de agua inferior en comparación con la carne de los cerdos aturridos por (CO₂) mientras que el pH_u (pH a 24 h) no se ve afectado (Casteels *et al.*, 1995, Payne y Warner, 2002).

Esto indica que el aturdimiento eléctrico, comparado con el (CO₂) conduce a estrés fisiológico más grave en el cerdo y aumenta la tasa de metabolismo *post-mortem*, debido al incremento de la actividad muscular y la liberación elevada de catecolaminas en la sangre (Troeger y Woltersdorf, 1991). Por otra parte el aturdimiento con (CO₂) está en ventaja sobre el aturdimiento eléctrico, con respecto a la incidencia de petequias de sangre en los músculos (Barton-Gade, 1997, Channon *et al.*, 2002, Velarde *et al.*, 2000).

3.5.2. Factores post-mortem

Los cambios *post-mortem* son todos aquellos cambios morfológicos o estructurales que tempranamente empiezan a producirse entre el sacrificio de un animal y el consumo de

su carne, los cuales surgen a partir del momento de la muerte y continúan presentándose una serie de sucesos tales como el enfriamiento del músculo, la aparición del *rigor-mortis*, el aspecto seco de la superficie y el endurecimiento de la grasa, con el tiempo, la textura y el sabor de la carne magra se mejora. Estos efectos son acompañados por cambios bioquímicos significativos en los músculos: la acidificación y más tarde la resolución gradual del *rigor-mortis* y el ablandamiento de la carne por un proceso denominado acondicionamiento (Warriss, 2000). Los acontecimientos más relevantes del periodo *post-mortem*, es decir los aspectos (carne pálida, blanda y exudativa, PSE así como la carne oscura, firme y seca, DFD en sus siglas en inglés), son explicados de la siguiente forma, en sus apartados correspondientes.

3.5.2.1. La carne PSE

Esta generalmente aceptado que el ritmo del metabolismo *post-mortem* es la mayor causa de las variaciones de la calidad de la carne de cerdo y de la funcionalidad de las proteínas cárnicas, como se mencionó anteriormente, esta pérdida de calidad se atribuye a la desnaturalización de las proteínas asociada, a la combinación de la condición acida, con una elevada temperatura muscular en las primeras horas *post-mortem*. Tanto la velocidad del descenso como el valor final del pH último (pHu) determinan características tan importantes como son el color, la textura, la capacidad de retención de agua, y la calidad tecnológica de la carne en su conjunto. Cuando el pH baja muy rápido a valores inferiores a 6,0 en las primeras horas *post-mortem* o si el pH último (pHu) es menor de 5,6, la carne adquiere un color pálido, pierde textura, y exuda agua (carne PSE). Su origen es multifactorial, pues viene determinado por factores que causen estrés a los animales como los ambientales del manejo (ayuno, carga, transporte, descarga y espera), por la infraestructura de granjas y del matadero (rampas de descarga, diseño de pasillos y corrales, aturdimiento y enfriamiento), y por el mayor causante de condiciones extremas de carne PSE en el cerdo, que es el síndrome del estrés porcino ya que, los cerdos que presentan este síndrome son reconocidos como un riesgo significativo de producir carne PSE (Topel *et al.*, 1969).

En situaciones de estrés agudo e inmediato antes del sacrificio, como por ejemplo al mezclar animales en los corrales de espera de los mataderos, el glucógeno muscular es utilizado para obtener la energía que demanda el animal en las peleas y agresiones, acumulándose ácido láctico en el tejido muscular. Este ácido no se elimina del músculo,

ya que el sacrificio es inmediato tras su producción. Se produce un descenso rápido del pH *post-mortem*, alcanzando valores inferiores a 6 en los primeros 45 minutos después del sacrificio. Este nivel de pH se mantiene también a las 24 horas, dando lugar a la aparición de carnes tipo PSE que se caracterizan por ser carnes más claras, blandas y con menor poder de retención de agua (De la Fuente *et al.*, 2005) (Carlin, Huff-Lonergan, Rowe y Lonergan, 2006), han reportado que un estrés agudo inmediatamente antes del sacrificio reduce el transporte del calcio (Ca^{2+}) por el retículo-citoplasmático, la razón de esta disminución funcional no fue determinada, sin embargo se sabe que la oxidación del retículo-citoplasmático estimula la liberación del (Ca^{2+}) (Favero *et al.*, 1995 y 2003).

Es evidente que la acumulación de radicales libres es provocado en el músculo después de un ejercicio agudo (Bailey *et al.*, 2007) y este cambio en el potencial redox, se convertiría en una alteración en el control del nivel intracelular del (Ca^{2+}) (Hool & Corry, 2007). La pérdida de la regulación de (Ca^{2+}) es el signo puntual en el desarrollo de la carne PSE. El estrés pre-sacrificio, provoca la aparición del oxígeno reactivo y la oxidación del calcio, lo cual conlleva a la pérdida prematura de la regulación del calcio, en las primeras horas *post-mortem*. Este fenómeno marca el inicio de reacciones en cascada que conduciría a la disminución rápida del pH con la consiguiente desnaturalización de las proteínas.

En algunos animales, el pH del músculo cae rápidamente por debajo de 5,80 durante la primera hora después de sangrado, provocando el típico cuadro (PSE). El bajo pH impide o retarda el crecimiento microbiano por tal motivo, la tasa de cambio de pH *post-mortem* también influye en la calidad de la carne. Como se mencionó anteriormente el desarrollo de un pH bajo (ácido) en el músculo provoca la desnaturalización de las proteínas musculares, esta desnaturalización causa: pérdida de solubilidad de la proteína y pérdida de ligar agua por parte de las mismas, así como la pérdida de pigmentación del músculo. Todos estos cambios son indeseables, ya sea el músculo que va a ser utilizada como carne fresca o procesada. El cerdo no es el único animal que puede ser afectada por este tipo de defecto. La carne pálida o carne exudativa también se pueden detectar en la carne de vacunos y aves de corral. Aunque no es frecuente, la carne exudativa ha sido encontrada en las canales de novillos, la desviación en la calidad es generalmente mucho menos pronunciada que la carne PSE de cerdo, de modo que el aspecto PSE ha sido poco investigado en carnes de vacuno, en

las aves de corral en particular de pavo, es común encontrar carne pálida (Swatland *et al.*, 1985). Se ha demostrado que el pH último está relacionado genéticamente y fenotípicamente con varios parámetros económicos tales como el color, textura, capacidad de retención de agua (CRA) y cualidades sensoriales; por ejemplo, producir una carne de cerdo con un valor de pHu >5.70 nos ayudaría a eliminar la condición PSE de manera muy efectiva (Bidner *et al.*, 2004; Cameron, 1990; Lonergan *et al.*, 2007).

3.5.2.2. La carne DFD

Las canales con carne oscura, de color rojo púrpura se encuentran en todas las especies, aunque principalmente son de mayor preocupación en el ganado vacuno. Los cortes de estas carnes son firmes y secos al tacto, por lo que la condición se llama oscura, firme y seca o en sus siglas de inglés dark, firm and dry (DFD), en concreto en el ganado bovino se denominan, carnes de corte oscuro, (Dark Cutting ,DC en su sigla en inglés). La oscuridad del color y la falta de goteo están relacionadas con el valor de pH alto (>6.0). La falta de glucógeno muscular al momento de sacrificio, se debe al estrés durante el periodo *ante-mortem* (transportes inadecuados de largas distancias o ayunos prolongados). El estrés psicológico, relacionado con los cambios en los entornos físicos y sociales, induce la liberación de catecolaminas, lo que aumenta la glucogenólisis mediante la activación de la fosforilasa muscular. El ejercicio muscular sostenido, requiere la movilización de las reservas de energía muscular fácilmente disponibles, compuesta principalmente de glucógeno. Los machos son más propensos a la aparición del aspecto DFD, debido a su temperamento excitable y un comportamiento agresivo, especialmente en el vacuno.

La distribución del aspecto DFD en los canales, es variable de un especie animal a otro. En los cerdos, dicho aspecto se encuentra principalmente en el cuarto delantero y los músculos profundos de jamón, porque estas partes del cuerpo contienen músculos rojos de contracción más lenta y debido a su inferior contenido de glucógeno, son más propensos al proceso de DFD, que los músculos blancos. Por el contrario, en el ganado vacuno el problema de la DFD afecta principalmente a los cuartos traseros y los músculos *longissimus* aunque, la distribución corporal de los músculos de diferentes tipos metabólicos es similar. Esto es probablemente debido a la conducta de monta frecuente en esta especie, sobre todo en los toros jóvenes, lo que induce a un trabajo intenso en los músculos de la espalda y las piernas traseras (Honikel, 2004).

Garrido *et al.* (2005) al explicar las repercusiones del manejo inadecuado de los animales antes del sacrificio, sobre la calidad de la carne afirmaron que “cuando la concentración de glucógeno muscular es adecuada, se produce una perfecta acidificación de la carne. Si las reservas de glucógeno se agotan antes del sacrificio, debido a que los animales sufrieron estrés con intensidad sostenida durante largo periodo, o bien, que los mismos hayan sido obligados a realizar un ejercicio físico prolongado, la acidificación *post-mortem* será limitada ya que no habrá glucógeno muscular disponible para transformarse en ácido láctico, por lo tanto el pH muscular no descenderá hasta los valores normales, resultando en un último (pHu) mayor de 6. Esto puede llevar a la aparición de carnes DFD. La comercialización de las carnes DFD o “carnes de corte oscuro” conlleva ciertas dificultades, ya que el consumidor asocia su color oscuro a animales viejos o a la carne almacenada en malas condiciones”.

Tabla 3. Resumen de los acontecimientos que conducen a carnes PSE y DFD (Fuente: Warriss, 1990).

PSE	DFD
<ul style="list-style-type: none"> • Estrés agudo • Acidificación inicial rápida • pH inicial baja y alta temperatura en la canal • Desnaturalización de proteínas • Baja capacidad de retención de agua • Pérdida de agua ligada • Separación de las fibras musculares • Espacio extracelular grande • Alta dispersión de la luz • La superficie aparece pálida • El pH favorece la oxidación 	<ul style="list-style-type: none"> • Estrés crónico • Glucógeno reducido • Alto pH final • Proteínas sin desnaturalización • Alta capacidad de retención de agua • El agua retenida por las proteínas • Fibras fuertemente unidas • Espacio extracelular pequeño • Baja dispersión de la luz • Superficie oscura • Difusión de O₂ inhibida por la estructura cerrada

Cabe mencionar las afirmaciones de estudios previos, en la que destacan la condición DFD está asociada con un alto pH final y no tiene origen genético sino que, es provocada por un prolongado estrés en el periodo anterior al sacrificio, que conduce a que se agote prácticamente el glucógeno o haya un bajo contenido en los músculos de los animales durante el periodo *post-mortem*. De esta manera la instauración del *rigor-*

mortis se produce en un corto tiempo por una insuficiente cantidad de ATP, que no puede ser suministrado por una glucólisis reducida por la carencia de glucógeno. La cantidad de ácido láctico producida es pequeña y, por consiguiente el pH último será de un valor elevado que define a esta carne, por encima de 6,2, y en ocasiones puede estar alrededor de 7,0. Esta carne es de aspecto seco (muy poco exudativa), oscura y pegajosa al corte. Por su elevado pH es particularmente susceptible a un rápido deterioro microbiano.

Tiene una elevada capacidad de retención de agua y una textura firme y gomosa. Por otra parte, Andújar *et al.*, (2003) indicaron que, la carne DFD de cerdo por su elevada capacidad de retención de agua, es apropiada para productos del tipo emulsión cárnica y jamones cocidos, pero en piezas grandes curadas no es conveniente usarlas, pues reducen la difusión de la sal por su estructura cerrada

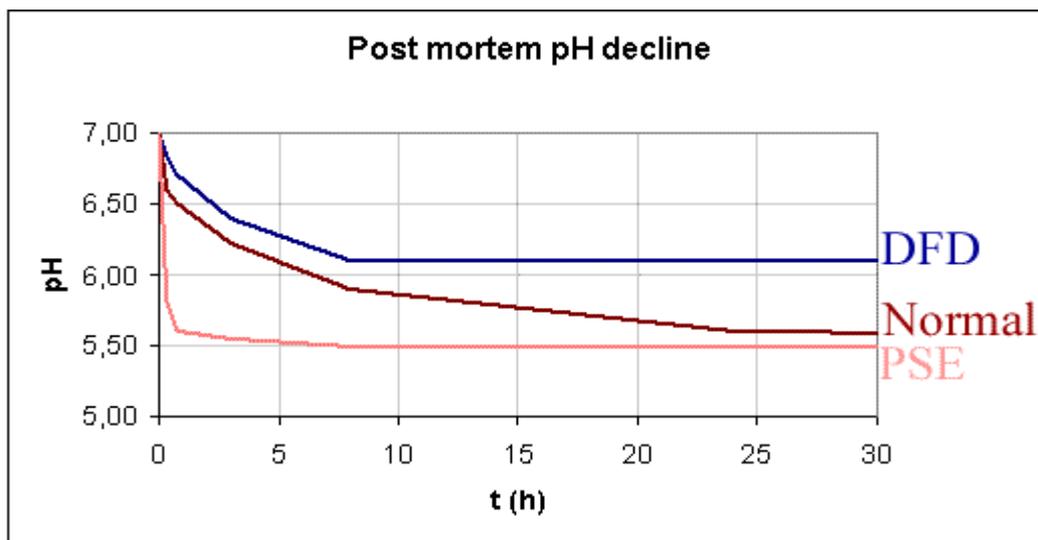


Figura. 1. Representación esquemática de la relación entre el cambio *post-mortem* del pH del músculo (*Longissimus dorsi*) de cerdo según las categorías PSE, Normal y DFD. (Fuente: www.porktraining.org, 2011).

3.5.2.3. El pH y tipos de músculos

Se han encontrado diferencias entre el pH final de diferentes músculos (Ouhayoun y Delmas, 1988) estos autores reportaron diferencias entre *L. dorsi* y *B. femoris* por el distinto tipo metabólico (el segundo es más oxidativo que el primero). Los músculos de la escapula (*supraespinoso* e *infraespinosos*) y la pierna tienen generalmente pH últimos

más elevados que el lomo (Monin, 1981). En el ganado ovino (Sañudo, 1980) los pHs últimos más altos se corresponden con los músculos situados en los trozos de tercera categoría y los más bajos en los correspondientes a los de primera categoría. El porcentaje de distribución de los distintos tipos de fibras musculares tiene una importante contribución a la variación del pH y conlleva al desarrollo de carnes DFD y PSE (Ashmore y Vigerron, 1988). Se relaciona con la frecuencia en que los músculos son utilizados, siendo frecuente observar a menor actividad muscular, caídas más rápidas del pH.

Tarrant y Sherington (1980) confirman que la actividad muscular es una de las principales causas de un pH último alto, en músculos del cuarto trasero de corte oscuro. El pH último depende también del poder tampón del propio músculo, el cual aumenta con la intensidad del metabolismo glucolítico. Fibras adaptadas al metabolismo glucolítico son capaces de producir mayores cantidades de ácido láctico. De forma general se puede decir que en canales con un pH más alto, más alto es el pH de todos sus músculos, especialmente los del cuarto posterior y largo dorsal (Sañudo *et al.*, 1985).

El pH varía en el interior de un mismo músculo, reflejando las variaciones internas en la proporción de fibras. Estudios comparativos entre diversas especies (Bendall, 1978a, b, 1979) han demostrado que el pH en bovino y ovino es bastante similar. Las diferencias en sensibilidad al estrés (mayor en porcino y menor en ovino) y en el metabolismo muscular señalan diferentes pHs según la especie considerada (Jalang *et al.*, 1987).

3.5.2.4. Tipos de fibras

Es ampliamente aceptado que la composición miofibrilar es una fuente importante de variación en la calidad de la carne (Karlsson, Klont, y Fernández, 1999). Sin embargo, debido a la gran heterogeneidad del tejido y la composición celular del músculo esquelético, y los numerosos factores que afectan la calidad de la carne (*pre, peri y post-mortem*), sigue siendo difícil de identificar qué rasgos biológicos de los músculos están involucrados específicamente en la determinación de calidad de la carne. Las miofibrillas representan una población heterogénea que difieren en las propiedades estructurales, contráctiles, metabólicas y fisiológicas. La diversidad funcional entre los tipos de fibras, los músculos y las especies se ha conseguido durante la evolución mediante la selección natural darwiniana (Lefaucheur *et al.*, 2010).

Debido a la gran variabilidad genética y buen rasgo de heredabilidad de las miofibrillas, se han realizado experimentos de selección basados directamente en las características miofibrilares dentro de razas, así como el estudio de los efectos correlacionados en el crecimiento y los parámetros de calidad de la carne son vías prometedoras para identificar más específicamente las relaciones entre las características miofibrilares y la calidad de la carne (Estelle *et al.*, 2008, Nii *et al.*, 2005, Wimmers *et al.*, 2007).

Las fibras musculares muestran diferentes características contráctiles, fisiológicas, químicas y morfológicas. La fibra de contracción lenta y oxidativa tipo I presenta una baja actividad retículo sarcoplasmática y ATPasa, siendo capaz de sostener el trabajo de baja potencia de forma prolongada en asociación con un metabolismo oxidativo bien desarrollado, con una vascularización eficiente y un diámetro pequeño. Estas fibras exhiben un umbral de excitación bajo (alta sensibilidad de Ca^{2+}) y utilizan gran cantidad de energía in vivo, porque a menudo son organizados para sostener contracciones de baja intensidad, durante los movimientos básicos. Son pobres en glucógeno, ricos en mioglobina y los triglicéridos y muy resistentes a la fatiga (Bonen *et al.*, 1981).

Los músculos con diferentes composiciones de fibra, tienen diferentes patrones de cambio *post-mortem* durante la conversión del músculo a carne, y pueden tener una influencia posterior en calidad de la carne final (Ozawa *et al.*, 2000; Ryu y Kim, 2005). Por ejemplo, un pH bajo del músculo y alta temperatura son el resultado en una mayor desnaturalización de las proteínas, con un color de carne más pálido, y menos capacidad de retención de agua (Joo *et al.*, 1999). Ryu *et al.*, (2006) reportaron que el porcentaje de fibras tipo IIB se correlacionó negativamente con el pH del músculo *post-mortem*. Del mismo modo, los músculos con mayor porcentaje de fibras tipo IIB y el menor porcentaje de fibras tipo I mostraron significativamente mayor contenido de glucógeno y lactato a los 45 minutos *post-mortem* y también mostraron un color más pálido y una mayor pérdida por goteo en las primeras horas del periodo *post-mortem* (Choe *et al.*, 2008). Sin embargo, Lefaucheur (2010) informó que los tipos de fibras mixtas de músculo *psaos mayor* mostraron disminución de pH, mucho más rápido que los músculos *semispinoso* (oxidativo) y el músculo *longissimus* (glucolítico).

Li *et al.*, (2009) también indicaron que en cerdos prematuros las diferencias en los rasgos de calidad de la carne, son atribuidas al metabolismo energético del músculo esquelético, pero no al tipo y composición de las fibras musculares. Estos resultados

muestran que la tasa y la extensión de metabolismo *post-mortem* también pueden depender de otros factores, tales como la capacidad de amortiguación del músculo y el estado fisiológico de los músculos.

Las características contráctiles de músculo se diferencian por los tipos de fibras musculares que tienen patrón de metabolismo oxidativo y / o glucolítico en el músculo esquelético en vivo y / o de la canal. Las variedades de tipos de fibras musculares se correlacionan a su tamaño, el color, la cantidad del glucógeno y el contenido de lípidos (Karlsson *et al.*, 1999, Klontz *et al.*, 1998, Schiaffino *et al.*, 1996). En particular, las propiedades metabólicas, que por lo general se ven afectados por el tipo de fibra, tienen influencia tanto en la conversión del músculo a carne y como en la calidad de la carne final (Brocks *et al.*, 2000, Choi y Kim, 2009, Ryu y Kim, 2005).

Klont *et al.*, (1998) afirman que el músculo esquelético del cerdo presenta como característica que, al menos en los músculos glícolíticos, las fibras I se encuentran rodeadas por un anillo de fibras IIA y estas por una población de fibras IIB. Hay una relación directa entre la velocidad de descenso del pH muscular de la canal y la tipificación fibrilar del músculo. Las fibras tipo I rojas oxidativas limitan el descenso del pH ya que tienen bajo contenido en glucógeno y la ATPasa disminuye su actividad a pH superiores a 5. De esta manera, si se eleva la proporción de fibras IIB puede descender a gran velocidad y en límites excesivos. Esto está en relación con la presencia de carnes pálidas, blandas y exudativas (PSE).

Fernández (2003) y Castellón *et al.*, (2005) entre otros, utilizaron el pH final como un indicador de carnes PSE (pálidas, blandas y exudativas) cuando los valores se comportaban por debajo de 5.8. Sin embargo Channon *et al.*, (2000) han sostenido que el empleo del pH como único indicador no conduce a conclusiones certeras sobre la calidad real de las carnes. Schafer *et al.*, (2000) han propuesto usar el pH a las dos horas junto a la temperatura, mientras que Kauffman *et al.*, (1992) y Toldrá y Flores (1999) han propuesto el pH y la CRA debido a la alta correlación de estos indicadores. El aumento de la actividad física natural mejora la capacidad aeróbica muscular y disminuye los riesgos del PSE. Aquellos animales con mayor porcentaje de fibras tipo I rojas oxidativas estarían mejor preparados para sobrellevar los efectos del estrés previo a la faena (Graziotti *et al.*, 2001).

La importancia de la alimentación en la incidencia de estos problemas es poco determinante, siendo los factores genéticos y de manejo pre-sacrificio los más importantes. Sin embargo, algunas pautas de alimentación pueden ser útiles en disminuir la incidencia de estas anomalías. Estudios previos indican que, independientemente del mecanismo, la dieta puede ser utilizada para mitigar valores bajos de pH mediante la reducción de los hidratos de carbono a menos del 5% y aumentando la grasa un 18 % aproximadamente, sobre la base del peso (Rosenvold *et al.*, 2001). Cuando los animales son alimentados tres semanas antes del sacrificio, estas dietas reducen el contenido de glucógeno del músculo *longissimus dorsi* de 11-26% (Rosenvold *et al.*, 2001) y aumentan el pH45 (valor del pH a 45 minutos) y pHu (valor del pH a 24 horas) (Rosenvold *et al.*, 2002; Tikk *et al.*, 2006) así como aceleran la disminución de la temperatura (Tikk *et al.*, 2008; Tikk *et al.*, 2006).

Existe otro estudio que afirma que cualquier componente nutritivo que de forma directa o indirecta reduce el estrés en los animales, ayudaría a mitigar los problemas de calidad de la carne, asociados a los factores de estrés, ya que la respuesta inmediata a los factores del estrés es mediante la liberación de neurotransmisores en el cerebro, lo cual estimula al sistema nervioso a liberar las hormonas del estrés al torrente sanguíneo, que a su vez estimula el metabolismo muscular de forma negativa, con sus consecuencias en la calidad de la carne, se ha notificado que el magnesio tiene un efecto contrario a las catecolaminas en situaciones de estrés (De Souza *et al.*, 1998). El efecto primario del magnesio se nota en la reducción de la estimulación neuromuscular, debido al efecto antagónico frente al calcio. Varios estudios han demostrado que el suplemento de magnesio a través de la dieta, previo al sacrificio ayuda a mejorar la calidad de la carne de cerdo resultando en la mejora de la CRA y oscuridad de la carne (Apple *et al.*, 2000).

El estrés a largo plazo requiere un período de recuperación conocido como estabulación. Desde un punto de vista del tejido, esto se interpreta como tiempo suficiente para restablecer el glucógeno que estaba en el músculo, o eliminar por completo las hormonas del estrés, especialmente las catecolaminas, que puedan haber sido liberadas al cuerpo, en respuesta al estrés (Faucitano, 2010). En la mayoría de las veces, el aumento del tiempo de estabulación eleva tanto el pH45 como, pHu y de ese modo mejora las mediciones de calidad de la carne, especialmente los valores L* (luminosidad) (Salmi *et al.*, 2012; Zhen *et al.*, 2013).

Finalmente se puede resumir que la carga de energía existente en el músculo del animal, determina el ritmo del metabolismo, por tal motivo factores como la dieta, el ayuno, el transporte y la estabulación de los animales antes del sacrificio, no deben ser pasados por alto, cuando se pretende mejorar la calidad de la carne.

3.6. Capacidad de retención de agua

Cuantitativamente, el agua es el constituyente más importante de la carne. La carne cruda, inmediatamente después del sacrificio, puede contener alrededor del 75% de agua (Lawrie, 1998). Parte de esta agua se pierde por diversos procesos: por evaporación durante el enfriamiento de las canales (hasta un 2% en el caso del bovino); por goteo al seccionar los tejidos (hasta un 6%, que puede doblarse tras la descongelación). Sin embargo, el proceso que provoca mayores pérdidas es el cocinado de la carne, ya que pueden superar el 40% (Offer y Knight, 1998a).

El agua del músculo se encuentra en un 70% en las proteínas miofibrilares, en un 20% en las sarcoplásmicas y en un 10% en el tejido conectivo (Hamm, 1963). Este contenido varía con el de grasa; si la grasa aumenta, el agua decrece y se aproxima al contenido de agua del tejido adiposo, cercano al 10%. La proporción entre proteína y agua es casi constante en un amplio rango de contenido graso. Esta regla se aplica a la carne de cerdo procedente de animales con un peso vivo al sacrificio de más de 90 Kg y a la de vacuno con pesos vivos superiores a los 450 Kg. En animales más jóvenes esta relación es menor (Price y Schweigert, 1994).

Según otros investigadores la estructura de la carne es muy compleja, ya que el sistema proteico- miofibrilar se ha desarrollado para realizar movimientos específicos y muy rápidos de forma repetida. Dentro de la fibra muscular el agua actúa como lubricante, así como es medio de transporte de metabolitos. Para que haya una función rápida y organizada, el contenido de agua debe ser constante, por otra parte, durante la contracción muscular el agua debe ser capaz de mover de un espacio a otro, dentro del sarcómero, en fracciones de milisegundos (Lampinen y Noponen, 2005).

La capacidad de retención del agua (water-holding capacity [WHC] en sus siglas en inglés) es el término empleado para la propiedad de la carne, por la que ésta conserva su agua durante la manipulación y toma y retiene agua añadida durante el procesado (Offer

y Knight, 1988). Es una propiedad muy importante, ya que pérdidas o ganancias de agua afectan al peso y valor económico de la carne. El contenido y distribución en agua influyen en las propiedades de la carne, especialmente en su resistencia, jugosidad, ternura y aspecto. Cabe mencionar la afirmación de un estudio reciente, en la que se indica a la pérdida de agua de la carne, como un problema muy relevante, ya que esta es vendida por su peso y la cantidad de agua que pierde durante el almacenamiento, afecta el aspecto de la carne fresca, su rendimiento y valor económico, además de su rendimiento en la fabricación de productos elaborados (González *et al.*, 2012).

Las pérdidas de agua por evaporación de la superficie de las canales se producen durante el enfriamiento de éstas, por diferencias de presión de vapor. La evaporación afecta al aspecto de la carne, disminuyendo su aceptabilidad por parte del consumidor (James y Swain, 1986). La evaporación se produce fundamentalmente en superficie, siendo prácticamente insignificante más allá de unos milímetros hacia el interior, pero el contenido de agua de la superficie puede disminuir en un 33%, con el correspondiente incremento en la concentración de sales y proteínas. El contenido de agua de los productos de carne es uno de los parámetros esenciales de calidad para los procesadores de carne, ya que se relaciona con el rendimiento final de producto final, pero también es importante en términos de la calidad comestible. Obviamente, cualquier pérdida de agua reduce el peso del producto, lo que implica la pérdida financiera, sin embargo, también tiene una influencia sustancial en la calidad del producto, con una mayor pérdida de agua se obtiene una expectativa de una calidad menos óptima, debido a la contracción del producto.

También tiene un gran impacto en otros atributos de calidad como la jugosidad y ternura, y si la pérdida es excesiva disminuye la percepción sensorial del producto. Por consiguiente, la pérdida severa de agua reducirá la aceptabilidad del producto a los consumidores y disminuir el valor de venta consiguiente, en consecuencia, la industria de la carne tiene un enorme interés en la mejora de la capacidad de retención de agua de productos cárnicos (Maribo *et al.*, 1998).

La sostenibilidad de la industria cárnica en cualquier país, depende del volumen de carne que vende, que a su vez, está directamente relacionado con el rendimiento en producto cárnico en cada uno de los segmentos de la cadena de producción. La capacidad de retención de agua (CRA) es una de las propiedades físicas de la carne más

importantes, que afecta al rendimiento, calidad, seguridad y rentabilidad. Desafortunadamente, la CRA es uno de las propiedades de la carne más complejas, puesto que se ve afectada por numerosos factores desde el origen hasta el momento de su consumo (Q-PorkChains, e-learning, 2011).

La capacidad de retención del agua de la carne fresca de cerdo, y la unión de agua añadida durante su almacenamiento y posterior procesamiento son también importantes para la industria cárnica del cerdo. La retención del agua es esencial para la sabrosura de la carne del cerdo, en términos de jugosidad y, posiblemente la ternura. Más aún, la pérdida de fluidos (a menudo en exceso del 7%) resulta en una reducción en el peso de carne de cerdo comercializable. La ocurrencia de un color pálido y una exudación elevada, o de un color oscuro y una exudación mínima, ha conducido a la conclusión de que el color y la CRA están relacionados. Sin embargo, van Laack *et al.* (1996), y Warriss y Brown (1990), han demostrado que el color y la CRA no están necesariamente relacionados, especialmente dentro del rango rojizo-rosado (RFN, RSE).

3.6.1. El sitio y la forma de unión del agua con la carne

La estructura del músculo y sus sub-estructuras, especialmente la elevada organización de las proteínas miofibrilares insolubles, son las responsables de la retención de agua en el tejido muscular. Es aceptado que el agua dentro de la carne se presenta bajo tres formas: ligada, inmovilizada y libre. Debido a la distribución de sus electrones, las moléculas de agua no son eléctricamente neutras, sino tienen una parte cargada positivo y otra negativa.

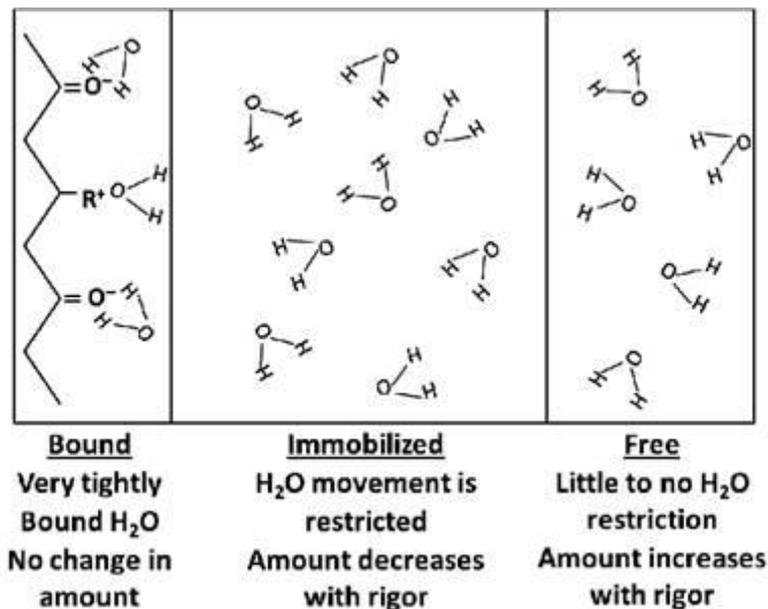


Figura 2. La forma de la unión del agua en la carne. (Fuente: www.porktraining.org, 2012).

En consecuencia pueden asociarse con los grupos reactivos de las proteínas musculares cargadas eléctricamente. Del agua total del músculo, un 4,5% se presenta de esta forma, a la cual se conoce como ligada, y esta agua permanece fuertemente unida, incluso cuando se aplica al músculo una intensa fuerza mecánica o de otro tipo.

Otras moléculas acuosas son atraídas subsecuentemente por las moléculas ligadas en capas que son cada vez más débiles, a medida que es cada vez mayor su distancia del grupo reactivo de las proteínas, esta agua se puede llamar inmovilizada, pero la cantidad de esta depende de la fuerza ejercida físicamente sobre el músculo. El agua que se mantiene por las fuerzas superficiales se denomina agua libre (Forrest *et al.*, 1979, citado por Garcia, 2003).

La distribución y la movilidad del agua en el músculo y la carne tienen una profunda influencia en los atributos esenciales de calidad de carne como la jugosidad, terneza, la firmeza y la apariencia (Trout, 1988). Durante la conversión del músculo a la carne y durante la maduración, el contenido del agua del músculo, la ubicación y la movilidad, va a cambiar en función de numerosos factores que interactúan mutuamente, incluyendo los factores ante (raza, muscular, nivel de estrés y escribir, etc.) y de naturaleza post mortem (procedimiento de sacrificio, velocidad de enfriamiento, tiempo y temperatura de maduración) (Honikel, 2004; Honikel, Kim, y Hamm, 1986).

1. "Agua ligada": El agua por ser una molécula dipolar es atraída por moléculas cargadas tales como las proteínas. Esta agua ligada con las proteínas, no puede trasladarse a otros compartimientos, ya que tiene una movilidad reducida y permanece fuertemente atada, incluso durante la aplicación de fuerzas mecánicas o físicas severas, como la congelación y el calentamiento. El agua ligada intercambiará continuamente con las moléculas de agua circundantes, incluyendo el agua inmovilizada (Huff-Lonergan y Lonergan, 2005; Offert y Trinick, 1983). Este compartimento de agua es el más pequeño (1-2%), según (Forrest et al, 1979 y Swatland, 1990, su volumen puede alcanzar de 4-5%) pero, es el más fuerte de los tres, el proceso de elaboración de la carne, tiene poco efecto en este compartimento de agua.

2. " Agua Inmovilizada ": Hasta el 80% del agua en la carne fresca es inmovilizada, el agua en este compartimento oscila entre asociaciones electrónicas moderadas entre el agua y las proteínas del músculo, y a las asociaciones muy débiles como las moléculas de agua al aumentar la distancia desde las cargas positivas y negativas de las proteínas. El agua inmovilizada tiene asociaciones débiles con proteínas y otros componentes celulares que el agua ligada.

Según Honikel *et al.*, (1986) el agua inmovilizada puede llegar hasta el 85% del contenido de humedad de la carne y está ubicada dentro de los filamentos gruesos y entre los filamentos gruesos y finos de las miofibrillas.

El agua inmovilizada está enlazada por efectos estéricos de atracción entre los filamentos o por puentes de hidrógeno unido a las proteínas musculares u otras macromoléculas. Durante la conversión del músculo en carne y la maduración cárnica, parte de esta agua puede ser movilizada, debido a la alteración de la estructura muscular y cambios en el pH (Huff-Lonergan y Lonergan, 2005; Offer y Knight, 1998). Algunos de los factores, que pueden influir en la retención de agua inmovilizada incluyen, la manipulación de la carga neta de las proteínas miofibrilares y la estructura muscular y sus componentes, así como del tamaño del espacio extra-miofibrilar, dentro del músculo.

3." El agua libre": Como su nombre indica, el agua en esta categoría está sujeta a que se pierda fácilmente, tal como lo indica Swatland, (1990), el agua libre se mantiene únicamente por fuerzas superficiales y que es fácilmente desprendible, además es la parte del agua de la carne, que tiene importancia durante el enfriamiento de la canal y el

subsiguiente almacenamiento, debido a que, es en ese momento cuando ocurren las pérdidas por evaporación y goteo. Las principales restricciones para esta agua son las membranas celulares y las restricciones relacionadas con la anchura del espacio interfibrilar de las proteínas del músculo.

El agua libre existe en la zona sarcoplásmica (Honikel, 1988) dentro de las células musculares en espacios largos y estrechos, llamados capilares, donde el agua se mantiene por las fuerzas intermoleculares entre el líquido y la matriz circundante. El agua libre puede ser fácilmente movilizadada por menores fuerzas físicas, formadas tras la contracción de las miofibrillas en el momento de *rigor-mortis* (definido como el punto de tiempo, donde no hay ATP disponible, para la liberación de la miosina del complejo actomiosina (Honikel, 2004).

Cualquier combinación de fuerzas, capaz de provocar daños en la integridad de las células del músculo, ayudara la separación del agua libre del músculo. Sin embargo con un procesamiento adecuado, una parte del agua libre puede ser desplazada hacia el compartimiento del agua inmovilizada, que en este compartimiento es más probable que se mantenga.

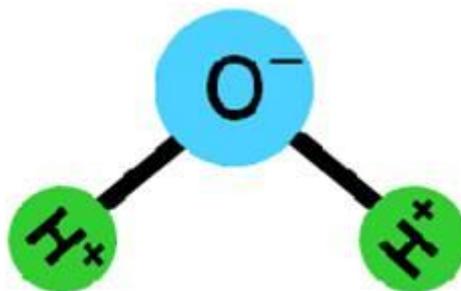


Figura 3. Esquema que muestra la naturaleza dipolar del agua (Fuente: www.porktraining.org, 2012).

Procesos que reducen la magnitud de la desnaturalización de las proteínas, durante la conversión del músculo en carne y factores que aumentan el pH del músculo, la repulsión electrostática de las proteínas, el aumento de longitud de los sarcómeros, la disminución del daño en la estructura muscular, el mantenimiento de bajas temperaturas de almacenamiento, así como evitar la congelación de la carne en estado pre-rigor,

ayudara a mantener el agua en el compartimiento inmovilizado y minimizar el movimiento del agua al compartimento libre (Pork training, e-learning, 2012).

3.6.2. Factores que afectan la capacidad de retención de agua

La sostenibilidad de la industria cárnica en cualquier país depende, del volumen de carne que vende, que, a su vez, está directamente relacionado con el rendimiento en producto cárnico en cada uno de los segmentos de la cadena de producción. La capacidad de retención de agua (CRA) es una de las propiedades físicas de la carne más importantes, que afecta al rendimiento, calidad, seguridad y rentabilidad. Desafortunadamente, la CRA es una de las propiedades de la carne más complejas, puesto que se ve afectada por numerosos factores desde el origen hasta el momento de su consumo.

Rosenvold y Andersen (2003), indicaron que la CRA se ve influida por diversos aspectos tales como: el sistema de aturdimiento empleado (la estimulación eléctrica produce una caída más rápida del pH y una menor CRA, frente al empleo de la cámara de CO₂), la suplementación con vitamina E (que mejora la CRA en porcino), el ayuno previo al sacrificio (mejora la CRA al disminuir los depósitos musculares de glucógeno y, por lo tanto, aumentar el pH₂₄), e incluso el enfriamiento excesivamente rápido de la canal tiene, especialmente si el nivel de energía del músculo es muy elevado, un efecto negativo sobre la CRA. Todos los factores relacionados con la aparición de carnes PSE y DFD que afectan al metabolismo *post-mortem* de la carne, influyen decisivamente además de en la CRA, en una serie de parámetros de calidad de la carne (pH, color, textura, etc.). La carne PSE ofrece una pésima CRA, en contraste con la carne DFD (Hoffman, 1987; Warner *et al.*, 1998).

Para comprender de forma clara, el impacto de diferentes factores sobre la capacidad de retención de agua de la carne, es preciso destacar el mecanismo de retención de agua dentro de la estructura cárnica, el cual puede describirse en dos formas que son:

1. El efecto de "espacio" - también conocido como el efecto estérico o espacial: este mecanismo de retención de agua consiste simplemente en el volumen total de los espacios entre las células musculares y los compartimentos celulares que pueden

llenar con agua. Lo principal, es que los sarcómeros más largos (músculos menos contraídos) tienen más espacio "abierto" a disposición de atrapar o retener el agua.

2. Efecto de carga útil: el segundo mecanismo de retención de agua implica la interacción entre el pH del músculo y las cargas eléctricas netas de las proteínas del músculo, que establecen una repulsión electrostática inherente de cargas similares y la atracción de cargas opuestas. En general a un valor de pH por encima del punto isoeléctrico, mas fuertes serán las cargas de las proteínas, así como a mayor distancia entre los filamentos musculares, mayor será la capacidad de retención de agua, de la carne fresca. (Pork training, by Q-PorkChains, 2012).

Otros investigadores afirman que, como las miofibrillas consisten en partículas proteicas solidas, de una larga red tridimensional, con una dimensión corta de menos de 20 nm, el concepto teórico de la capacidad de retención de agua de la carne, debe ser estudiado desde un punto de vista coloidal o de la química de superficie, así como la hipótesis de la CRA de la carne es basada en las fuerzas electroestáticas o osmóticas, que causan el hinchazón de las miofibrillas (Puolanne y Halonen, 2010).

3.6.2.1. La conversión del músculo en carne y la CRA

La conversión de los músculos en carne tiene lugar después de que los animales han sido sacrificados (Moulton y Lewis, 1940; Bendall, 1961). El músculo es un tejido vivo cuya actividad contráctil característica es regulada normalmente de una forma determinada por el sistema nervioso, cuando los músculos se han convertido totalmente en carne ya no son capaces de contraerse mediante deslizamiento de los filamentos. Sin embargo, la conversión comercial de los músculos en carne no es un suceso instantáneo (Swatland, 1990). Después de ser sangrado un animal, las fibras musculares sobreviven durante algún tiempo mediante glicólisis anaerobia, aunque más tarde o más temprano agotan la energía (Bate-Smith, 1948). Puede agotarse, bien su depósito primario de carbohidratos el glucógeno, o bien el producto final de la glucólisis anaerobia, el lactato. Es entonces cuando las fibras musculares comienzan a perder su integridad al no disponer de energía (Bodwell *et al.*, 1965).

La carne fresca de cerdo contiene aproximadamente un 75% de agua, y aproximadamente el 85% de esta agua del tejido muscular está ubicada intracelularmente, principalmente en los espacios entre los filamentos finos y gruesos.

El 15% de agua restante en la carne de cerdo fresca está ubicado en los espacios extracelulares (Hamm, 1975). Los cambios en la CRA son el resultado de cambios en el espaciado de filamentos, asociados con cambios en la carga y estructura de las proteínas miofibrilares, especialmente la miosina. La hinchazón o la contracción de las fibras musculares resulta en cambios en el espaciado de los filamentos, y causa el movimiento del agua entre los espacios intracelular y extracelular (Offer y Knight, 1988).

Sobre las variaciones del comportamiento del agua intra-miofibrilar, en el periodo de maduración de la carne, estudios previos reportaron que, la degradación del citoesqueleto durante la maduración muscular ocurre y ayuda a minimizar el acortamiento, aumentando la capacidad de retención de agua (CRA) de la carne mediante la eliminación de las conexiones inter-miofibrilares, y de ese modo reducir o eliminar el enlace entre la contracción lateral de miofibrillas inducidos por el *rigor-mortis*, así como la contracción de la fibra muscular entera. La degradación proteolítica de las proteínas del citoesqueleto posteriormente resulta en la hinchazón de la célula muscular y se espera que permita a la estructura de la carne pueda retener el agua expulsada de las miofibrillas, durante el *rigor-mortis*, en lugar de perderlo como goteo (Melody *et al.*, 2004).

Otros investigadores afirmaron que, el hinchazón de las miofibrillas, durante la maduración de la carne se ha visualizado mediante la microscopia de escaneo laser (Straadt *et al.*, 2007). Este estudio realizado por Straadt *et al.*, (2007) y también por Bertram *et al.*, (2002), indicó una alta proporción de fibras no hinchadas, en el primer día *post-mortem*, seguido por una distribución equitativa de las fibras sin hinchar e hinchadas , cuatro días posterior al sacrificio y una alta proporción de fibras hinchadas a los 14 días *post-mortem*. Se encontraron estos cambios, al parecer por cambios en las características del agua intra- miofibrilar, durante la maduración de la carne, la cantidad del agua intra-miofibrilar, a lo largo de todas las miofibrillas, tiende a tener gran similitud en el periodo de la maduración de la carne (Bertram *et al.*, 2007).

En sus estudios, Offer y Cousins (1992) llegaron a la conclusión de que cuando ocurre el encogimiento de las miofibrillas, debido a la caída del pH y la unión de las cabezas de miosina a los filamentos de actina, el fluido expelido se acumula en dos compartimentos de espacio extracelular, especialmente entre haces de fibras, que es la fuente probable del goteo. Por lo tanto, todos los factores que afectan el ritmo y progreso de los

procesos físicos y bioquímicos, durante la conversión del músculo en carne, tendrán mucha influencia, en la capacidad de retención de agua del músculo.

3.6.2.2. Rigor-mortis

El *rigor-mortis* es el proceso por el cual los músculos de los animales se convierten en carne. También se le conoce como la rigidez de la muerte. Esta rigidez se debe a la contracción de los músculos al momento de la expiración, y procede hasta que la fuente de energía ha sido agotada y los músculos pierden su capacidad de relajarse. Este proceso es básicamente irreversible, salvo que cuando los canales son madurados, con el tiempo ciertas enzimas inherentes pueden causar la degradación de la estructura contraída. Normalmente, la contracción ocurre a través de una compleja serie de reacciones bioquímicas en las que la miosina y la actina se deslizan la una por el lado de la otra para causar la contracción muscular. Las cabezas en los filamentos de miosina se extienden hacia el filamento de actina y lo atan, atrayendo de esa forma a la actina y dando lugar a la acción de contracción. Con energía adicional las cabezas de miosina se despegan de la actina y se mueven (se arrastran) a lo largo de la molécula de actina. Esta disociación entre la miosina y la actina está también asociada con la relajación muscular, en que la actina y la miosina se separan. Los músculos de las personas y de los animales se contraen y relajan continuamente, excepto a veces al dormir y después de la muerte.

Existe una demora en la instauración del *rigor-mortis* que es única en cada especie, en general, mientras más grande es el animal, más larga es la instauración del *rigor-mortis*. Esta demora es provechosa, ya que permite que los músculos sean removidos de los canales mientras todavía se hallan en el estado *pre-rigor* y que sean combinados con sal para preservar dicho estado. Como se ha dicho anteriormente, el estado *pre-rigor* del músculo es la forma más fácil para extraer, la proteína altamente funcional, que es la miosina (Pearson, 1986).

El efecto de la carga neta de las proteínas, es una causa principal de los cambios en la CRA de los músculos durante el proceso de *rigor-mortis*. Las proteínas tienen cargas tanto negativas como positivas en sus cadenas, pero al momento de la muerte las cargas en las proteínas musculares son predominantemente negativas. Esta predominancia de cargas negativas causa que las proteínas se repelan entre sí, al igual que dos polos negativos en un imán. A medida que el pH del músculo desciende durante el proceso de

rigor-mortis, debido a la acumulación de ácido láctico, las cargas positivas del ácido cancelan las cargas negativas del músculo. Por lo tanto, a medida que el músculo se acerca al estado posterior del periodo *post-mortem*, existe en las proteínas un número más o menos igual de cargas positivas y negativas, llegando al nivel denominado como punto isoeléctrico. El punto isoeléctrico es el pH del músculo, en que el número de cargas positivas en las proteínas es igual al número de cargas negativas. En la carne, el punto isoeléctrico ocurre aproximadamente a un valor de pH entre 5.1 a 5.3. Diferentes estudios han mostrado que músculos en estado *pre-rigor* tienen alta CRA y mejores propiedades de emulsificación de grasas que el músculo en estado de *rigor* o *post-rigor*. Estas mejores propiedades están directamente relacionadas con un alto nivel de ATP que resulta en un estado más relajado y una mayor hidratación miofibrilar y solubilidad (Hamm, 1972) ya que impide la unión irreversible de actina y miosina. La instauración del *rigor-mortis* se asocia a una reducción de la CRA por la liberación de iones divalentes (Ca^{++} y Mg^{++}) y la consiguiente creación de puentes que aproximan las cadenas proteicas al combinarse estos iones con los grupos reactivos negativos de las proteínas.

3.6.2.3. El impacto del pH en la capacidad de retención de agua

La influencia del pH en el valor de la CRA de la carne, ha sido observada por numerosos autores y recogido en diversas revisiones (Hamm, 1960). Este parámetro tiene una importancia práctica muy grande, porque el almacenamiento y el procesado de la carne van asociados a variaciones en el pH. El agua ligada de la carne se muestra mínima en torno a valores de pH de 5,0-5,1. Este es el valor medio del punto isoeléctrico de las proteínas miofibrilares más importantes (actina 4,7; miosina 5,4) e indica el pH al que la carga neta de las moléculas proteicas es mínima (Hamm, 1986).

En el punto isoeléctrico, los filamentos gruesos y finos de las miofibrillas se mueven para aproximarse y reducen así el espacio disponible para que el agua entre los mismos. En este momento, las fibras musculares han agotado su ATP y sus membranas ya no consiguen retener el agua celular, afectando al color (se aclara), la textura (se ablanda) y el grado de exudación de la carne (aumenta) (Heffron y Hegarty, 1974; Sellier, 1988). Por encima y por debajo de este valor, los miofilamentos exhiben carga creciente y se repelen mutuamente resultando un aumento de volumen.

Lo anterior coincide con la afirmación de otros autores, que indicaron que, la capacidad de retención de agua de la carne disminuye, si el pH de la muestra es bajo o si el ritmo de disminución del pH es muy rápido (Bendall & Swatland, 1998). Son varios los factores que influyen en la capacidad de retención de agua, tales como la aparición de carnes con unas propiedades tecnológicas y organolépticas deficientes. Entre éstas se pueden destacar las carnes PSE (pálidas, blandas y exudativas), que presentan una acelerada disminución de pH y bajo pH final, capaz de provocar la desnaturalización de muchas proteínas, incluyendo aquellas implicados en la retención del agua ligada, por tal motivo la pérdida severa por goteo se encuentra a menudo en productos PSE, lo cual se relaciona con el desarrollo de la baja capacidad de retención de agua (Huff-Lonergan, 2002). En la **Figura 4** se muestra la relación que existe entre el pH y la capacidad de retención de agua de la carne.

Por otra parte, Fernández (2003) y Castellón et al (2005) entre otros, utilizaron el pH final como un indicador de carnes PSE (pálidas, blandas y exudativas) cuando los valores se comportaban por debajo de 5.8. Sin embargo Channon et al (2001) han sostenido que el empleo del pH como único indicador no conduce a conclusiones certeras sobre la calidad real de las carnes. Schafer *et al.*, (2000) han propuesto usar el pH a las dos horas junto a la temperatura, mientras que Kauffman *et al.*, (1992) y Toldrá y Flores (1999) han propuesto el pH y la CRA debido a la alta correlación de estos indicadores.

Sobre esta relación estrecha del pH con la capacidad de retención de agua, otros estudios plantean que, si el pH *post-mortem* disminuye de forma rápida, mientras la temperatura muscular es alta, la cabeza de la miosina se desnaturaliza y se contrae (Offer, 1991). La desnaturalización de la miosina, hace una contribución significativa a la contracción lateral miofibrilar. Este proceso es importante, ya que reduce la habilidad de la miosina de ligarse con agua, resultando en la disminución de la capacidad de retención de agua. Previamente, esta condición fue frecuente en los cerdos con prevalencia del gen Halotano (Briskey, 1964), lo cual provocaba el aumento de la incidencia PSE, así como aparecía como problema, en la carne de vacuno Australiano, alimentado con granos, debido a su ritmo de enfriamiento lento y rápida tasa de descenso del pH (Warner, Kearney, Thompson, y Polkinghorne, 2009).

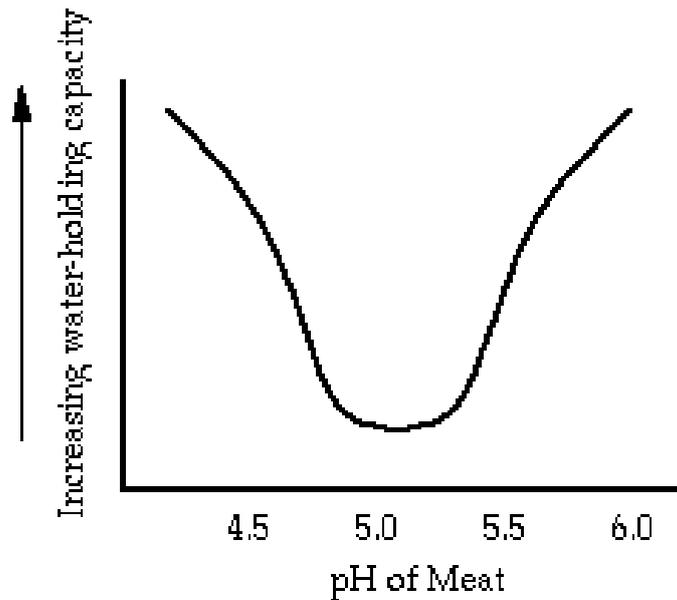


Figura 4. Relación del pH con la CRA (Fuente: <http://meat.tamu.edu/ansc-307-honors/conversion-muscle-to-meat/>).

3.6.3. Determinación de la capacidad de retención de agua

Hamm (1986) propone cuatro maneras de medir la capacidad de retención de agua, según la forma en que esté presente en el músculo y los mecanismos que la retienen en él:

1. Pérdidas por goteo (*drip loss*). Se determina la cantidad de agua que exuda de la carne sin aplicar fuerzas externas, por gravedad.
2. Pérdidas por descongelación (*thawing loss*). Se determina el agua exudada tras el proceso de congelación y descongelación, sin aplicar fuerzas externas.
3. Pérdidas por cocinado (*cooking loss*). Se determinan los fluidos liberados tras calentar la carne, sin aplicar fuerzas externas.
4. Jugo exprimible. Se realiza sobre carne cruda, incluso descongelada, y se aplican fuerzas externas originadas por compresión, centrifugación o succión.

Se han realizado intentos de normalizar los métodos de determinación de la CRA en carne. En concreto varios equipos bajo el patrocinio de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) han publicado propuestas para conseguir unos métodos de referencia internacionales (Honikel, 1997 y 1998). Según esto, se proponen los métodos de pérdidas por goteo de la carne cruda y pérdidas por

cocinado en el caso de la carne de vacuno y porcino. Sin embargo, en el caso de la carne de ovino hay que establecer una variante, puesto que los músculos son pequeños y es difícil obtener gran cantidad de muestra. Por ello, se propone que se determine la CRA mediante pérdidas del jugo exprimible por compresión (Pla, 2000).

Según el tipo de fenómeno que se utilice para liberar el agua unida al músculo, existen diferentes métodos de medida de la capacidad de retención de agua, que incluyen los mencionados anteriormente, y se amplían a continuación. Existen varias revisiones de las principales técnicas para determinar la capacidad de retención de agua en carne, como las de Trout (1988) y Offer y Knight (1988).

3.6.3.1. Métodos que utilizan la presión

Estos métodos fueron de los primeros que se desarrollaron (Childs y Baldelli, 1934) y el más comúnmente utilizado es el de compresión entre papel de filtro (Grau y Hamm, 1953). A lo largo del tiempo han sufrido diversas modificaciones (Sierra, 1973), de las que se han realizado revisiones como la de Hamm (1986), pero la base del método es situar una cantidad de carne picada entre dos papeles de filtro, a su vez entre dos placas de metacrilato que se ajustan a mano mediante tornillos y tuercas de mariposa, manteniendo la presión un tiempo determinado. Se asume que el área del papel mojado por el jugo que queda fuera de la carne es proporcional al agua liberada, y que la presión ejercida comprimiendo a mano las placas es tan grande, que las diferencias de presión no afectan a dicha área.

Las ventajas de este método son su sencillez, rapidez y la poca cantidad de muestra que se necesita. Sin embargo, también presenta muchas desventajas: la muestra debe ser muy homogénea debido a su pequeño tamaño; las pérdidas por evaporación, especialmente en ambientes con baja humedad, pueden provocar resultados erráticos; se destruye la micro-estructura de la muestra durante la medida, por tanto, los resultados se producen en condiciones diferentes al estado normal de la carne y su interpretación puede ser complicada. A pesar de estas desventajas, se ha encontrado que este método es moderadamente efectivo a la hora de predecir las el empleo de enzimas proteolíticas exógenas como, por ejemplo, la papaína, que pueden inyectarse al animal antes del sacrificio para mejorar la terneza (Carballo y López de Torre, 1991).

3.6.3.2. Método de cocinado

El cocinado de la carne es un factor de gran importancia pues influye en muchas características de su calidad. El calor altera el tejido conectivo y las proteínas miofibrilares, y de este modo puede influir significativamente en la dureza de la carne, en su jugosidad y en su sabor. Durante el cocinado se producen dos cambios fundamentales: las fibras musculares se hacen más duras por coagulación, y el tejido conectivo se hace más blando, por conversión del colágeno en gelatina (Lawrie, 1966; Davey y Gilbert 1974; Harris y Shorthose, 1988).

Aunque el efecto endurecedor de las fibras y el ablandador del colágeno dependen del tiempo y de la temperatura (Dransfield, 1977), es el factor tiempo el más importante en el caso del colágeno, mientras que para las fibras lo es la temperatura. Por ejemplo, para músculos o trozos de carne que poseen sólo pequeñas cantidades de tejido conectivo (por ejemplo, el lomo) se usan métodos de cocinado que combinan calor seco y tiempos cortos para minimizar el efecto endurecedor sobre las fibras musculares (Resurreccion, 1994). El primer proceso producido cuando se calienta la carne es la coagulación de las proteínas musculares, que comienza entre 30 y 40°C. Este proceso continúa y a los 50°C se completa la degradación de la α -actinina, que es la más lábil de todas estas proteínas. A los 55°C se vuelven insolubles las cadenas ligeras de la miosina, y al 70-80°C lo hace la actina. La miosina y la troponina son las proteínas más resistentes al calor y coagulan a 80°C (Bouton et al., 1975; Stabursvik y Martens, 1980; Resurreccion, 1994).

Simultáneamente a la coagulación se produce un descenso en la CRA de la carne que se produce entre 40 y 50°C y continúa hasta la temperatura final de cocinado (Hamm, 1966). La degradación del colágeno comienza alrededor de los 70°C, pero la gelatinización completa no se produce hasta alcanzar los 100°C, a menos que el calentamiento se continúe durante un prolongado periodo de tiempo (Lawrie, 1966). En sus estudios Machlik y Draudt (1963) encontraron en el músculo *m. semitendinosus* que los valores de la fuerza de cizallamiento variaban poco a temperaturas hasta 50°C, pero decrecían en muestras cocinadas a 54°C y alcanzaban un mínimo en las cocinadas a 60-64°C, se supone que debido a la contracción del colágeno. El color también se ve afectado por el cocinado. A medida que progresa el calentamiento, el color de la carne se convierte en marrón, y la intensidad de este color depende de la temperatura y de la cantidad de azúcares reductores presentes (Sharp, 1957; Pearson *et al.*, 1962, 1966).

Parte del cambio de color observado durante el calentamiento es resultado de la desnaturalización de la mioglobina y de la hemoglobina residual (Kramlich *et al.*, 1973; Hultin, 1985). Debido al calentamiento también se produce una fusión de la grasa, que junto con los cambios en la CRA de la carne dan lugar a variaciones en propiedades sensoriales como la jugosidad (Resurrección, 1994). El desarrollo del flavor de la carne se produce a temperaturas superiores a los 70°C (Cross *et al.*, 1986). Dentro de los métodos de cocinado, el calentamiento en seco se caracteriza por usar tiempos cortos y temperaturas altas, pero produce un endurecimiento excesivo y, generalmente, no se recomienda.

3.6.3.3. La pérdida por goteo

Dentro de los atributos más importantes de la calidad de la carne, hay la capacidad de retención de agua, ya que este factor tiene una influencia relevante tanto en la aceptación de la carne por parte del consumidor, como en la calidad final del producto (Den Hertog-Meischke, 1997). La pérdida de exudados de los tejidos musculares es inevitable, cualquier sistema encaminado a prolongar la vida útil de la carne refrigerada, está sujeta a sufrir pérdidas por goteo y este goteo es originado en los espacios entre los haces de fibras musculares y el perimisio, así como en los espacios entre las fibras y el endomisio (Offer y Cousins, 1992). Estos espacios mencionados comienzan a aparecer durante el desarrollo del *rigor-mortis*. Los factores que influyen en el proceso de la pérdida por goteo son, la temperatura del rigor y la integridad de la membrana (Honikel, 1988; Honikel *et al.*, 1986), el estrés *ante-mortem*, los factores del procesamiento y del envasado, también afectan la pérdida por goteo (Payne *et al.*, 1997). Según (Farouk *et al.*, 1990). Las *pérdidas* de exudado se ven agravadas por el corte de la carne en porciones más pequeñas. Se puede esperar la pérdidas de aproximadamente el 5% del peso del corte primario de la planta de empaque. La cantidad de goteo en la carne de corte también depende en gran medida de espesor de la muestra, de la relación de superficie a volumen, la orientación de la superficie de corte con respecto al eje de la fibra muscular y la prevalencia de los vasos sanguíneos grandes.

La pérdida por goteo, tiene una importancia muy alta, en la producción de la carne de cerdo, debido a su impacto financiero. El goteo es un problema sobre todo económico para el comercializador, por la pérdida de peso en el corte, provocando una acumulación del líquido alrededor de éste, afectando su apariencia, y como consecuencia un rechazo

por parte del consumidor (Otto *et al.*, 2004). Luego afecta de manera directa al procesador de carne ya que existe una pérdida de proteína animal a través de la merma líquida que generalmente desecha el consumidor (Offer y Knight, 1998). Estos investigadores también explicaron que “Las pérdidas de agua vienen ocasionadas por cambios en las miofibrillas, inducidas por la caída del pH *pre-rigor* y la fijación de las cabezas de miosina a los filamentos de actina en el *rigor*, donde las miofibrillas se contraen debido a la caída del pH. La desnaturalización de las proteínas puede también contribuir a la reducción de la CRA, particularmente en condiciones de caídas rápidas del pH *pre-rigor*. El fluido que como consecuencia es expulsado, se acumula entre los fascículos musculares. Cuando el músculo es cortado, este fluido drenará desde la superficie por acción de la fuerza de la gravedad si la viscosidad del fluido es lo bastante baja y las fuerzas de capilaridad no lo retienen” (Offer y Knight, 1988).

Varios estudios han demostrado la correlación que existe entre el agua extra-miofibrilar *post-mortem* y la pérdida por goteo. La edad del animal, peso al sacrificio, tipo de músculo y el ritmo de disminución del pH son factores que contribuyen al incremento del agua extra-miofibrilar, durante el desarrollo del *rigor-mortis* (Pearce *et al.*, 2011). Tal como afirman Offer y Knight (1988) cuando se corta una canal, aparece una solución acuosa de color roja en la superficie, que afecta su peso, así como cambia el aspecto atractivo de la carne para los consumidores. La cantidad del exudado de las canales, es de poca importancia al principio, pero aumenta su volumen tras la partición de la canal en dos (marcando un aumento de 0,1 a 1%, después de dos días de refrigeración), más aún durante el despique de las canales (registrando un aumento de 2 a 6% del peso, tras cuatro días en refrigeración). Los mencionados autores también reportaron que los procesos de congelación y descongelación incrementan estas pérdidas e incluso pueden duplicarse, llegando a un nivel de 25% de pérdidas, en casos repetitivos de congelación y descongelación. En la **Figura 5** se pueden observar las diferencias de color y cantidad del exudado entre las tres categorías de carne (PSE, normal y DFD). Van Laack y Smulders (1992) encontraron pérdidas por goteo a las 24 horas en el músculo *Longissimus dorsi* de cerdo, PSE, normal y DFD de 5,3 y 1,7% respectivamente. Mientras que, otros autores, han reportado perdidas de agua 10,4; 7,4; 3,3 y 1,2% en la carne PSE, RSE (Roja, Blanda y Exudativa), Normal y DFD refrigeradas durante 48 horas (Kauffman *et al.*, 1995).

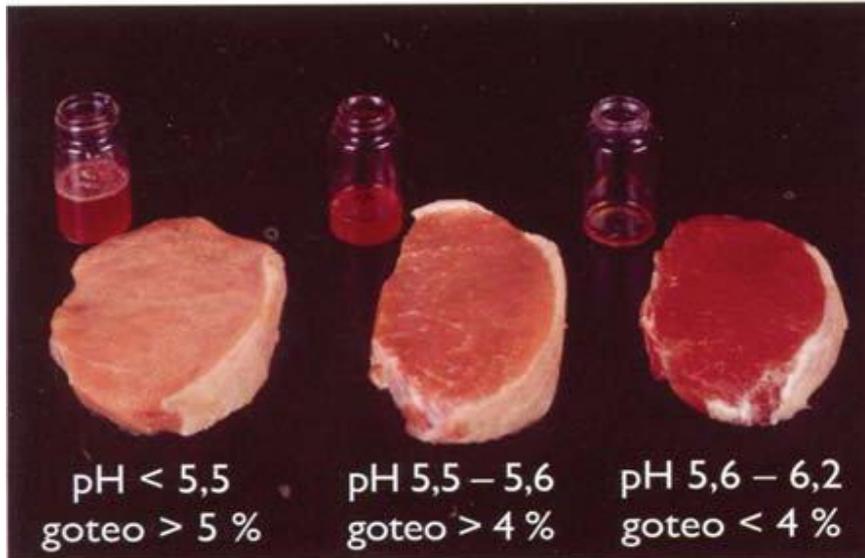


Figura 5. Diferencias entre carne PSE, normal y DFD (Fuente: Miralles, 2007).

Por otra parte, dentro del mismo enfoque metodológico existen varias modificaciones; por ejemplo, la pérdida por goteo que presenta pérdidas de agua, debido a la gravedad, se podría realizar como método de la bolsa (Honikel, 1998), el procedimiento de contenedor de jugo de carne (pérdida por goteo EZ; Christensen, 2003), la pérdida de goteo de la bandeja (Allison et al, 2002; Lundstrom y Malmfors, 1985) o el método de papel de filtro (Kaufmann *et al.*, 1986). En base a las afirmaciones anteriores, se puede decir que el porcentaje de pérdida de agua por goteo se ve afectada por el tiempo de almacenamiento de la carne fresca.

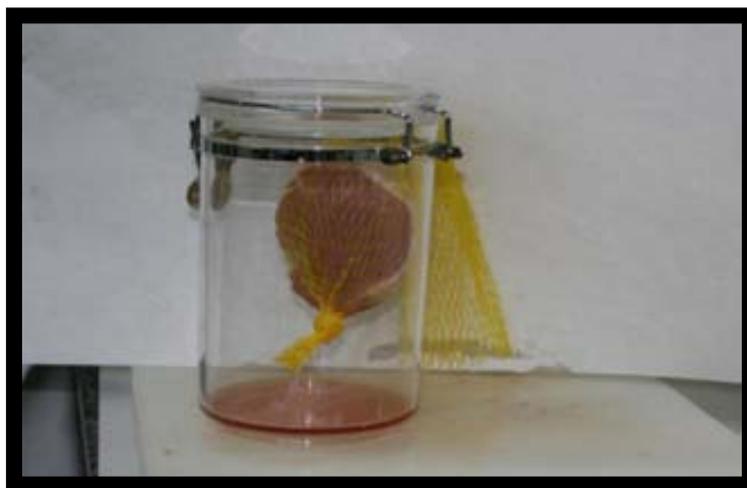


Figura 6. Método de la pérdida por goteo más utilizado actualmente: *The bag Method* (Fuente: Honikel, 1997).

Con respecto al efecto de tratamiento por diferentes técnicas, sobre la pérdida por goteo en la carne de cerdo, cabe mencionar un trabajo experimental realizado en el IRTA (Monells), con el objetivo de comparar la descongelación por radiofrecuencia y convencional (en cámaras de refrigeración), donde se analizaron las diferencias en cuanto a las pérdidas por goteo, registradas entre diferentes muestras de lomo de cerdo, descongeladas mediante las técnicas de radiofrecuencias y el método convencional, en la que se observó un efecto significativo del tratamiento de la materia prima. Los lomos descongelados mediante el método convencional presentaron las mayores pérdidas por goteo (18,88%), siendo significativamente diferentes de los valores observados para los lomos descongelados por radiofrecuencias (16,41%). En dicho estudio se ha podido confirmar el efecto de los distintos tratamientos, con respecto a las pérdidas por goteo (Picouet, 2013, comunicación personal). Traore *et al.*, (2012) en sus estudios recientes sobre la capacidad de retención de agua notificaron la asociación de una alta pérdida por goteo, con la oxidación de las proteínas miofibrilares, es decir a mayor nivel de oxidación de las proteínas cárnicas (actina y miosina) se han observado altas pérdidas por goteo.

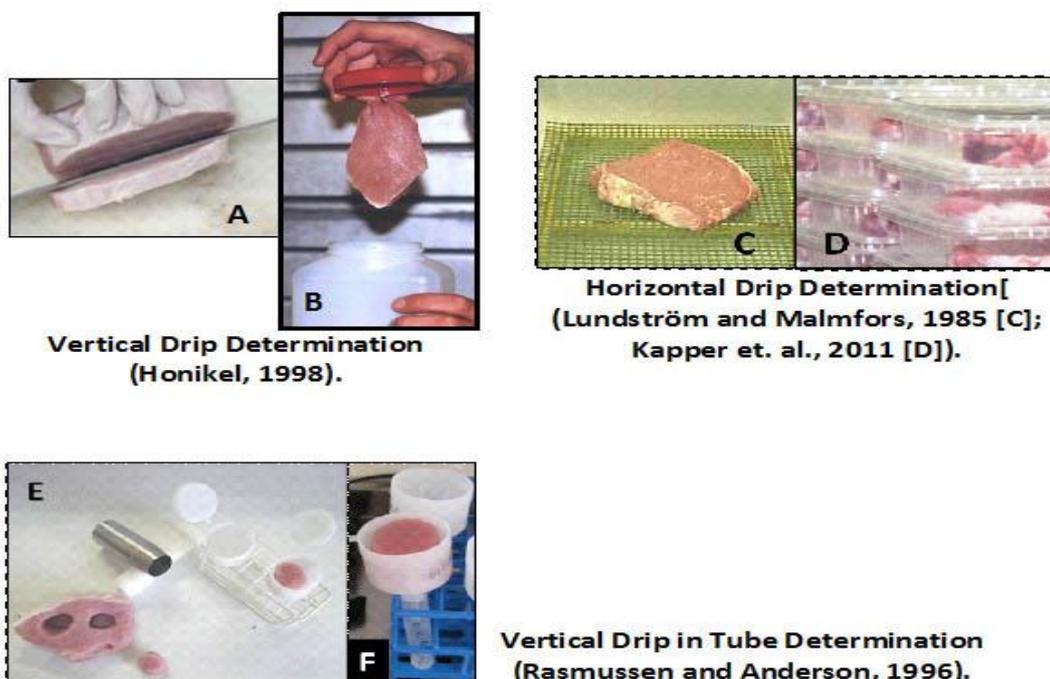


Figura 7. Representación gráfica de técnicas de pérdida por goteo (Fuente: www.porktraining.org, 2012).

Por último por su importancia trascendental, sobre el tema de la pérdida por goteo, se citan los factores determinantes establecidos por (Offer y Knight, 1988) que consisten en lo siguiente “grado de corte de la musculatura, tamaño del trozo de carne, método de sujeción/suspensión, tiempo tras el sacrificio, pH final de la carne, tasa de glucólisis *post-mortem* y condición PSE, temperatura *post-mortem* previa al *rigor-mortis*, acortamiento muscular, fuerzas en el empaquetado o embalado, temperatura de almacenamiento, congelación y descongelación, especies y corte. Además de todos estos factores, la cantidad de pérdida por goteo (PG) depende de factores intrínsecos como la genética del animal y el tipo de fibra muscular bajo estudio. De tal forma, que existe una metodología estandarizada para el procesado de las muestras de carne que van a ser estudiadas (Honikel, 1998)” esta conclusión de de los citados autores, nos permite reflexionar que, a la hora de evaluar el proceso de la pérdida por goteo, hay que tener en cuenta una serie de factores interrelacionados entre si, que permitirán llegar a conclusiones aceptables.

3.6.3.4. Otras técnicas utilizadas para la determinación de la CRA

El progreso alcanzado en las nuevas metodologías en la determinación de la capacidad de retención de agua, se debe mucho a la mejora de los instrumentos, junto a los equipos con capacidad de análisis más rápido y mejor que los humanos. El método de espectrofotómetro de fibra óptica reportado por (Swatland, 1991 y Swatland & Finlay, 1997) es una técnica que permite medir un amplio rango de propiedades como es, la capacidad de retención de agua y funcionalidad de proteínas relacionadas con el pH; El método del tensiómetro descrito por (Kim *et al.*, 1993) que es capaz de detectar las variaciones de los fluidos libres en el músculo y puede utilizarse de forma rápida sin alterar el valor comercial del producto y también cabe mencionar la Técnica de Resonancia Magnética Nuclear (RMN) (Trout, 1988 y Kopp, 1988) basado en la medida del tamaño de los poros y capilares en los que el agua esta inmovilizada. Esta técnica por ser no invasiva, no afecta la micro-estructura del producto, aunque precisa instrumental de elevado precio, recientemente la técnica de reflectancia transversa de la resonancia magnética nuclear, se ha aplicado de forma exitosa, para caracterizar estructuración del agua dentro de la carne, además dicha técnica se ha utilizado para determinar la(CRA) y otros aspectos de la calidad de la carne relacionados con la movilidad y la distribución del agua, así como el estudio dinámico de los cambios físicos, que ocurren durante la conversión del músculo en carne (Pearce *et al.*, 2011).

Al analizar el problema de la evaluación de CRA existen una variedad de métodos que difieren en muchos factores (como el sitio de muestreo, tamaño y forma de las muestras de carne, el tipo y duración de los tratamientos y el principio físico de liberación de agua) y a menudo no se correlacionan bien unos métodos con otros (Allison *et al.*, 2002; Merour *et al.*, 2007).

En consecuencia, los resultados difieren considerablemente entre los estudios. Además de la variabilidad metodológica un punto crítico o una limitación de la determinación de la CRA es que, los métodos son largos y destructivos y por lo tanto no son aptos para la aplicación en línea. Las dificultades en la medición y el control de la CRA en condiciones industriales, han impulsado la exploración y la introducción de nuevos métodos analíticos rápidos, tales como la espectroscopia de infrarrojo cercano (NIR).

A diferencia de los métodos convencionales la espectroscopia NIR ofrece la determinación rápida y sencilla de muchos parámetros, su desventaja es que se necesita una calibración para cada propósito individual. Los estudios sobre este tema son bastante numerosos y muestran una gran variabilidad de los resultados en términos de la capacidad de predicción de esta tecnología (Prieto *et al.*, 2009).

La industria de procesamiento de carne de cerdo se ha especializado en la clasificación de peso y características de canales y cortes primarios. La clasificación para la capacidad de retención de agua (CRA) no se había logrado principalmente debido a la falta de métodos rápidos no invasivos y de aplicación en línea. Sin embargo, la CRA es uno de las más importantes características de calidad de carne de cerdo, ya que mejora la apreciación sensorial de carne de cerdo por los consumidores, afecta a la cantidad de carne vendible, mediante la reducción por pérdida de goteo, y aumenta el rendimiento de procesamiento de los productos elaborados. La industria de procesamiento de carne de cerdo, podría favorecer segmentar el mercado, para satisfacer las necesidades de los consumidores, con productos de carne de cerdo de alta calidad, utilizando las tecnologías moderna como el NIR (Van der vorst, 2011).

Estos métodos a veces son utilizados conjuntamente pues las limitaciones de cada uno aparecen complementadas o paliadas por la utilidad del otro. Entre estos varios métodos que determinan la CRA la decisión de su uso depende de diversas circunstancias incluyendo el tiempo requerido, coste inicial, adaptabilidad, tipo de producto a ser medido y propósito del estudio.

Sobre la capacidad de retención de agua, de manera general se puede concluir que: Es recomendable establecer programas de control efectivos, en los que participen diferentes departamentos de las empresas cárnicas, y sectores implicados junto con la cadena de producción del animal vivo. Pueden producirse pérdidas importantes de líquido en casi todas las operaciones de la cadena de producción. El controlar estas pérdidas, depende de un plan integral para la monitorización de la CRA, incorporando, cuando sea posible, nuevas tecnologías que permitan su evaluación en tiempo real, de forma que puedan modularse los procesos de control.

3.7. El color de la carne

El color es el principal atributo que valora el consumidor a la hora de comprar carne fresca y determinados productos cárnicos, siendo uno de los factores que determina el valor del producto en el momento de su comercialización y por lo tanto uno de los parámetros que se utilizan para medir la calidad de la carne (Mancini y Hunt, 2005). El consumidor relaciona el color de la carne con la calidad sensorial y microbiana (carne sana y comestible) de la carne. Judge *et al.*, (1989) y Mancini y Hunt (2005) indican una serie de factores que afectan al color, tales como: genética, alimentación, conservación de la carne, etc.

Según Onega, (2003) el color se define como la sensación resultante de estimular la retina por las ondas luminosas comprendidas en la región visible del espectro. Otros atributos relacionados con el color son el tono y la saturación de un color, y la luminosidad. El tono es la propiedad del color definida por el estado químico del pigmento. La saturación se refiere a la cantidad de mioglobina presente, y la luminosidad es función del estado físico de la superficie de la carne, y se define como el grado de luminosidad de un color con a un gris neutro en una escala que se extiende del negro absoluto al blanco absoluto.

El color de la carne se debe en gran parte a la proteína hidrosoluble conocida como mioglobina. La mioglobina es usada en el músculo vivo para almacenar oxígeno. La cantidad o concentración de mioglobina en carne está relacionada con varios factores, tales como la especie de animal, la edad del animal, y el tipo de fibra muscular. Por ejemplo, la carne de res contiene más mioglobina que el cerdo, lo cual obviamente

explica por qué la carne de res es más roja que el cerdo. La carne de ballena es posiblemente la más oscura, debido a la cantidad de oxígeno que el músculo de una ballena necesita almacenar bajo el agua (Livingston y Brown, 1981).

La mioglobina es el pigmento principal del músculo esquelético, aunque también se encuentran cantidades importantes de hemoglobina y otros pigmentos como la catalasa y los citocromos, siendo menor su contribución al color (Forrest, 1979). En el tejido muscular donde se ha llevado a cabo un sangrado adecuado, la mioglobina constituye 80-90% del pigmento total. La mioglobina está formada por una porción proteica denominada globina y una porción no proteica. El grupo hemo que contiene en su parte central una molécula de hierro, es de suma importancia debido a que, de su estado de oxidación dependerá la coloración final adquirida por la carne. Cuando el hierro está oxidado (estado férrico) no puede combinarse con otras moléculas, incluyendo el oxígeno. Si se encuentran en estado reducido (estado ferroso) se combina fácilmente con el agua o con el oxígeno. El color deseable en carne se debe a que es más conveniente tener la molécula de hierro en su estado reducido para que interaccione con el oxígeno y produzca la coloración rojo intenso deseable en la carne (Forrest, 1979). Este pigmento oxigenado se denomina oximioglobina.

García, (2003) plantea que, el color normal de la carne de cerdo fluctúa entre un rojo y rosado y la uniformidad en el color es usualmente apreciable en músculos individuales. El consumidor puede estar en desacuerdo con la variación en el color de la carne, bien sea por demasiado pálido o demasiado oscuro y esta variación del color de la carne de cerdo puede obedecer a los siguientes factores:

El color más oscuro puede resultar a causa de:

- Aumento de oximioglobina (pigmento de color) por edad avanzada del animal; o músculo o grupo de músculos con mayor actividad fisiológica (músculos flexores o extensores).
- Penetración de O₂ en la superficie de la carne
- Contaminación bacteriana
- Deshidratación en la superficie
- Condición DFD (oscuro, firme y seco) de la carne.

3.7.1. La base química del color de la carne

En ausencia de oxígeno (O_2), la carne fresca es de color púrpura-rojo. Este es el color del pigmento de la mioglobina. Al exponerse al aire la mioglobina absorbe oxígeno y la forma oxigenada del pigmento se llama oximioglobina, que es un color rojo brillante y produce el '*bloom*' apreciado por el consumidor.

Mientras que la oxigenación se produce de forma progresiva, el color rojo brillante se tarda por lo menos unos 30 minutos en aparecer y la capa oxigenada es solo de 3-4 mm a una temperatura de $0^\circ C$, menos aun en temperaturas mayores. Después de la exposición prolongada al aire, la carne se vuelve gris-marrón o marrón y este pigmento marrón se conoce como metamioglobina. Tanto los sistemas enzimáticos de la carne, como los factores ambientales, tienen una influencia fundamental en la velocidad del cambio de los pigmentos de un estado a otro. En términos generales, los cambios de pigmentación son causados, por factores que provocan la reducción del oxígeno disponible en la superficie de la carne o por factores que causan la disociación del oxígeno presente en la oxihemoglobina. Con esto en mente se puede decir que los factores primordiales para el mantenimiento del color óptimo de la carne son: la temperatura, el pH, el grado de maduración de la carne y la cantidad de oxígeno disponible (Revista Australiana, de tecnología de carne, 2006).

Según Singh *et al.*, (2011) el color de la carne fresca se ve influido por los diferentes estados químicos de la mioglobina, ya que se produce una interconversión continua entre las tres formas básicas del pigmento, así el color varía según la proporción relativa y distribución de estos pigmentos. Hay tres tipos de pigmentos que son:

- Desoximioglobina o mioglobina reducida (hierro ferroso, Fe^{++}). Mb de color rojo púrpura, se encuentra en el interior de la carne, subsiste tras la muerte por la propia actividad reductora del músculo.
- Oximioglobina o mioglobina oxigenada (hierro ferroso, Fe^{++}), MbO_2 . formada cuando la Mb se pone en contacto con el aire con el consiguiente oxigenación del pigmento, tiene un color rojo brillante y es el color deseado por los consumidores por lo que habrá que intentar alargar su presencia.
- Metamioglobina o mioglobina oxidada (hierro férrico, Fe^{+++}), MetMb. Se forma por exposición prolongada de la MbO_2 al oxígeno o directamente desde la mioglobina reducida cuando las presiones de oxígeno son bajas (alrededor de 4

mm). Es de color marrón-pardo y es motivo de rechazo por parte de los consumidores.

La mioglobina es una proteína globular que posee un centro activo protohemo (ferrous protoporphyrin IX), que es responsable del enlace O₂-Mb, y su función es almacenar y facilitar la difusión del oxígeno desde los capilares a las mitocondrias; por ello es capaz de asociarse y disociarse rápidamente con la molécula de oxígeno (O₂), en función de la presión parcial a la que este expuesta la carne (Aspe *et al.*, 2008).

Durante el periodo *post-mortem*, la mitocondria del músculo sigue metabolizando oxígeno, pero dicho consumo y la formación de dióxido de carbono, decrecen a medida que transcurre el tiempo. Las mitocondrias pueden influir en la estabilidad redox de la mioglobina por su consumo de O₂, que hace disminuir la presión parcial del mismo; en la reducción de metamioglobina debido a las reacciones de la cadena de electrones y/o en oxidación de los lípidos de la membrana de la mitocondria. Para mantener estable el color deseado de la carne, es necesaria la reducción de la metamioglobina y esto depende de los sistemas enzimáticos y de las reservas de NADH que van disminuyendo con el tiempo *post-mortem* (Singh *et al.*, 2011). En ausencia de oxígeno (O₂), la carne fresca es de color púrpura-rojo.



Figura 8. Piezas de carne de cordero con la mioglobina en forma de oximioglobina (izquierda) y metamioglobina (derecha) (Fuente: Roncalés, 2006).

Este es el color del pigmento de la mioglobina. Al exponerse al aire la mioglobina absorbe oxígeno y la forma oxigenada del pigmento se llama oximioglobina, que es un color rojo brillante y produce el 'bloom' apreciado por el consumidor. Mientras que la oxigenación se produce de forma progresiva, el color rojo brillante se tarda por lo menos unos 30 minutos en aparecer y la capa oxigenada es solo de 3-4 mm a una

temperatura de 0°C, menos aun en temperaturas mayores. Después de la exposición prolongada al aire, la carne se vuelve gris-marrón o marrón y este pigmento marrón se conoce como metamioglobina (Singh *et al.*, 2011).

3.7.2. Factores de variación del color

Existen diferentes fuentes de variación del color en el músculo y la cantidad de pigmentos influye mucho en el color de la carne, durante una rápida hemorragia, puede producirse vasoconstricción (Hall *et al.*,1976) de manera que la carne de animales desangrados en el sacrificio, puede contener hemoglobina procedente de residuos de eritrocitos(Warris,1977; Warris y Rhodes,1977) estimaron que la carne fresca contiene una media de 0,3% de sangre residual, la concentración de mioglobina es, sin embargo, el factor principal de determinación del color rojo de la carne. Asimismo, influye sobre el color de una pieza de carne la proporción de grasa y tejido conjuntivo que posea y la existencia de otros pigmentos como la Catalasa, Citocromos, Flavinas, Vitamina B₁₂, etc. (Clydesdale y Francis, 1982; Fox, 1987). Según Honikel, (1998), el contenido de pigmentos está muy relacionado con la especie, la raza, el sexo, la edad y el tiempo de nutrición animal, el mismo autor también ha reportado que las condiciones del periodo pre y post-sacrificio, también afectan al color de la carne al variar la velocidad e intensidad de caída del pH, que provoca la desnaturalización de las proteínas y el acortamiento de la estructura muscular, así como las condiciones de almacenamiento y comercialización de la carne, que alteran los procesos de oxigenación y oxidación influyentes en el color.

La carne de cerdo comercial de 90-100 kg de peso vivo se caracteriza por tener un contenido en mioglobina en torno a 2 mg/100 g, que es inferior a la de la carne de rumiantes. La percepción del color de un producto es la respuesta del sistema visual de un observador real al estímulo producido por la energía radiante que procede de la capacidad de reflexión por la materia de las diferentes radiaciones luminosas del espectro visible. La comisión internacional del color CIE define el color percibido como el atributo visual que se compone de una combinación cualquiera de contenidos cromáticos y acromáticos. Este color no depende sólo del color físico del estímulo sino también de su tamaño, forma, estructura y estímulos que le rodean, aparte del estado del

sistema visual del observador y de su experiencia en situaciones de observación semejante o relacionada (Delgado, 2008).

Coincidiendo con este argumento Warriss, (2000), plantea que la dispersión de la luz en la superficie de la carne, probablemente se debe a las diferencias en los índices de refracción del sarcoplasma y miofibrillas. Cuanto mayor sea la diferencia, mayor es la dispersión y más pálida aparece la carne. La contracción de la red cristalina de los miofilamentos, aumenta la cantidad de luz reflejada de la carne. En una alta dispersión de luz, la cantidad de luz absorbida es baja y la importancia de los pigmentos hemo (mioglobina) en la absorción selectiva de luz verde, y por lo tanto se muestra rojo, sufriendo una reducción. Esto hace que la carne PSE se vea menos roja y más amarilla. El pH bajo también tiende a promover la oxidación de los pigmentos hemo de la mioglobina de color púrpura o rojo (Mb) y mioglobina (MbO₂) a la metamioglobina de color marrón (metMb).

Por otra parte, existe una influencia en el color de la carne por parte de factores biológicos, bioquímicos y extrínsecos.

3.7.2.1. Factor biológico

La variabilidad del color, debido a los músculos es importante (Ledward, 1971; Hood, 1980; Hutchings, 1994), existiendo una variabilidad metabólica de cada tipo de músculo en una especie y edad determinadas (Monin, 1989). De forma general, los músculos ricos en pigmentos hemínicos que poseen una intensa actividad respiratoria, caso del músculo diafragma medio, tienen un metabolismo aerobio importante con fibras musculares de tipo rojo lento (Carrick *et al.*, 1984) presentan la capacidad reductora más elevada, caracterizada por una elevada inestabilidad de color; en el lado contrario, el músculo tensor de la fascia lata, con un marcado metabolismo anaerobio (Lacourt, 1973), compuesto por fibras blancas rápidas (Renner, 1982), es estable en el plano de color en función de su escasa actividad respiratoria. El músculo *Longissimus dorsi* es intermedio, formado por fibras del tipo rojo rápido. Por tanto, existe una variabilidad de la cantidad de pigmentos (Mb y pigmentos respiratorios) entre músculos que puede deberse a un diferente tipo metabólico (Hunt y Hedrick, 1977a), pudiendo variar de simple a doble en distintos músculos de la misma canal (Monin, 1989). El tipo muscular influye también sobre la velocidad de oxidación, siendo la profundidad de la capa superficial rojo-vivo de la OxiMb (forma oxigenada de la Mb) inversamente

proporcional a la actividad respiratoria de los músculos (Lawrie, 1953). Dependiendo del corte de carne, su composición de fibras musculares, contenido de grasa y mioglobina, la pérdida de color aceptable para anaquel varía entre sí. El *Longissimus lumborum* (LL) al parecer es más susceptible a la oxidación que el *Semimembranosus* (SM) y este más que el *Gluteus medius* (GM). (Liu *et al.*, 1996).

Se admite que la conservación del color rojo vivo de la carne depende de un triple equilibrio de los factores bioquímicos, las actividades respiratorias (tasa de consumo de O₂), auto-oxidación de la mioglobina y reducción enzimática de la MetMb (Lawrie, 1983 y Ledward, 1984), que a su vez puede ser afectada por el periodo de tiempo *post-mortem*, la temperatura y el comportamiento del pH de músculo (Ledward, 1985). Así pues, no existe siempre una relación simple (Ledward, 1985) cuando se compara estabilidad del color y tipo metabólico muscular, puesto que estos fenómenos se hallan regidos por la histoquímica. Por otra parte, la mioglobina obtenida a partir de un músculo porcino pálido y exudativo (PSE) es menos estable que la de un músculo normal porcino (Bemmers y Satterlee, 1975). Incluso en el interior de un mismo músculo puede manifestarse una heterogeneidad en la intensidad de la pigmentación muscular como señalan Hunt y Hedrick (1977a) en el caso del semitendinoso de bovino.

3.7.2.2. Factor bioquímico

Desde hace mucho tiempo, se conoce que el progreso extremo del pH durante la conversión de músculo a carne, ha sido reportado por influir en las características de color de la carne de cerdo y como se ha explicado anteriormente, la carne DFD es el resultado de limitadas reservas de glucógeno muscular en el momento del sacrificio, que se traduce en un pH final alto de la carne (> 6,0). La carne DFD tiene una estructura macromolecular densa y sin espacios extra-miofibrilares pronunciadas y aparece de color oscuro, ya que sólo una cantidad muy pequeña de la luz incidente se dispersa en la misma (Govindarajan, 1973).

Además, en estos altos valores de pH, las enzimas endógenas que consumen oxígeno en la carne son activas y promueven la formación del pigmento muscular desoximioglobina (Mb) reducida de color púrpura (Govindarajan, 1973; Ledward, 1992). Esto está en contraste con la carne normal, donde el valor de pH (5.5) está cerca del punto isoeléctrico de la miosina y da lugar a un aumento de los espacios extra-miofibrilares y por este medio aparece una estructura macromolecular menos densa. A

la exposición de la luz en la superficie, estaría dispersada más luz incidente, lo que aumenta la luminosidad de la superficie, donde el pigmento rojo cereza del músculo, oximioglobina (MbO₂), es dominante (Govindarajan, Ofreer *et al.*, 1989).

Las características PSE, desencadenados por un descenso temprano y rápido del pH *post-mortem* (pm) acelera la inactivación de las enzimas mitocondriales, que consumen oxígeno y promueve la oxigenación del pigmento muscular oximioglobina (MbO₂) de color rojo brillante (Govindarajan, 1973). Junto con la desnaturalización parcial de la miosina y proteínas sarcoplásmicas, aumenta la dispersión de la luz, que es característica de la superficie de la carne PSE (Bendall y Swatland, 1988).

En consecuencia, cualquier forma de estrés, incluso durante un manejo cuidadoso en el período previo al sacrificio, provoca una alta tasa de glucólisis *post-mortem* y un aumento simultáneo de la temperatura en los cerdos, tanto homocigotos como heterocigotos para el gen halotano (Lundstrom, Essen-Gustavsson, Rundgren, Edfors-Lilja, y Malmfors, 1989; Mitchell y Heffron, 1982). Esto se ha demostrado que tienen un efecto notable sobre el color de la carne de cerdo (Fábrega *et al.*, 2002; Fernández, *et al.*, 2002; Hamilton *et al.*, 2000).

3.7.2.3. Factores extrínsecos

Dentro de los factores que influyen en la variación del color de la carne, también hay el sexo, la raza, la edad del animal, y los factores claramente extrínsecos como la temperatura, disponibilidad de oxígeno, la exposición a la luz, el envasado y el crecimiento de microorganismos en la superficie de la carne. Sin embargo como indicaron (Faustman y Cassens, 1990; Renner, 1990, 1999), los mecanismos involucrados en la descoloración de carne no son ni bien establecidas, ni completamente entendidos. A continuación se tratarán los factores extrínsecos, como la especie, la temperatura, la disponibilidad de oxígeno y el efecto de la luz en el color de la carne.

❖ Especie

La carne de bovino consume menos oxígeno que la de ovino y se conserva mejor (Atkinson y Follet, 1973). Dentro de los mamíferos, las ballenas, la foca y otros cetáceos son los que tienen una mayor cantidad de mioglobina muscular. Lawrie (1985) mostró que las diferencias de cantidad de mioglobina (Mb) en el músculo *Longissimus dorsi* (LD) pueden explicar en parte, las variaciones de color de las carnes. Según

Sciricker *et al.* (1982), el contenido total de hierro difiere entre músculos en cerdo y bovino no siendo tan acusada en el cordero.

En los cerdos, las variaciones de color pueden haber sido seleccionados de forma inadvertida durante tanto tiempo, ya que los cerdos eran criados en parte, para conseguir alta ganancia muscular. Brewer *et al.*, (2002) informaron que la línea genética tenía efectos significativos en el valor de a^* (enrojecimiento), que varió desde 9,2 hasta 11 (de un 15 escala de puntos) entre los cerdos de líneas genéticas, que se sabe que sufren de defectos de color (los Halotano positivos, la raza Pietrain y los de la raza Hampshire). Debido a que el color es una función relacionado con la tasa de disminución del pH, la genética puede influir tanto en el color absoluto (rosa oscuro, de color rosa pálido) y como en la uniformidad del mismo.

Tabla 4. Concentración de Mioglobina en diferentes especies (Fuente Livingston y Brown, 1981).

Tipo de especie y músculo	Cantidad de mioglobina (mg/g)
Corazones de vacuno	20-30
Caballo	20
Vacuno	15
Ovino	10
Porcino	5
Porcino PSE	1-3
Gallinas	<5

❖ La temperatura

La reducción de la metamioglobina es acelerada, a medida que aumenta la temperatura in situ (Cutaia y Ordal, 1964; Hutchins, Liu, y Watts, 1967; Stewart *et al.*, 1965; Zimmerman y Snyder, 1969) y según (Stewart *et al.*, 1965), el efecto de la temperatura sobre la actividad reductora en la MetMb, dependía de la forma de presentación de la carne (entera o picada). La temperatura óptima para la actividad de reducción de metamioglobina, parece ser dependiente de la especie (Al-Shaibani *et al.*, 1977). Por otra parte, hay indicaciones de autores que subrayan que, la reducción de la MetMb, es también dependiente del pH (Reddy y Carpenter, 1991), reportaron que un aumento de

temperatura desde 4 a 30°C triplicó la reducción de la actividad MetMb en el músculo *longissimus dorsi* (LD) de bovino a un valor de pH de 6,4 y 7,0, mientras que los efectos de temperatura eran insignificantes a un pH de 5,3. La influencia de factores ambientales, sobre el efecto del pH en la actividad reductora de MetMb, fue reportado por Lanier *et al.*, (1978) que encontraron que, la reducción de MetMb en la carne molida, en suspensiones y extractos de carne se incrementó con el aumento de pH (5,6 a 7,0) cuando las muestras se mantuvieron en atmósfera de nitrógeno durante 1 hora, la actividad exhibió un pico máximo a pH 6,2 a 6,6.

❖ El oxígeno

El efecto del oxígeno sobre la actividad de la reducción de la MetMb ha generado polémica. Watts *et al.* (1966) propusieron desde el principio que la reducción de metamioglobina era un fenómeno anaeróbico y una investigación posterior encontró que dicha reducción de MetMb se incrementó en condiciones anaeróbicas en comparación con las condiciones aeróbicas (Al-Shaibani *et al.*, 1977a; Okeeffe y Hood, 1982; Shimizu Y Matsuura, 1968; Yamanaka *et al.*, 1973). Más adelante, Ledward (1985) informó que la reducción de MetMb fue oxígeno independiente. Sin embargo, Echavarne *et al.*, (1990) reportaron diferencias significativas en condiciones aeróbicas y anaeróbicas, con respecto a la reducción de la MetMb en cuatro músculos diferentes. Esto coincide con un informe anterior de (Hagler *et al.*, 1979), que mostraron que, las tasas medidas de reducción de metamioglobina utilizando la enzima purificada, fueron idénticos en condiciones anaerobias y aerobias. A demás Mikkelsen *et al.*, (1999) reportaron que el sistema enzimático que consume el oxígeno en la superficie de la carne, fue sensible a la presión del dicho gas, mientras que la reducción de MetMb fue menos afectado por la presión de oxígeno.

❖ El efecto de la luz

Zhu y Brewer (1998) reportaron que, la carne de cerdo almacenada expuesta a la luz y con la temperatura de 4°C tenía menor reducción de la actividad de MetMb que, la que fue almacenada en la oscuridad a la misma temperatura. En sus hallazgos coinciden con Ledward (1992) quien había explicado que, la disminución en la actividad de reducción de la MetMb, en las muestras expuestas a la luz, podría mostrar la rápida descoloración de la carne, ya que no se consideró el efecto potencial de la foto-oxidación en la formación MetMb.

3.7.3. La vida útil del color de la carne

El color de la carne influye en la compra y venta tanto en la venta al por menor como en la venta al por mayor así, como en las decisiones del consumidor, siendo el color rojo brillante de la carne la referencia fundamental de los consumidores, a la hora de relacionar con la frescura y calidad.

Debido a que el color rojo brillante es reforzada por altas concentraciones de oxígeno, la mayoría de las carnes que se muestran al aire libre, envasados con envolturas permeables al oxígeno, o selladas en atmósfera modificada rica en oxígeno normalmente alcanzan en torno al 80%. La carne presentada de esta forma por lo general se descolora tomando un color verdoso, antes del crecimiento bacteriano, que causa su deterioro. .



Figura 9. La presencia del color rojo brillante '*blooming*' (oximioglobina) y el desarrollo de la coloración marrón en vacuno (metamioglobina) (Fuente:Meat Technology Update, 2006).

Tal como se puede apreciar en la **Figura 9**, a medida que pasa el tiempo se observa el cambio de color en la carne fresca del vacuno, pasando de un color rojo brillante a un

color marrón, después de 3 días de venta al consumidor. Según el documento de la Revista Australiana, de tecnología de carne (2006) tanto los sistemas enzimáticos de la carne, como los factores ambientales, tienen una influencia fundamental en la velocidad del cambio de los pigmentos de un estado a otro. En términos generales, los cambios de pigmentación son causados, por factores que provocan la reducción del oxígeno disponible en la superficie de la carne o por factores que causan la disociación del oxígeno presente en la oxihemoglobina. En base a esto se puede decir que, los factores primordiales para el mantenimiento del color óptimo de la carne son: la temperatura, el pH, el grado de maduración de la carne y la cantidad de oxígeno disponible.

Por su importancia relevante están enumeradas de la siguiente forma, las conclusiones de dicha revista, en torno al color de la carne:

- “Cuanto mayor sea la concentración de mioglobina, más oscura será el color de la carne. La concentración de mioglobina varía de especie a especie: la carne de vacuno contiene aproximadamente nueve veces más mioglobina que el de cerdo. Además, los animales mayores tienen una concentración más alta, y diferentes músculos contienen concentraciones variables de la mioglobina, y así diferir en oscuridad.
- La carne madura tiene una mala estabilidad de color, comparada con la carne fresca, ya que las enzimas presentes en la carne fresca son capaces de prevenir la formación de la metamioglobina que es responsable de la aparición del color marrón en la carne, pero estas enzimas pierden su actividad, a medida que la carne avanza en su maduración.
- La formación de metamioglobina es más lenta a bajas temperaturas, porque la temperatura baja retarda la reacción bioquímica y conserva la actividad de las enzimas en la carne madura.
- El color rojo de la carne es más brillante y más profunda a bajas temperaturas de almacenamiento, debido a que el oxígeno es capaz de penetrar en la carne más fácilmente. La capa de oximioglobina en la superficie de la carne es más gruesa a 0°C que a 15 °C (3-4 mm comparado con 1-2 mm), respectivamente.

A un pH alto (corte oscuro) la carne se descolora a una velocidad más lenta que la carne de pH (5,5) normal”

4. CONGELACION Y DESCONGELACION DE LA CARNE

4.1. Generalidades

Aunque la mayoría de las mejoras en tecnologías de congelación se han producido en el siglo pasado, la práctica de la congelación de la carne para prolongar su vida útil ha sido practicada durante siglos. La industria global de exportación de carne actualmente ha llegado a tener un valor de más de 13 mil millones de dólares y la congelación juega un papel esencial en esta industria, permitiendo la seguridad de los productos cárnicos que se suministra a todas las regiones del mundo. Sin embargo, las consecuencias de la congelación y descongelación en la calidad de la carne siguen siendo un problema significativo.

La congelación y descongelación influye principalmente en la fracción del agua de la carne. Puesto que el agua está contenida dentro y entre las fibras musculares de la carne, lo que complica el proceso es la creación de compartimentos en el tejido. Cuando el agua se congela, la concentración de solutos restantes (proteínas, carbohidratos, lípidos, vitaminas y minerales) aumenta, alterando de esta manera la homeostasis del complejo sistema de la carne (Lawrie, 1998).

Se considera que la carne congelada tiene, en general, una capacidad de ligazón reducida en un 10% en comparación con carne fresca no congelada. Esta reducción en la capacidad de ligazón se debe al daño que le ocurre a las proteínas cárnicas durante la congelación inicial, el almacenamiento y la descongelación. Se asume que la cifra de 10% se ha estimado a la carne congelada y descongelada incorrectamente, de modo que la carne congelada y descongelada correctamente debe tener una capacidad de ligazón mucho mayor (Hamm, 1986).

Los cambios en el entorno inmediato de las fibras musculares, afectan a las características de la membrana celular, que a su vez afecta a la calidad de la carne (Fellows, 2000). Una comprensión de los cambios que la congelación y descongelación causan en diferentes tipos de carnes y cortes es esencial para la industria de la carne, ya que su objetivo principal es elaborar productos de calidad, con altos valores de venta, así como que son a la vez atractivos y aceptables para el consumidor (Renerre, 1990).

Debido al peligro de deterioro, la carne tiene que ser enfriada, poco después del sacrificio (Honikel, 1999a). Por otra parte, el ritmo de transferencia de calor, es decir, la relación entre las tasas de disminución de temperatura y valor de pH puede afectar a

algunos parámetros tecnológicos de la calidad de carne como son la pérdida de peso, capacidad de retención de agua y el color, (Savell, Mueller, y Baird, 2005).

Hoy en día, en la práctica comercial para la refrigeración de la carne de cerdo, comúnmente se utilizan métodos convencionales, sistemas de pulverización y enfriamiento rápidos o acelerada. Otros métodos de reducción de la temperatura en canales incluyen recorte caliente o despiece en caliente de las canales y las prácticas de manejo de los cerdos antes del sacrificio. La refrigeración con mayor velocidad de aire requiere temperaturas de -20°C a -40°C , a menudo con una velocidad de aire de 3-5 m / s durante 1-3 horas (Huff-Lonergan y Page, 2001).

La vida útil de la carne se determina generalmente por la apariencia, textura, sabor, color, actividad microbiana y el valor nutritivo (McMillin, 2008). De estas características, el sabor es el más difícil de medir. Compuestos del sabor pueden proceder de los componentes lipídicos y el péptido en el músculo o carne (Spanier, 1992). Todos estos parámetros son influenciados por congelación, almacenamiento congelado y posterior descongelación.

Los alimentos deben mantenerse siempre por debajo de las temperaturas mínimas de 5°C y por encima de 65°C , evitando su conservación dentro del rango de 5°C y 65°C ; considerado una zona de peligro, por cuanto estas temperaturas son las más aptas para el máximo desarrollo y reproducción bacteriana. La permanencia de alimentos en esta temperatura, según Bryan, (1978), constituye el factor más importante para la presentación de enfermedades transmitidas por los alimentos. Por lo dicho, cabe destacar que sería muy peligroso enfriar los alimentos a temperatura ambiente. Este enfriado es muy lento, por la escasa diferencia entre la temperatura ambiente y la del alimento, variando conforme el tipo y tamaño de éste. En términos generales puede decirse que la velocidad de enfriamiento es directamente inversa al tamaño de la masa del alimento. Técnicamente, en términos generales, un alimento enfriado al medio ambiente debiera comisarse.

Es recomendable tener en cuenta, que pese a las habituales recomendaciones, el mantenimiento a temperaturas cercanas al punto de fusión del hielo (0°C) son las más indicadas para frenar la multiplicación bacteriana y las alteraciones en los caracteres organolépticos, cualquiera fuese el alimento y con ello favorecer la prolongación de su vida útil. La mejor forma de enfriar o congelar, es rápidamente reducir la temperatura a

5° C o menos mediante un “shock frío” que se obtiene mediante la utilización de placas o túneles de congelación, provocando la inactivación o muerte microbiana y evitando su desarrollo o re-contaminación.

Este proceso, beneficioso en términos generales, es particularmente importante, para inhibir el desarrollo de las *Salmonellas*, *Escherichia coli*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosas*, *Clostridium perfringens*, *Bacillus cereus* y *B. subtilis* e incluso *Staphylococcus aureus* (en especial sus toxinas) (Fellows, 2000); es decir, gran parte de las bacterias presentes en los brotes alimentarios. Para períodos cortos de mantenimiento, como suele ocurrir en la gastronomía, donde hay una alta rotación, puede utilizarse también la congelación a temperaturas entre -2° y -5°C, donde se producen “efectos letales más importantes que a baja congelación (-15° a -30°C)(Fellows 2000).

Dentro de los métodos utilizados para reducir la temperatura se pueden citar los siguientes:

- a) Es un proceso que se debe realizar a una temperatura no mayor de 10°C, preferente mente cargando con hielo el agua que se va utilizar para el enfriamiento y realizar allí la colocación del alimento. Puede requerir el agregado de hielo durante el proceso, siendo un método muy usado para el enfriamiento de pastas
- b) Enfriado por aire. Requiere el filtrado del aire que se ventila. Tiene el inconveniente que, generalmente provoca una deshidratación y la reducción de la temperatura, está muy vinculada a la temperatura ambiente.
- c) Enfriado en nevera o cámara. Útil para enfriar productos con temperaturas relativamente bajas (ensaladas, por ejemplo), donde se requiere ajustar a 5° C la temperatura entre la preparación y el servicio. Generalmente no es aplicable, a alimentos cocidos calientes porque, a la par de reducir muy lentamente la temperatura inicial, produce cambios de temperatura en los equipos de frío, con las consiguientes variaciones en las temperaturas, de los alimentos allí almacenados. Es el método de elección para mercaderías con temperaturas inferiores a 15° C aproximadamente.
- d) Enfriado o congelado mediante placas o túnel o Shock por frío. Es un método utilizado frecuentemente para sólidos y semisólidos que se enfrían por

conducción (de afuera hacia adentro). En general, ninguno de los métodos citados precedentemente provocan una reducción drástica del desarrollo, razón por cual deben considerarse, métodos complementarios del método de elección.

Tal como afirman Esquivel *et al.*, (2005), la actividad de los microorganismos que deterioran los alimentos se elimina o se retarda con mayor eficacia, con el empleo de calor o frío, pero el frío tiene la ventaja de conservar mejor el sabor, la textura y la apariencia de muchos productos, ya que las bajas temperaturas no favorecen las reacciones bioquímicas, en los tejidos.

4.2. Refrigeración

El reconocimiento por parte de las primeras civilizaciones, de los efectos conservadores de la temperatura de almacenamiento en frío, de productos perecederos como la carne, llevó a almacenamiento de dichos productos en cuevas naturales, donde las temperaturas se encontraban relativamente bajas, durante todo el año. Los principios de formación de hielo artificial y de la refrigeración mecánica datan desde aproximadamente 1750 (Lawrie y Ledward, 2006) y las operaciones a escala comercial basadas en refrigeración mecánica empezaron a utilizarse 100 años después.

La refrigeración es un método y técnica de conservación a corto plazo, que permite mantener a los productos en niveles bajos de temperatura y reduce la proliferación de bacterias, es importante recordar que la humedad genera mayores condiciones de crecimiento de hongos, así como de otros microorganismos, por ello es necesario el estricto control de la temperatura. Estos métodos de conservación son provisionales, por ello, un requisito básico es que los alimentos tengan una temperatura constante, si existe una variación se puede propiciar el crecimiento de microorganismos; lo aceptable es una variación de entre 1°C a 2°C, de lo contrario se afecta la calidad del producto. Como ya se indicó, este método, frena el crecimiento bacteriano hasta cierto punto y retrasa las reacciones de descomposición. La refrigeración modifica poco las características sensoriales y el valor nutritivo del alimento, debido a que conserva al alimento por un tiempo relativamente corto (no más de quince días para la mayoría de alimentos), pero esta vida útil dependerá tanto de la naturaleza del alimento, como del envase que lo

proteja. A nivel comercial la refrigeración se utiliza mayormente para conservar alimentos perecederos como carne, frutas y hortalizas. (Gutiérrez, *et al.*, 1988).

La carne es un producto perecedero, cuya vida útil siempre ha sido motivo de estudio. La refrigeración permite controlar el proceso de conservación de la carne y prolongar su vida útil, siendo el método de conservación de carne de animales de granja más utilizado (Medel y Sierra, 2001). Prolongar la vida útil es deseable ya que facilita la distribución de la carne sin que se altere su inocuidad (Scholdt *et al.*, 1992). La temperatura de refrigeración puede tener un efecto importante en la conservación de la carne. Tal como se ha demostrado en un estudio, el incremento de la temperatura de -1,5 °C a -1 °C o de 1,5 °C a 2 °C causa la reducción de la vida útil de 10 y 50%, respectivamente (Bailey *et al.*, 1997).

La legislación de la Unión Europea (RD 315/1996), exige que la temperatura interna de la canal sea inferior a 7 °C antes de poder ser comercializada. Al intentar refrigerar las canales lo más rápidamente posible, con el fin de ahorrar en costes de mantenimiento, (el objetivo de la industria es refrigerar las canales en 24 horas y con regímenes de alta velocidad), sobre todo, si la refrigeración es demasiado rápida, puede provocarse el fenómeno de acortamiento por el frío muy dependiente de la temperatura (Bowling *et al.*, 1978), este fenómeno también ha sido reportado por Hannula y Puolanne, (2004).

Para las carnes frescas la refrigeración, incluido el almacenamiento por encima o por debajo del punto de congelación ha sido el método de conservación tradicional. La tecnología de sobre enfriamiento que almacena la carne justo por encima del punto de congelación, se ha utilizado con éxito en los últimos cuarenta años (Nowlan, Dyer, y Keith, 1974, Beaufort, Cardinal, Le-Bail, y Midlet-Bourdin, 2009).

El enfriamiento es fundamental para la higiene, la seguridad, la vida útil, la apariencia y la calidad comestible de la carne. El enfriamiento en el aire reduce la temperatura de superficie de la canal y mejora el secado de la misma, ambos reducen el crecimiento bacteriano (Ockerman y Basu, 2004). Un aumento de la velocidad del aire y / o una disminución de la temperatura (que son controlables) disminuye el tiempo de enfriamiento. El factor limitante sin embargo, es la dificultad de la eliminación rápida del calor desde el tejido más profundo de las canales.

La refrigeración natural-convencional por aire donde el refrigerante se bombea a través de los tubos de refrigeración, es lenta y en gran medida incontrolable, mientras que refrigeración por aire forzado por convección, junto con ventiladores para el movimiento del aire es mucho más eficiente. El rendimiento del producto aumenta en una refrigeración rápida de la canal, debido a la menor evaporación de la superficie, mientras que, el secado rápido de la superficie de la canal ayuda a reducir el crecimiento bacteriano. El enfriamiento ultra-rápido de la carne pre-rigor, por otro lado puede llevar al acortamiento por frío y el endurecimiento. El enfriamiento por spray puede mejorar la oxigenación de mioglobina en la superficie de la carne, sin aumentar la metamioglobina, manteniendo así un aspecto brillante del color de la carne y la disminución de la pérdida de peso (Feldhusen, Kirschner, Koch, Giese, y Wenzel, 1995).

4.3. Congelación

Históricamente, la industria cárnica ha utilizado la carne fresca como materia prima. En los últimos años, la carne congelada se ha convertido cada vez más importante ya que, suele ser más barata y más accesible que la carne fresca, gracias a que se obtiene en el mercado global. A demás, la demanda de carne fresca a menudo excede la disponibilidad del mercado o de los planes de crecimiento. Esto hace que el uso de congelados en lugar de carne fresca, sea cada vez más atractivo para los procesadores de carne. En Inglaterra, la preservación de la carne a gran escala mediante la congelación, comenzó en el año 1880, justo cuando llegaron, las primeras embarcaciones de carnes de vacunos y ovinos congelados desde Australia (Critchell y Raymond, 1969; Arthur, 2006). En aquel tiempo, había abundantes animales de carne en el hemisferio sur, especialmente en Nueva Zelanda y Australia y la congelación ofreció un medio para preservar la carne durante los largos viajes, que se hacían entre los dos continentes (Critchell y Raymond, 1969). Las ventajas de temperaturas por debajo del punto de congelación, fueron la prolongación de la vida útil de almacenamiento de la carne e inhibir los cambios químicos y microbiológicos (Lawrie y Ledward, 2006).

La congelación se define, como un método de conservación que no consiste en esterilizar los alimentos, pero si detiene el crecimiento y la multiplicación de los microorganismos. Existen otros métodos, que pueden ser más efectivos para eliminar

bacterias o microorganismos, sin embargo, el objetivo de la congelación es preservar el producto en condiciones naturales, sin agregar ningún conservador (Gutiérrez, *et al.*, 1988). La congelación no esteriliza, sólo conserva; esto es positivo, ya que también previene que los compuestos químicos se trasladen a otros alimentos. Una limitación de este método, es que si existe alguna contaminación ésta también se congela, y se activará al descongelar el alimento, debido a que algunos microorganismos sobreviven al frío, con respecto al comportamiento de los microorganismos durante la congelación, no se conoce crecimiento microbiano por debajo de $-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ o límite inferior de la zona “sub-cero”. En esta zona que va de -1°C a -12°C , pueden crecer determinadas bacterias psicrófilas y sobre todo mohos y levaduras. Aunque el proceso de la congelación y su posterior mantenimiento en la misma condición, tiene un efecto de inhibición del crecimiento inactivando parte de la flora, sin embargo, siempre quedan microorganismos capaces de crecer en la descongelación (James y James, 2002), Por ello, cuando se ha descongelado un alimento, se debe cocinar inmediatamente, para evitar que los microorganismos comiencen a degradar el mismo (Esquivel *et al.*, 2005).

La congelación ha sido una técnica excelente de preservación de la carne y sus productos durante largo tiempo. La calidad y la inocuidad de la carne congelada dependen de la velocidad de congelación, del suministro eléctrico continuo, de la estabilidad de la temperatura, de una buena gestión del congelador, del envase adecuado y de la higiene antes de la congelación. Desafortunadamente, la mayoría de esos puntos no se cumplen en varios países a causa de la ignorancia, el desconocimiento de la tecnología y por falta de materiales o técnicas disponibles. La carne se puede conservar bien en congelación por 12 meses sin conservantes o crioprotectores, pero con procedimientos inadecuados la calidad de la carne se deteriora dentro de unos pocos días. Los procedimientos de congelación influyen en la pérdida por descongelación, el color y terneza de la carne (Farouk y Swan, 1998; Honikel *et al.*, 1986.), así como en la pérdida por cocción, que al mismo tiempo está sujeta a la calidad de la carne.

Para conocer la temperatura adecuada de congelación de los alimentos, se deben considerar las temperaturas a las cuales se inhibe el crecimiento microbiano. Así, las bacterias dejan de reproducirse a temperaturas de -5 a -8°C , las levaduras de -10 a -12°C y los hongos de -12 a -18°C . Si al almacenar los alimentos se desea conservarlos por un tiempo para comercializarlos, se debe cumplir con el mínimo de grados de congelación. En la industria, los congeladores no sólo poseen una gran capacidad en

metros cuadrados, sino que además pueden alcanzar una temperatura de hasta -29°C (Gutiérrez, *et al.*, 1988).

A través del tiempo, las empresas han implementado innovaciones para mantener congelados los alimentos. De tal forma, que se pueden congelar por largos periodos de tiempo, productos como las frutas, una gran variedad de verduras, diversas carnes, pescados y alimentos denominados precocinados. La congelación es una conservación a largo plazo, que se realiza mediante la conversión de agua en cristales de hielo y su almacenamiento a temperaturas de -18°C o menos (-20°C a -22°C), para limitar que los microorganismos se desarrollen y afecten a los alimentos (Gutiérrez, *et al.*, 1988).

La congelación actúa a dos niveles: disminuyendo la temperatura del alimento y reduciendo la actividad de agua (a_w), es decir congelando el agua disponible en el alimento. De este modo, se prolonga la vida útil del producto, por ello, la congelación se considera como una de las mejores técnicas de conservación, es importante señalar que si el alimento fresco está en buen estado, el producto congelado será de mejor calidad. En cierta forma, la calidad del alimento congelado depende del tamaño de los cristales de hielo, que se generan durante el proceso de congelación, cuanto más pequeños sean, menos alterarán la estructura del alimento al descongelarlo. Una gran variedad de productos se pueden conservar en un congelador común de cualquier hogar, por un periodo de tres hasta doce meses. Aunque es importante mencionar que los alimentos pueden tener ciertas alteraciones químicas, como la oxidación de vitaminas y de las grasas contenidas en ellos (Gutiérrez, *et al.*, 1988).

La aplicación de nuevos sistemas de congelación permite estabilizar la oferta (Hansen *et al.*, 2004) y permite elegir al consumidor el momento en el cual comprar y consumir la carne de los animales de abasto según sus preferencias. Un alimento tan fácilmente alterable como es la carne, puede permanecer en congelación con sus características de fresca más o menos intactas durante largos periodos de tiempo y con pocas modificaciones respecto al producto en fresco, a diferencia de lo que sucede con otros sistemas de conservación, por ejemplo, el tratamiento térmico Cheftel, (1991).

La calidad de la carne congelada dependerá del proceso de congelación, mantenimiento y descongelación (Jasper y Placzek, 1980). Por tanto, se deben considerar diferentes variables a lo largo del proceso de congelación. La velocidad de congelación (Berry, 1990; Uttaro y Aarhus, 2007) es el principal factor en la primera fase y es el responsable

de los cambios estructurales en la carne (derivados de la forma, número y tamaño de los cristales de hielo), de modo que sistemas convencionales y de menor velocidad provocan mayor alteración de la calidad (Devine et al., 1995; Bail *et al.*, 2004; Zhu, *et al.*, 2004 y Ballin, 2008).

Debido a que el congelar mantiene los alimentos inocuos indefinidamente, los períodos de almacenamiento son recomendados solamente por calidad. En la **Tabla 5** se pueden observar los períodos de congelación óptima de carnes de diferentes especies.

Tabla 5. Guía para almacenar alimentos en el congelador a 0 °F (-17,8 °C) (Fuente: United States Department of Agriculture, USDA, 2011).

Alimento	Meses
Tocineta y embutidos	1 a 2
Cacerolas	2 a 3
Claras de huevos o sustitutos de huevo	12
Comidas congeladas y enteras	3 a 4
Salsa de carne y aves	2 a 3
Jamón, salchichas “hot dogs” y carnes de deli	1 a 2
Carnes, asados sin cocinar	4 a 12
Carne, filetes sin cocinar o chuletas	4 a 12
Carnes, molida sin cocinar	3 a 4
Carne, cocida	2 a 3
Aves, enteras sin cocinar	12
Aves, pedazos sin cocinar	9
Aves, menudillos sin cocinar	3 a 4
Aves, cocinadas	4
Sopas y guisados	2 a 3
Aves silvestres, sin cocinar	8 a 12

Por otra parte, las condiciones en las que se desarrolla el mantenimiento en congelación también tienen un efecto importante en la calidad (Jasper y Placzek, 1980). Así, el tiempo (Haenian *et al.*, 1989; Berry, 1990; Méndez, 1999), la temperatura y/o sus fluctuaciones, la exposición al aire y/o la luz o el envasado (Berry, 1990; Moore, 1990; Méndez, 1999) deben ser considerados porque, aunque la carne congelada es microbiológicamente estable, no está exenta de alteración durante el almacenamiento

(Akköse y Aktas, 2008) debido a que las reacciones enzimáticas disminuyen pero no se inhiben (Devine *et al.*, 1995).

Una congelación que no se realice en buenas condiciones afectará sensiblemente a la calidad del producto, especialmente a la calidad organoléptica. Los principales efectos negativos de una congelación no optimizada se relacionan con la alteración del color (Moore *et al.*, 1990; Monahan *et al.*, 1994; Farouk y Price, 1994; Farouk y Swan, 1998; Hansen *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2005; Nicolalde *et al.*, 2006), debido a la rotura de estructuras celulares (Ballin y Lametsch, 2008; Campañone *et al.*, 2006), en el sabor, por el enranciamiento debido de la oxidación lipídica (Hagyard *et al.*, 1993; Monahan *et al.*, 1994; Hansen *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2005), minimizado cuanto más baja sea la temperatura y la exposición al aire y a la luz, y en la jugosidad, por la pérdida de agua por rotura de estructuras celulares (Farouk y Price, 1994; Payne y Young, 1995; Farouk y Swan, 1998).

4.3.1. El objetivo de la congelación

A temperatura ambiente las bacterias trabajan activamente, se multiplican y llegan a transformar los alimentos de origen animal y vegetal en incomedibles o tóxicos. El frío entorpece esta actividad bacteriana. Por ello, el principal factor de la congelación reside en la temperatura. A 0 °C las bacterias se reproducen con cierta dificultad lentamente y por debajo de esta temperatura se inmovilizan y son incapaces de alterar las condiciones naturales de los alimentos.

A partir de las temperaturas por debajo de los -7 °C se consigue la destrucción de otra serie de microorganismos (como los mohos y levaduras) de menor peligrosidad que las bacterias, pero también perjudiciales para los alimentos. Pero el gran avance en materia de frío, es la posibilidad de obtener temperaturas inferiores a los -18°C, porque a partir de este punto es posible neutralizar casi por completo la acción de las enzimas que, actúan como catalizadores a nivel molecular y afectan al sabor y a la textura de los alimentos.

Todos los alimentos contienen en su interior, una cantidad muy importante de agua, a veces hasta un 90% o incluso más. Cuando se congela un alimento, lo que realmente ocurre es que se congela el agua que ese alimento contiene en su interior. Si se coloca

en el congelador un trozo de carne, se congela el agua que esa carne tiene dentro, convirtiéndose en cristales de hielo. En esto consiste el principio de la congelación, que se debe diferenciar muy bien de la refrigeración. Ambos sistemas tratan de conservar los alimentos por el frío, pero con diferentes temperaturas. Mientras que con la refrigeración, empleando unas temperaturas entre $+3^{\circ}\text{C}$ y $+5^{\circ}\text{C}$, se dificulta el desarrollo de los microorganismos en alimentos perecederos, con la aplicación intensa de frío, es decir con la congelación se consigue paralizar esta actividad bacteriológica y enzimática que los ataca después de un período más o menos corto de tiempo. Manteniéndolos a una temperatura de -18°C se frena su deterioro (Ahmad *et al.*, 2012).

El agua pura congela a 0°C , pero el agua que todos los alimentos llevan en su interior no es agua pura, sino una solución de sales, azúcares y un gran número de proteínas que están flotando en ese líquido. Por ello, el punto de congelación de una de estas soluciones siempre está por debajo de esa cifra. De ahí que cada alimento se congele a una determinada temperatura, dependiendo de su composición. La carne, el pescado, las frutas y verduras más comunes que contienen mucha agua tienen su punto de congelación entre los 0°C y los -4°C . La congelación es uno de los métodos más populares y eficaces de conservación de alimentos y Según Fennema, Powrie, y Marth (1973), el proceso de reducción de la temperatura, se puede dividir en tres fases distintas: una fase de pre-enfriamiento o refrigeración en el que el material se enfría desde su temperatura inicial a la temperatura del punto de congelación; un período de cambio de fase que representa la cristalización de la mayor parte del agua; y una fase en el que el producto alcanza la temperatura final establecida. La transición del agua o hielo tiene la ventaja de fijar, la estructura del tejido y la separación de la fracción de agua en forma de cristales de hielo, de tal manera que no sea disponible, ya sea como componente reactivo o en forma de disolvente. Sin embargo, el tamaño y la ubicación de los cristales de hielo pueden dañar las membranas celulares y romper la estructura física. Por lo tanto, la causa de las modificaciones físicas y químicas indeseables, durante la congelación es la cristalización de agua y a veces de solutos. Reducir al mínimo el tiempo del cambio de fase contribuye a la calidad óptima del producto (Brennan, Butters, Cowell, y Lilly, 1990). Este argumento, coincide con los siguientes autores que afirman que, en la congelación de tejidos alimentarios, la formación de grandes cristales de hielo, que son en su mayoría extracelular, da lugar a importantes daños en el tejido (Ahmad *et al.*, 2012; Delgado, Zheng y Sun, 2009; Ming, Rahim,

Wan y Ariff, 2009; Streit, Corrieu y Betheal, 2010, Yu, Ma, Zheng, Liu y Sun, 2011). Por otra parte, la formación de cristales finos, que se distribuyen de manera uniforme, tanto dentro como fuera de las células, aumenta la calidad del producto, al ser mejor conservado debido a menos daños en el tejido (Sun y Zheng, 2006). Sin embargo, en algunos procesos tales como, el secado por congelación y la concentración por congelación, los cristales grandes son más deseados (Saclier, Peczalska, y Andrieu, 2010). Por lo tanto, el control, la comprensión y la predicción del proceso de cristalización y fenómenos relacionados en lo que se refiere a las características de los cristales son muy esenciales para la mejora de los procesos de congelación.

También se reconoce que, la calidad de los productos congelados, depende en gran medida, de la velocidad de congelación (Ramaswamy y Tung, 1984). La congelación lenta, por lo general hace que los cristales de hielo se formen exclusivamente en las zonas extracelulares, mientras que las altas velocidades de congelación producen pequeños cristales distribuidos uniformemente por todo el tejido. La presencia de hielo intracelular es indeseable, ya que puede causar, pérdidas de agua y de turgencia (Morris, y McLellan, 1991).

La parte de transición de fase del proceso de congelación, implica la conversión de agua a hielo a través del proceso de cristalización y es el paso clave que determina la eficiencia del proceso y la calidad del producto congelado (Alizadeh, Chapleau, de-Lamballerie y Le-Bail, 2009; Álvarez, Fernández y Canet, 2010, de Paula, Colet, de Oliveira, Valduga y Treichel, 2011; Fennema, Powrie, y Marth, 1973, Jin et al, 2010; Le Bail, Nicolitch y Vuillod, 2010; Maity, Raju y Bawa, 2012; Staffolani, Ribotta, Pérez, Puppo y Le en 2011; Zaritzky, 2006).

4.3.2. Tipos de congelación

La congelación se aplica principalmente en la conservación de alimentos durante varios meses y para facilitar otros procesos no preservativos, como el endurecimiento de helado. Para la mayoría de los alimentos congelados, la temperatura objetiva industrial, en el centro del producto es $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ (alrededor de $0\text{ }^{\circ}\text{F}$), como se indica por diferentes normas. Hoy en día varios productos congelados, se encuentran en los mercados mundiales que incluyen frutas (enteras, en puré y concentrado de jugo), verduras

(enteras, trituradas, en puré, y mixtos), filetes de pescado y mariscos (pasteles de pescado, camarones, carne de cangrejo y platos preparados), carnes, repostería y pastelería y alimentos preparados (pizzas, postres, helados y platos cocinados), entre otros. Las especificaciones de producto, es decir, su calidad sensorial en estado de congelación, tamaño, tipo de embalaje, las restricciones en la forma, la tasa de producción y la temperatura de almacenamiento final, son factores decisivos en la selección y operación de un congelador. El aseguramiento de la calidad del producto, depende de la selección de un método de congelación rápida. Cuanto mayor sea la velocidad de congelación, menor será el daño que el alimento va a recibir, debido a una mejor distribución de cristales de hielo y menor cantidad de agua libre no congelada. La congelación rápida ofrece un menor agrietamiento de alimentos, disminuye la pérdida de peso y la degradación celular (Fellows 2000).

La velocidad de congelación se puede definir como la velocidad de movimiento del "frente frío" entre el producto congelado y no congelado (Maroulis y Saravacos 2003). Los congeladores industriales pueden agruparse en base a la velocidad de movimiento del frente frío (Fellows 2000). Los tipos de ventilación natural y frigoríficos son congeladores lentos (0,2 cm / h), los tipos basados en la presión de aire y la placa son congeladores rápidos (0,5 a 3 cm / h), los tipos de lecho fluidizados son congeladores rápidos (5 a 10 cm / h), y los tipos de congeladores criogénicos son ultra-rápidos (10 a 100 cm / h).

El tiempo necesario para alcanzar una condición de temperatura de equilibrio donde la temperatura en el centro y la superficie de los productos coincide, depende de la velocidad de congelación, coeficiente de transferencia de calor, cantidad de calor eliminado del producto, la velocidad del aire y la temperatura y el tamaño de los componentes del congelador (tales como ventiladores, serpentines del evaporador, compresor) (Bejarano y Venetucci 1995; Saravacos y Kostraropoulos 2002).

Con el fin de maximizar la eficiencia del congelador, los congeladores están aislados con polietileno expandido, poliuretano u otros materiales con baja conductividad térmica (Fellows 2000). Se han utilizado diferentes refrigerantes durante décadas. El amoníaco es el refrigerante más comúnmente utilizado en los congeladores de aire y placa a - 40 °C (Bejarano y Venetucci 1995), y una mezcla de solución de amoníaco y salmuera también se puede utilizar para congeladores en forma de cinta transportadora.

Los CFCs o clorofluorocarbonos, por ser muy estables permanecen durante largo tiempo en la atmósfera afectando seriamente la capa de ozono, siendo una de las causas del efecto invernadero, por tal motivo, fueron prohibidos por el protocolo de Montreal. No obstante los HCFCs o hidroclorofluorocarbonos, por la presencia de hidrógeno en su molécula son menos estables, en consecuencia se descomponen en la parte inferior de la atmósfera, teniendo un potencial reducido de destrucción de la capa de ozono y se han desarrollado, como una alternativa ecológica (por tal motivo, las partes en el protocolo mencionado, acordaron prolongar el período de eliminación de los HCFC, según el cual la eliminación total para los países desarrollados sería en 2030 y la eliminación final para los países en desarrollo en 2040). El Freón 22 es un tipo de HCFC utilizado justamente como refrigerante (Bejarano y Venetucci, 1995).

Los métodos de congelación industriales se pueden clasificar en 3 grupos: métodos mecánicos, criogénicos y combinados (Bejarano y Venetucci 1995). Entre los congeladores mecánicos más importantes, hay los congeladores de aire (aire regulado, túnel, lecho fluidizado, cinturón y correa de espiral), congeladores de placas, y los congeladores de inmersión de líquidos.

La congelación criogénica, se basa en el contacto directo de un refrigerante criogénico, con la superficie del alimento y en este trabajo se abordará con más información en el apartado (1.3.4). Otras combinaciones de sistemas mecánicos y criogénicos se han encontrado para ser una alternativa económica a los procesos específicos. Información general de los avances tecnológicos en los métodos de refrigeración clásicos se pueden encontrar en diferentes fuentes bibliográficas (Persson y Londahl 1993; Bejarano y Venetucci 1995; Cleland y Valentas 1997; Fellows 2000; Saravacos y Kostopoulos 2002).

4.3.3. El fenómeno de la cristalización

La cristalización es un término general utilizado para describir diferentes fenómenos relacionados con la formación de una red de estructura cristalina (Hartel, 2001). Este proceso consiste en dos principales etapas sucesivas; enucleación y crecimiento de cristales. La interacción entre estos dos pasos determina las características de los cristales, es decir, el tamaño, la distribución y la morfología de los cristales. Aunque el

proceso de la formación y el crecimiento de los cristales es complicado y por lo tanto difícil de entender, algunos teóricos se han propuesto métodos de modelización para la descripción tanto de la enucleación y como el crecimiento (Hartel y Mullin, 2001, Martins et al, 2011, Myerson, 2002a, 2002b).

Para explicar el proceso de la cristalización, las teorías emplean diferentes principios de termodinámica, de transferencia de masa y de transferencia de calor. A demás de los enfoques de modelización teórica, varios estudios experimentales se han llevado a cabo para enlazar las características de los cristales con diferentes parámetros de procesamiento, incluyendo la velocidad de enfriamiento y transferencia de calor (Calvo, 1986, Bevilacqua, Zaritzky y Cálvelo, 1979, Bevilacqua y Zaritzky, 1980, Woinet *et al.*, 1998). Otros autores plantean que, la cristalización del hielo es un aspecto de mayor importancia en la congelación. La formación de hielo durante la cristalización presenta enucleación que es un proceso que antecede a la cristalización; en el que aparecen los núcleos de hielo como consecuencia del sub-enfriamiento y se reconocen tres clases de enucleaciones:

Nucleación homogénea: cuando se enfría agua o cualquiera otra solución libre de impurezas, a la nucleación se le llama homogénea. En el caso del agua se reporta que su nucleación homogénea tiene lugar entre -39 a -41 °C (Bhandari *et al.*, 1999). Este tipo de nucleación es rara aún en sustancias puras; la mayoría de los procesos de cristalización no son homogéneos, debido a la presencia de superficies y partículas extrañas que inevitablemente entran en contacto con el sistema que cristaliza (Everington, 1988). Nucleación heterogénea: ocurre cuando las moléculas de agua se aglomeran alrededor de un agente nucleador tal como un material insoluble. Tales agentes reducen la energía necesaria para formar el núcleo crítico; consecuentemente, reducen el grado de sub-enfriamiento (Walstra, 2003). Nucleación secundaria: se forman núcleos secundarios por la erosión microscópica de cristales ya existentes. Para que ello ocurra se necesita de la presencia de fuerzas externas (Feency *et al.*, 1990). Las proteínas simples actúan como inhibidores de este tipo de nucleación (Griffith *et al.*, 1995). Igual sucede con los polímeros puros o en solución con otros componentes de menor peso molecular (Hung *et al.*, 1996).

La evaluación experimental de la cristalización del agua y su efecto en la textura de los productos congelados se han llevado a cabo mediante el uso de métodos de

visualización y monitorización incluyendo microscopía óptica (Chow, Blindt, Chivers, y Povey, 2003; Chow, Blindt, Kamp, Grocutt, y Chivers, 2004, Olmo, Baena, y Risco, 2008), la microscopía electrónica (Delgado y Rubiolo, 2005; Fernández Otero, Guignon, y Sanz, 2006, Sun y Li, 2003), así como técnicas no invasivas de detección, tales como la (NMR Resonancia magnética nuclear, MRI técnica de imagen por resonancia magnética, Rayos-X), así como el análisis de infrarrojos. Estos métodos se han usado para estudiar el proceso de la congelación, especialmente para analizar el estado de agua, ya que permiten realizar observaciones repetidas en la misma muestra, mientras suceden cambios controlados durante el proceso de la congelación (Bischof, Mahr, Choi, Behling, y Mewes, 2007; Hills y Remigereau, 1997; Hindmarsh, Wilson, John, Russell, y Chen, 2005; Lee, Kwon, y Ramamoorthy, 2008; Mahdjoub, Chouvenec, Seurin, Andrieu, y Briguet, 2006; Mousavi, Miri, Cox, y Fryer, 2005, 2007; Zelent y Vanderkooi, 2009). La congelación rápida produce diminutos cristales de hielo intracelulares y por lo tanto disminuye el goteo durante la descongelación. La velocidad de congelación depende no sólo de la cantidad de carne y sus propiedades térmicas (por ejemplo, calor específico y la conductividad térmica), sino también de la temperatura del entorno de refrigeración, del método de aplicación de la refrigeración, de los tamaños de cortes de la carne y de la naturaleza del material de envoltura utilizado. Para evitar los cambios de calidad sensorial y tecnológica, ha sido sugerido como ideal el almacenamiento a una temperatura de $-55\text{ }^{\circ}\text{C}$ como condición para la carne congelada (Hansen *et al.*, 2004). A estas bajas temperaturas las reacciones enzimáticas, la rancidez oxidativa y la re-cristalización del hielo, probablemente sean mínimos y por lo tanto se producirán algunos cambios de deterioro durante el almacenamiento.

4.3.3.1. El tamaño de los cristales

El agua, una sustancia presente en los alimentos y materiales biológicos, cristaliza durante la congelación. Al igual que otros procesos de cristalización, temperaturas muy grandes de sobre enfriamiento, son necesarios para la enucleación homogénea de agua pura. Sin embargo, la enucleación heterogénea es el mecanismo de enucleación dominante en materiales alimentarios (Zaritzky, 2006).

La enucleación de hielo, parece ser un parámetro clave, para la optimización de los procesos industriales relacionados con la congelación. Sin embargo, la enucleación del hielo se produce de forma espontánea y se ve afectada por varios factores, como

impurezas, asperezas, propiedades de la superficie, etc., que en general no se puede supervisar y manipular fácilmente (Nakagawa, Hottot, Vessot, y Andrieu, 2006). El tamaño y la distribución de los cristales de hielo, son una propiedad importante de los productos congelados y ha sido estudiado ampliamente. Modelar el tamaño de los cristales de hielo y vincularlos con diferentes parámetros de procesamiento, ha sido una de las principales áreas de investigación. Los métodos de modelización del tamaño de los cristales de hielo, se pueden dividir en dos categorías.

La primera categoría incluye ecuaciones que relacionan la velocidad de enfriamiento o la tasa de transferencia de calor con el tamaño de los cristales de hielo y la segunda categoría consiste en la aplicación de los principios de transferencia de masa, para la predicción de tamaño de cristal de hielo. La tasa de eliminación de calor de un producto, durante la etapa de cambio de fase de los procesos de congelación o en otras palabras, el tiempo necesario para pasar esta fase, afecta el tamaño de los cristales de hielo de manera significativa (Calvo, 1986, 1991; Bevilacqua et al, 1979; Bevilacqua y Zaritzky, 1980). De hecho, la zona crítica de la cristalización del agua en los alimentos, desde aproximadamente $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta $-8\text{ }^{\circ}\text{C}$, se produce en el período de cambio de fase, siendo la zona de máxima formación de los cristales. Esta zona determina las características de los cristales de hielo en los alimentos congelados. El tamaño, la morfología y la ubicación de los cristales de hielo, la velocidad de congelación y por lo tanto la eficiencia de congelación, está directamente relacionada con el tiempo necesario, para pasar esta zona que se conoce como, el tiempo de congelación característico (Li y San, 2002a).

4.3.3.2. Morfología de los cristales

La morfología de los cristales de hielo, es también un factor importante, que afecta tanto a la eficiencia de congelación y la calidad de los alimentos congelados y está determinada por las condiciones de congelación (Petzold y Aguilera, 2009). A bajas temperaturas de sobre enfriamiento, se crean cristales con morfologías de disco, para que de esta forma las moléculas de agua se ajusten en unidades hexagonales (Petzold y Aguilera, 2009; Wathen, Kuiper, Walker, y Jia, 2004).

Por otro lado, el aumento de las velocidades de enfriamiento y mayores grados de sobre enfriamiento, afectan a la morfología de los cristales de hielo y causa el cambio del disco para a otras formas tales como, disco perturbado, dendrita, en forma de agujas y

de plaquetas (Petzold y Aguilera, 2009; Tressler, Van Arsdel, y Copley, 1968). Sin embargo, la única forma de cristales de hielo de importancia, a la presión atmosférica en la mayoría de los alimentos, es la forma de cristalización hexagonal o "dendrita regular" (Damodaran, Parkin, y Fennema, 2007; Petzold y Aguilera, 2009).

La morfología de la dendrita se define, por las perturbaciones sinusoidales en la interfase solido-liquido. La longitud de onda de estas perturbaciones, es dependiente de la tasa de crecimiento de los cristales, del gradiente de temperatura en la región congelada y el del grado de sobre enfriamiento. Existe un umbral de longitud de onda, que conduce a la formación de dendritas estables; por debajo de esta longitud de onda crítica, las perturbaciones desaparecen. Este límite se conoce como, el límite de la estabilidad morfológica y se utiliza para definir el tamaño del cristal en relación a la cinética de congelación (Pardo, Suess, y Niranjana, 2002; Petzold y Aguilera, 2009), y es un método para el examen de cristalización durante la congelación. Para supervisar directamente el proceso de congelación, se han desarrollado varios métodos. El examen estructural de los alimentos congelados, también se ha llevado a cabo, por razones de la evaluación de la extensión del daño micro-estructural a las células y los tejidos resultantes del proceso de congelación, la observación de la redistribución de solutos, el establecimiento del grado de la heterogeneidad de los productos alimentarios se destacan entre métodos utilizados (Wilson, 1991).

4.3.4. Nuevos métodos de congelación para controlar la cristalización

Como los cristales de hielo juegan un papel importante en la congelación de alimentos y materiales biológicos, sus características son un factor crítico de este proceso. Nuevos métodos de congelación se han desarrollado para alterar el fenómeno de formación de hielo. Estos nuevos métodos emplean diversas tecnologías físicas y biológicas para controlar el proceso de cristalización es decir, las cavitaciones ultrasónicas, la técnica de alta presión, el control biológico de formación de hielo, etc.

4.3.4.1. La cristalización de agua mediante la técnica de ultrasonido

El ultrasonido de potencia (Power ultrasound) se ha conocido como una herramienta prometedora para mejorar la congelación y procesos de cristalización (Acton y Morris, 1992). El impacto principal de la transmisión de ultrasonidos de potencia dentro de un

líquido es la cavitación (Ashokkumar y Grieser, 1999; Gong y Hart, 1998; Prosperetti, 1984a, b; Zheng & Sun 2005). La cavitación resulta en la formación de burbujas de gas, que pueden servir como núcleos para la enucleación de hielo (Mason, Paniwnyk, y Lorimer, 1996) y afectan a la cristalización por su colapso y el movimiento (Sun y Zheng, 2006). Con la aplicación de ultrasonidos de potencia, durante el proceso de congelación, la eficiencia de congelación puede ser mejorada, conservándose mejor las propiedades micro-estructurales de los alimentos congelados. El aumento del calor y el ritmo de transferencia de masa, y la iniciación de la enucleación de hielo, se encuentran entre otras ventajas (Li & Sun, 2002a; Sun y Li, 2003; Zheng & Sun 2005). Los experimentos con solución de sacarosa concentrada han demostrado que el número de núcleo se incrementa con la aplicación de ultrasonidos de potencia (Suslick, 1988). Los cristales de hielo también se fracturan bajo la presión acústica alterna, lo cual fue demostrado por el estudio realizado por Acton y Morris (1992).

Acton y Morris (1992) propusieron que las ondas de ultrasonido con la frecuencia de 16 kHz hasta 100 kHz y preferiblemente de 20 hasta 40 kHz, se pueden emplear para controlar la cristalización de agua. En el proceso de liofilización se desean pequeños y grandes cristales de hielo. Irradiaciones por ultrasonido de 1 a 5 segundos de duración, a temperaturas cercanas al punto de congelación, resultaron en la formación de grandes cristales de hielo. Por otro lado, los pequeños cristales de hielo, pueden ser producidos por la irradiación de la muestra, a mayores niveles de súper-enfriamiento, es decir, hasta 5°C por debajo de su punto de fusión. Las ondas de ultrasonido, también pueden fracturar los cristales de hielo y crear cristales finos que dan lugar al aumento del número de núcleos, que causa la reducción del tamaño de los cristales (Acton y Morris, 1992).

Otro nuevo método empleado para la evaluación de los productos congelados es la aplicación de rayos X. Esta técnica utiliza la combinación de la microscopía de rayos X y algoritmos tomográficos, basado en el contraste de las imágenes de rayos X generados por las diferencias en la atenuación de rayos X (absorción y dispersión) que surgen de las diferencias en la densidad de material dentro de la muestra (Mousavi *et al.*, 2005). La ventaja del método de rayos X es que las mediciones se pueden realizar rápidamente y de forma no invasiva, creando información 3-D, que puede ser manipulada numéricamente (Mousavi, Miri, Cox, y Fryer, 2007). En comparación con la (Resonancia Magnética Nuclear (RMN), la técnica de rayos X) es más barata (en costes

de inversión y de operación) y más simple (en la accesibilidad y el material de restricciones, como los metales ferro magnéticos) (Bischof *et al.*, 2007).

En el método de congelación a alta presión, el calor latente liberado después de la expansión se mide usando métodos experimentales tales como, las técnicas calorimétricas que luego pueden estar relacionados con la fracción de hielo generado (Otero *et al.*, 2009). Zhu *et al.*, (2004) y Zhu *et al.*, (2005) examinaron la cantidad de hielo formado en diferentes muestras, incluyendo agua pura, tilosa, la patata, el salmón y la carne de cerdo congelado por el método de desplazamiento de alta presión. Sus resultados llevaron a una relación general para la predicción de la cantidad de hielo aplicable a todos los productos evaluados. La relación propuesta sugiere que la fracción de hielo máxima alcanzable tras la expansión de 210 MPa y -22 °C es de 33,6%.

Otero *et al.*, (2009) determinaron la cantidad de hielo formado justo después de la expansión durante la congelación por alta presión, a diferentes condiciones de temperatura y presión mediante el uso de un aparato simple. Sus resultados experimentales estaban de acuerdo con las predicciones teóricas, por el modelo de balance de calor. Similar a los métodos de modelización teórica, sus resultados demostraron que, el aumento de la presión o la disminución de la temperatura antes de la expansión, dio como resultado la formación de una mayor cantidad de hielo. También mostraron que, la cantidad de hielo depende del contenido de agua inicial de la muestra, sin embargo, el porcentaje de hielo formado, fue idéntica para todos los productos.

4.3.4.2. Supresión de la formación de hielo

Como parte de su sistema de protección, o como un método para ayudar a proporcionar nutrientes algunas plantas, insectos o bacterias que viven en temperaturas bajo cero, producen sistemas de proteínas para controlar el fenómeno de la formación de hielo. Algunas de estas proteínas actúan en contra de la cristalización del agua. La supresión de la formación de cristales de hielo, sería interesante por algunas razones. Mayores grados de sobre-enfriamiento durante el proceso de congelación se pueden producir finos cristales de hielo, que ayuda a mejorar la calidad de los alimentos congelados o materiales biológicos. La inhibición de la formación de cristales de hielo también puede ser eficaz en la reducción de daño por congelación. Diferentes métodos pueden ser utilizados para suprimir la formación de hielo incluyendo proteína anticongelante. La aplicación de las proteínas anticongelantes ha demostrado ser un método prometedor

para la preservación de los alimentos y materiales biológicos. Además, la congelación por resonancia magnética y la congelación por microondas también han sido introducidas como métodos prometedores, para la supresión de la formación de cristales de hielo.

Las glicoproteínas y las proteínas anticongelantes se han conocidos como los agentes protectores para diferentes especies tales como peces (la proteína anticongelante más estudiada), plantas, insectos, y las bacterias que viven en temperaturas bajo cero y son capaces de unirse a los cristales de hielo afectando su patrón de crecimiento (Griffith y Ewart, 1995). El mecanismo de acción de las proteínas anticongelante no sigue la ley de Raoult, en el que el súper enfriamiento es un resultado de la concentración, y las proteínas interactúan de una manera activa con la estructura de hielo. Las proteínas tienen una naturaleza dipolar y contienen una sección hidrófila y otra hidrófoba (Li y Sun, 2002b; Yang, Sax, Chakrabartty, y Hew, 1988). Cuando un frente de hielo en estado de crecimiento, es encontrado por las proteínas, la porción hidrófila se unirá a los planos específicos en la estructura cristalina. Esto obliga al hielo, a crecer entre las moléculas y a cambiar el frente de hielo plana, en una serie de frentes de hielo curvadas. Si el diámetro de cualquier curvatura es menor que el radio crítico de enucleación de hielo, el crecimiento de este frente de hielo se detiene (Kennedy, 2000). Por lo tanto, las proteínas anticongelantes disminuyen la temperatura de congelación y suprimen el crecimiento de núcleos de hielo, por lo tanto, inhiben la formación de hielo y cambian el ritmo de crecimiento (Li y Sun, 2002b). La congelación por resonancia magnética (CRM) ha demandado ser un nuevo método para la supresión de la formación de hielo (Fikiin, 2003). La temperatura de los alimentos o materiales biológicos, se puede disminuir por debajo de su punto de congelación inicial, de conformidad con vibración de las ondas magnéticas continuas sin producir la congelación.

El campo magnético se elimina de repente y se produce una congelación rápida de la totalidad del volumen de alimentos. Mediante el uso de este método, la zona crítica de la cristalización del agua se puede pasar rápidamente, se forman finos cristales de hielo, la migración de agua y los fenómenos de transferencia de masa no deseados se disminuye, se evita la deshidratación celular, grietas y daños relacionados y la integridad del tejido alimentario es conservado (Fikiin, 2003, Mohanty, 2001). La ventaja de la congelación mediante el campo magnético frente a los métodos tradicionales, se observa de forma clara en la **Tabla 6**.

4.3.4.3. Sistema CAS (Cells Alive System)

El sistema aplicado por primera vez en Japón, llamado sistema CAS (Cells Alive System) implica el magnetismo y ondas moduladas de aire frío. Los métodos convencionales de congelación actúan sobre el producto desde el exterior, y por lo tanto, la penetración del frío hacia el centro del alimento se vuelve más difícil, ya que la parte externa se congela mucho antes dificultando el proceso.

Tabla 6. Principales diferencias entre la congelación por campo magnético y el método tradicional de congelación (Fuente: Fikiin et al., 2003).

Congelación por Campo Magnético	Congelación Tradicional
<p>1) Proceso de congelación</p> <p>La congelación mediante el campo magnético (CAS) impide la congelación, provocando la rotación de las moléculas de agua, dentro del mismo, evitando su agrupación y congelación. Esta tecnología impide la cristalización normal de agua en los alimentos y ayuda a mantener los alimentos en un estado de sobre-enfriamiento.</p>	<p>1) Proceso de congelación</p> <p>Cuando un aire de frío de -40°C a -50°C es pulverizado directamente sobre el alimento, antes del comienzo del proceso de congelación, el hielo de la superficie del alimento se convierte en una barrera obstruyendo la congelación del alimento. Para evitar una congelación falsa, se requiere un tiempo de congelación adicional.</p>
<p>2) Estado de congelación</p> <p>El campo magnético disminuye la temperatura de congelación de forma artificial. Una vez que dicho campo se desactiva, todo el material alimentario se congela de manera instantánea.</p>	<p>2) Estado de congelación</p> <p>Hasta que toda la pieza del alimento es congelada, debido al hielo formado en la superficie, las moléculas de agua giran dentro de la parte no congelada. Este fenómeno capilar significa, que la humedad es aspirada hasta el hielo de la superficie, y la evaporación de la humedad ocurre debido a este fenómeno capilar.</p>
<p>3) Estado después de descongelación</p> <p>Debido a que la molécula de agua se mantiene en el mismo estado, antes que sufra la congelación, la frescura, el sabor y el sabor del alimento son recuperados.</p>	<p>3) Estado después de descongelación</p> <p>Debido a la descongelación, las membranas celulares se destruyen y comienza el movimiento de las moléculas de agua interna. Ello afecta negativamente el sabor del alimento y acelera el proceso de envejecimiento.</p>

La tecnología CAS pretende conservar la textura y el sabor de los alimentos, por dos vías, primero causando sobre-enfriamiento del producto, luego congelándolo. El sobre-enfriamiento se consigue, sometiendo el producto en un campo magnético de baja

intensidad, lo que disminuye la temperatura de congelación del producto. Por lo tanto, todo el cuerpo del producto, puede ser enfriado de manera uniforme por debajo del punto de congelación, sin que ocurra la congelación. Entonces, cuando se apaga el sistema magnético, el cuerpo súper-enfriado del producto, se congela de forma rápida e uniforme, suprimiendo la migración de las grasas, y la formación de cristales de hielo (Pothakamury *et al.*, 1993).

4.3.4.4. Congelación criogénica por CO₂ y N₂

La utilización de los gases para producir frío y conservar o tratar los alimentos ya es una realidad (y necesidad) para la gran mayoría de las compañías procesadoras. Su uso es adecuado para sectores tan disímiles como los cárnicos, precocinados, panadería, pastelería, pescados, platos preparados, salsas o bebidas.

Los gases más utilizados en la congelación de los diferentes alimentos que se utilizan en la industria alimentaria, son el dióxido de carbono (CO₂) y el (N₂) nitrógeno. El dióxido de carbono, es la combinación de una molécula de carbono con dos de oxígeno; es un gas incoloro, inodoro y con un sabor un poco ácido, que está presente en el aire aunque en muy poca cantidad (0,03% del total). El CO₂ se puede utilizar como gas, como líquido está en ese estado entre los -17 y los -46 °C o como hielo seco o en pellets que están a unos -78°C). El nitrógeno, cuya fuente principal es el aire (representa el 78% de la atmósfera que respiramos) no tiene aroma, sabor ni olor. Dadas sus características químicas, no se mezcla con otros elementos, a menos que exista una reacción química. Es un gas seco e inerte. Su obtención se realiza a través de la destilación fraccionada del aire. Las empresas lo suministran en estado líquido o gaseoso, o pueden generarlo in situ mediante maquinarias facilitadas por estas compañías. Su temperatura de ebullición es de -196 °C. Este gas tiene también muchos usos dentro de la industria alimentaria: envasado en atmósfera protectora, inertización, limpieza de tanques y reservorios, presurización, esponjamiento de natas y grasas, liofilización, desoxigenación de líquidos, control de temperatura y criogenia.

La capacidad de refrigeración a temperatura muy baja, gracias al uso de fluidos criogénicos, permite obtener resultados muy rápidos, unas 4 ó 5 veces más expeditos que utilizando procedimientos mecánicos. Este sistema, que se está utilizando en la industria alimentaria desde los años 60, permite una menor deshidratación de los alimentos, impide que puedan pegarse durante su manipulación industrial, amplía la

posibilidad de congelar la parte exterior del producto para aumentar su rigidez y facilitar su manipulación, corte y envasado. La congelación criogénica ofrece una congelación más rápida en comparación con congelación convencional por aire, debido a las grandes diferencias de temperatura entre el criógeno y el producto cárnico y la alta tasa de transferencia de calor de superficie resultante de la ebullición del criógeno. Es una tecnología que no requiere equipos de refrigeración mecánica; simplemente un depósito de criógeno y el equipo de pulverización adecuado. Sin embargo, puede haber alguna distorsión de la forma del producto causado por el proceso criogénico que puedan afectar a la aplicación comercial. Por otra parte, el costo de líquido criogénico es relativamente alto y por lo tanto, puede limitar su aplicación comercial (Lovatt, James, James, Pham, y Jeremías, 2004).

Zhou *et al.*, (2010) también afirman que el termino criogénico, es aplicado para la temperatura de (-150°C), aunque, en el proceso alimentario dicho termino es ampliamente usado para identificar congeladores que funcionan con nitrógeno líquido (-196 °C) o con dióxido de carbono (-78 °C como solido), que es aplicado directamente sobre el producto alimentario, con el fin de conseguir una reducción de la temperatura. Esta técnica de congelación requiere un coste operativo muy alto, debido a su mayor consumo de refrigerante (consume más de 1 kg de Nitrógeno (N₂) por cada kilogramo de producto procesado), esto hace que la refrigeración criogénica sea una alternativa válida solo para alimentos económicamente costosos, tales como los mariscos y frutas finas (Salvadori y Mascheroni, 2002, Soto y Bórquez, 2001).

4.3.4.5. Súper-enfriamiento

El proceso de súper-enfriamiento se describió ya en 1920 por Le Danoisl. Los términos súper-enfriamiento y congelación parcial, se utilizaron para describir un proceso, en el que una parte menor del contenido de agua del producto se congela (Magnussen *et al.*, 2008). Durante el súper-enfriamiento, la temperatura del producto se reduce a menudo 1-2°C, por debajo del punto de congelación inicial del producto. Después de la congelación superficial de inicio, se equilibra la distribución de hielo y el producto obtiene una temperatura uniforme a la que se mantiene durante el almacenamiento y distribución (Magnussen *et al.*, 2008). Esto se ha utilizado con eficacia en productos del mar (Olafsdottir, Lauzon, Marteinsdottir, Oehlenschläger, y Kristbergsson, 2006;

Beaufort *et al.*, 2009) y ahora hay interés cada vez más grande, en usar este proceso, para extender la vida de almacenamiento de refrigeración de la carne Schubring (2009).

❖ **Ventajas del súper-enfriamiento**

La razón principal para la aplicación de esta tecnología es su capacidad de prolongar la vida útil de la carne, por lo menos de 1,4 a 4 veces más tiempo que los métodos tradicionales de congelación (Magnussen *et al.*, 2008). Como se ha mencionado anteriormente, la formación de hielo y la re-cristalización, pueden causar cambios micro-estructurales en el tejido del alimento durante la congelación, lo que resulta en la deshidratación celular, en pérdida por goteo y contracción del tejido en la descongelación.

Los distintos parámetros de la carne, tales como el pH, la fuerza iónica, la concentración de los gases disueltos, la viscosidad, el potencial de oxidación y reducción y la tensión superficial pueden ser alterados, lo que lleva a los cambios en la actividad enzimática y desnaturalización proteica (Cheftel, Levy, & Dumay, 2000). Duun *et al.*, (2008) encontraron una mejora significativa en la vida útil de carne de cerdo asado súper-enfriado a $-2,0^{\circ}\text{C}$, en comparación con la refrigeración tradicional a $3,5^{\circ}\text{C}$. Los asados super-enfriados mantienen buena calidad sensorial y bajos recuentos microbiológicos, durante todo el periodo de almacenamiento (16 semanas), mientras que la vida útil de las muestras refrigeradas era solo 14 días. Los ensayos sensoriales indicaron que la calidad de los asados super-enfriados no se redujo por la presencia de un alto número de bacterias psicrófilas. La pérdida por goteo en las muestras super-enfriadas era baja y presenta una menor variación que en las referencias refrigeradas y con las muestras que sufrieron un abuso de temperatura. Las muestras maltratadas por temperatura y refrigeradas presentaron menor pérdidas de líquido, medida por centrifugación que las muestras súper-enfriadas (Duun *et al.*, 2008). Para finalizar este apartado, cabe mencionar el argumento más importante, de Magnussen *et al.*, (2008), sobre los inconvenientes del súper-enfriamiento, que afirmaron que, calcular el tiempo de súper-enfriamiento requerido y la estimación de la distribución de temperatura en un proceso de enfriamiento y congelación, no es una tarea fácil. Siendo también difícil definir el grado de súper-enfriamiento necesario para mejorar de manera suficiente la vida útil y cumplir las demandas del proceso con el fin de alcanzar la calidad de los atributos deseados.

4.3.5. Efectos del método y tiempo de duración de la congelación

La congelación es un método de conservación ampliamente aceptado y utilizado para almacenar carne durante largos períodos de tiempo. En el laboratorio de ciencias de la carne, el almacenamiento congelado de muestras destinadas para su posterior análisis es cuestión de rutina y es un método eficaz en muchas aplicaciones. La congelación y almacenamiento de los cortes de carne para su distribución y venta en una fecha posterior es una práctica estándar en la industria cárnica. La utilización de productos congelados en vez de refrigerados, ofrece las ventajas de un mayor tiempo de almacenamiento, una mayor flexibilidad en el inventario y un mayor control del producto. La congelación y el almacenamiento congelado de la carne pueden afectar a las propiedades estructurales y químicas de los alimentos musculares, incluyendo cambios en las fibras musculares y las fracciones de lípidos y proteínas.

Durante el proceso de congelación, el jugo intracelular es expulsado por ósmosis hacia el espacio extracelular formando cristales de hielo que, posteriormente causan la pérdida de líquido de la carne durante la descongelación (Polymenidis, 1978). Estos tipos de efectos pueden influir fuertemente en los atributos de calidad de la carne y productos cárnicos, por lo tanto, una mejor comprensión de los efectos de almacenamiento congelado es de suma importancia para la industria de la carne. La congelación puede influir sobre algunas propiedades de la carne. Este hecho depende, sobre todo, en la velocidad de congelación (relacionado con la temperatura), las condiciones de almacenamiento congelado (duración, de la temperatura y su fluctuación, la exposición a la luz y / o el aire), y de la velocidad de descongelación (Jasper y Placzek, 1980). Estos datos están relacionados con el número, el tamaño y la morfología de los cristales de hielo, lo que resulta en más daño a los tejidos si son menos numerosos, más grande, e irregulares (Devine *et al.*, 1995). Los cristales más grandes se ven favorecidos por las tasas de congelación lenta y por fluctuaciones de temperatura de almacenamiento de los congelados.

La evaluación sensorial de la carne puede ser afectada por los procesos de congelación descongelación en relación con las características como el color, la textura (incluyendo jugosidad) o sabor (rancidez). La textura se vería afectada ya que, los cristales de hielo pueden causar daños celulares en el tejido y la pérdida de la capacidad de retención de agua. La localización de los cristales, el tamaño y la forma son fundamentales para

minimizar el daño (Ballin y Lametsch, 2008) y también de la velocidad, donde las tasas de congelación lenta y descongelación más rápidas producen mayores pérdidas de exudado (Sacks, Casey, Boshof, y van Zyl, 1993). El tamaño y la morfología de los cristales de hielo, así como su distribución (intra o extracelular), son sucesos importantes que ocurren en todo el proceso del daño macroscópico, que afectan a la carne congelada, que incluyen: cambios en CRA, después de la descongelación, cambios en la textura de la carne y cambios de color en la superficie de la misma (Lawrie *et al.*, 1981).

Desde que empezó el uso de la congelación rápida en la industria, las alteraciones que ocurren en los alimentos son más bajas que en la congelación casera (Bannister, Harrison, Dayton, Kropf, y Tuma, 1971). Además, el almacenamiento en congelación a largo plazo no parece afectar la ultra estructura de la carne, pero el tamaño de los cristales de hielo puede aumentar (Fernández *et al.*, 2007), donde los cristales más grandes producen mayor desnaturalización de la proteína, que conduce a la pérdida de la capacidad de retención de agua (Bhattacharya, Hanna, y Mandingo, 1988). Sin embargo, otros estudios han demostrado que, las pérdidas por descongelación aumentan, a medida que aumenta el tiempo de congelación, es decir el tiempo de almacenamiento congelado es también un factor que afecta la CRA; mientras más tiempo se almacena la carne congelada, mayor será la pérdida por goteo durante la descongelación. (Farouk y Swan, 1998; Fernández *et al.*, 2007).

En el estudio de Muela *et al.*, (2012) se evaluó el efecto de tres métodos de congelación, con tres duraciones de almacenamiento de congelados (1, 3 y 6 meses) sobre la calidad sensorial de cordero. Los métodos fueron: túnel de congelación de aire, túnel de congelación + congelador de flujo de aire y la cámara de nitrógeno + congelador con presión de aire. La muestra de la carne se congeló después de 48 h de maduración (0-4 ° C), utilizando como control la carne fresca (72 h de maduración a 2-4 ° C). Los análisis sensoriales (panel entrenado y pruebas de consumo) se realizaron en costillas (*Longissimus lumbar*) después de 24 h de la descongelación. Los resultados de la prueba de panel entrenado mostró que la congelación (método y / o la duración de almacenamiento) no tuvo ningún efecto significativo, mientras que los consumidores han encontrado diferencias notables solo entre los distintos tratamientos y sin detectar diferencias significativas entre la carne fresca y descongelada.

Del anterior estudio se ha llegado a la conclusión de que, ni los tres métodos de congelación industrial, ni los 6 meses de almacenamiento congelado, causaron notables cambios en la calidad sensorial de cordero, para ser detectados mediante una prueba de panel o rechazados por los consumidores, basado en pequeñas diferencias de ternura y la ausencia de olores y sabores indeseables debido a la congelación. Además, entre el grupo de consumidores ninguno mostró una preferencia clara y un 75% de los participantes (miembros de los grupos de 1 a 4), mostraron la misma preferencia, tanto para la carne fresca, como para la carne descongelada. Este hecho apoyaría a la industria para mantener la congelación de la carne de cordero, cuando hay existencias de abastecimiento grande de animales en el mercado, sin crear problemas en los consumidores, sobre la compra de carne congelada o el consumo carne descongelada, basada en la pérdida de calidad de consumo (Muela *et al.*, 2012).

A pesar de las ventajas de congelación de la carne fresca, la carne congelada tiene un estigma ya que, se percibe que la congelación reduce la calidad de la carne (Lagerstedt, Enfält, Johansson, y Lundström, 2008), aunque esta percepción no está claramente apoyada por evidencias científicas (Pietrasik y Janz, 2009). La calidad de la carne congelada depende de los procedimientos específicos que se utilizan para congelar, almacenar y descongelar la carne (Jasper y Placzek, 1980). Tal como se ha mencionado anteriormente, la velocidad de congelación puede afectar a la calidad de la carne. Una congelación lenta de la carne, le causa daños significativos a las paredes celulares de las fibras musculares. El daño a la carne durante la congelación lenta se debe al hecho de que los cristales de hielo se forman primero en los espacios situados entre las fibras musculares, ya que estos espacios contienen muy pocas proteínas y tejidos fibrosos que disminuyen el punto de congelación dentro de las células musculares. A medida que la congelación continúa, los cristales de hielo entre las fibras se hacen grandes, atravesando durante el proceso las paredes celulares. Esto es un problema particularmente durante la descongelación cuando el agua contenida en las fibras musculares dañadas, se pierde en forma de goteo (Berry, 1990; Smith et al, 1968; Uttaro y Aalhus, 2007).

4.4. La descongelación

Los alimentos congelados deben tratarse antes de utilizarlos, con el fin de prepararlos para el consumo humano, animal o para posteriores procesamientos. Esta operación tiene como objeto el poner a los productos en un estado lo más parecido posible a como se exhibía el producto antes de ser congelado. El proceso de descongelación se realiza con el principio inverso al de la congelación. La temperatura interna del producto aumenta hasta alcanzar el punto de fusión, luego se mantiene constante hasta la conclusión del proceso alcanzando por último la temperatura deseada.

Los alimentos perecederos como la carne, se debe cuidar su inocuidad durante su descongelación, evitando la subida de la temperatura, ya que en el momento de la descongelación si la temperatura sube más de 4,4°C, comenzaran a multiplicarse las bacterias presentes en la carne, antes de la descongelación. A demás dichos alimentos, nunca se deben descongelar mediante el agua caliente, ni tampoco guardarlos a temperatura ambiente, por más de dos horas (United States Department of Agriculture [USDA], 2010).

4.4.1. Principios fundamentales de la descongelación

Las condiciones de descongelación de la carne, se deben planificar y diseñar, con vista a minimizar los fenómenos que suceden de forma simultánea, mientras ocurre la transferencia de calor y estos sucesos son: pérdida de exudado, crecimiento microbiológico, pérdida por evaporación, reacciones de deterioración (El principal deterioro de la carne congelada, es debido a los procesos de oxidación de los lípidos y la degradación de las proteínas (Zhang, Farouk, Joven, Wieliczko, y Podmore, 2005). Estos procesos pueden determinar el punto final de la vida de presentación al mercado, de los productos congelados (Jiménez y Carballo, 2000).

El crecimiento de microorganismos, es más rápido en la descongelación por aire, es decir a mayor temperatura y baja velocidad de aire, será mayor la humedad relativa que estimula a los microorganismos a multiplicarse. Por otra parte, la pérdida por evaporación aumenta con la temperatura y velocidad de aire y disminuye al aumentar la humedad relativa. Sobre todo para evitar las reacciones de deterioración, que puede alcanzar su nivel máximo con temperaturas entre -2 °C y -10 °C, es muy importante que

el proceso de descongelación se realice lo más rápidamente posible dentro estos rangos de temperatura (Lawrie *et al.*, 1981).

Los materiales congelados generalmente se atemperan o se descongelan, antes del procesamiento en la industria alimentaria. La descongelación se suele considerar como completa cuando todo el material ha llegado a una temperatura de 0 °C y la no presencia de agua libre. Esta es la temperatura mínima a la que la carne puede ser deshuesada u otros productos cortados o separados a mano. Las temperaturas más bajas (por ejemplo, -5 a -2 ° C) son aceptables para cortes mecánicos del producto, pero este tipo de material es 'templado' en vez de descongelado. Los dos procesos mencionados no son los mismos en conjunto porque, el atemperado sólo constituye la fase inicial de un proceso de descongelación completa, mientras que la descongelación se considera a menudo simplemente como la reversión del proceso de congelación.

El proceso de descongelación tiene algunos pasos, primero ocurre el aumento de temperatura de la superficie de los alimentos, lo cual puede reiniciar la multiplicación bacteriana. En la superficie de los grandes músculos, el deterioro puede ocurrir antes de que las regiones del centro hayan sido descongeladas completamente. Hay una diferencia fundamental entre los sistemas de descongelación convencional y el de microondas. Los sistemas de atemperado y descongelación convencionales suministran calor a la superficie del alimento y luego se basan en la conducción para transferir el calor hacia el centro del producto, pero los sistemas de microondas utilizan radiación electromagnética para generar calor dentro del alimento (Riihonen & Linko, 1990).

La descongelación de materiales congelados es un componente importante de la elaboración de alimentos, mientras que la congelación es una manera conveniente de conservación de los alimentos (Taher y Farid, 2001). La congelación y descongelación son procesos complejos de transferencia de calor que, a través de una serie de cambios físico- químicos, pueden afectar notablemente la calidad del producto (Li y Sun, 2002).

En términos generales, la calidad de los alimentos congelados está estrechamente relacionado con los procesos de congelación y descongelación (Li y un, 2002). Esta opinión es apoyada por Ngapo *et al.*, (1999), que señaló que la pérdida por goteo se incrementó en los alimentos que se habían congelado y descongelado, en relación con los alimentos frescos.

La utilización de la congelación como método de conservación de los alimentos, es cada vez más creciente. Es una creencia popular que los alimentos congelados son de inferior calidad a los considerados frescos y ello, no es cierto, en especial a partir de la utilización de tecnologías de súper-congelación (alcanzar -18°C en el punto central del alimento en menos de dos horas) que permiten mantener intactas las características organolépticas propias de cada alimento, cosa que no ocurre con los alimentos frescos, que, aún mantenidos en ambientes refrigerados, se van degradando con el paso de los días. Lo que sí ha desacreditado a los alimentos congelados, es la utilización de materias primas de mala calidad, para enmascarar defectos que van a marcarse al momento de la descongelación o bien procedimientos inadecuados de descongelación que dan motivo a la pérdida de calidad y al desarrollo microbiano.

En primer lugar se debe tener en cuenta que la flora microbiana a la descongelación depende de la flora a la hora de congelación, aunque puede producirse una disminución de bacterias, por muerte o lesión en general de las gram-negativas que son más sensibles a los procesos de congelación. La descongelación se considera completa cuando el centro del alimento alcanza a 0°C y se considera atemperado cuando se llega a temperaturas entre -5° y -3°C .

La descongelación es un proceso más difícil que la congelación y no es simplemente el proceso inverso de la congelación. Según Fennema, (1973) el tiempo de la descongelación es en general 3 a 4 veces más largo que el destinado a congelar un producto. El tiempo de duración del descongelado es variable por cuanto depende de la temperatura inicial de congelado, la masa a descongelar, el tipo de producto (se requieren, por ejemplo, más kJ para un pescado blanco que para un pescado graso o para carne vacuna) y el método elegido de descongelación. La descongelación se utiliza generalmente en los alimentos de origen animal y son en éstos donde se manifiestan mayores problemas con motivo de procesos inadecuados.

Es posible también no efectuar la descongelación antes de la cocción, y en ocasiones incluso, es recomendable, porque hay productos que en los procesos industriales ya han sufrido procesos de descongelación y conviene mantener lo más higiénicos posibles las estructuras de sostén y estructuras musculares; es el caso, por ejemplo, de los crustáceos y los calamares, donde la cocción directa permite no solo conservar intacta la textura

original, el color y los sabores, sino también reducir la probabilidad de desarrollo microbiano.

Sin embargo, la cocción sin descongelamiento previo de los filetes de pescado los deja con una textura acartonada y en el caso de pollos enteros que se cocinan a temperaturas elevadas por escaso tiempo se corre el riesgo de que no se produzca una cocción adecuada alrededor de los huesos, con el consiguiente peligro sanitario, además de presentar un aspecto sanguinolento desagradable.

No obstante a ello, no es cierto que los productos descongelados se deterioren más rápido que los alimentos que no han sufrido este proceso (Elliott y Straka, 1964.), en todo caso, este efecto, está fundado en un proceso descontrolado de descongelación, ya que es muy frecuente que este procedimiento se realice sin precaución alguna, en una simple espera, dejando el alimento al medio ambiente o en inmersión en agua, cualquiera fuese la temperatura, el tiempo de exposición o el tipo o tamaño de la pieza a descongelar (Instituto Internacional del Frío. Editorial Acribia, S.A., Zaragoza, 1990).

4.4.2. Tipos de descongelación

Existen varios métodos de descongelación de la carne, que incluyen: la descongelación por ventilación forzada, descongelación por inmersión en agua, descongelación en la cámara de refrigeración, por microondas, por alta presión, descongelación por campo eléctrico de diferentes voltajes, descongelación al vacío, entre otros.

4.4.2.1. Descongelación por ventilación forzada

El método de descongelación por ventilación forzada de aire filtrado exige que la humedad se mantenga en forma decreciente de 100 a 60% para las carnes sin piel y en general la temperatura será de unos 5° C o bien decreciente de 20° C a 5° C y a una velocidad de 0,25 a 3m/segundo; valores que pueden cambiar en función del tamaño de la pieza y de la temperatura original de congelación. En general este método se considera poco adecuado para la industria, porque es de difícil control; requiere del filtrado del aire para evitar contaminaciones, provocando además deshidrataciones, según el tipo de producto; a la par de ser lento, ya que se requieren de acuerdo al tamaño de la pieza y la temperatura empleada de 24 a 48 horas (Instituto Internacional del Frío. Editorial Acribia, S.A., Zaragoza, 1990).

4.4.2.2. Descongelación por inmersión en agua

El método de descongelado por inmersión en agua se utiliza generalmente en pescados y pollos y requiere que el agua se encuentre a temperaturas inferiores a 10°C (con agregado o no de hielo) para evitar el desarrollo microbiano, pero debe realizarse controlando el tiempo de exposición para evitar el ablandamiento en exceso de las carnes; pudiendo utilizarse para minimizar este efecto un film plástico protector que evite el contacto directo con el agua. No utilizar agua circulante para evitar la maceración. La prohibición de congelar productos descongelados, contrario a la creencia general, está referida solamente a aquellos productos que descongelados “han sido mantenidos a temperatura ambiente”, pero es posible, frecuente y absolutamente inocuo realizar este procedimiento; por ejemplo, cuando se reprocesa en plantas industriales en tierra pescados, crustáceos y moluscos congelados a bordo, donde se descongelan, procesan (filetean, etc.) rápidamente en temperatura ambientales y se vuelven a congelar miles de toneladas diarias (Código Alimentario Argentino, Decreto 4238/68).

4.4.2.3. Descongelación en la cámara de refrigeración

La descongelación en la cámara de refrigeración requiere una planificación previa, sobre todo para alimentos de gran tamaño. Se suele poner el producto en cámara de refrigeración cuya temperatura es de 4°C±2. En este caso, el tiempo de descongelación depende del tamaño de las piezas a descongelar y puede tardar hasta 24 horas para las piezas más grandes (27 kg). El pescado es uno de los alimentos para los cuales se recomienda más utilizar la nevera para descongelar, aunque es el método más lento, microbiológicamente es uno de los más seguros (Chavarrías, 2012). Tanto la importancia de la congelación, como las correctas operaciones de descongelación de las carnes, han sido ampliamente estudiados (*Muela et al.*, 2012; *Yoon et al.*, 2004) y la pérdida por goteo, que se sabe que afecta la jugosidad de la carne, puede ser restringida por los métodos de descongelación rápida (Eastridge y Bowker, 2011), dichos métodos son explicados en los siguientes apartados.

4.4.2.4. La descongelación por microondas

Los campos electromagnéticos de alta frecuencia (Microondas y Radiofrecuencias) actúan sobre los sistemas biológicos, causando el aumento de la temperatura y

modificación de bacterias y toxinas. El alimento colocado en un campo electromagnético, absorbe energía y la transforma en calor debido a fricciones intermoleculares y a las oscilaciones de las moléculas dipolares que estén en el producto como es el agua (Orsat, 1999). Con respecto a la descongelación por radiofrecuencias, cabe mencionar que se abordará con detalle en el capítulo 5 de este trabajo.

El método de descongelación por microondas permite una descongelación muy rápida, pero su uso está limitado a pequeños volúmenes y tiene a su vez el inconveniente que parte del alimento puede cocinarse mientras que otra encontrarse aún congelada. Se utilizan en la gastronomía para atemperar o producir una cocción final de algunos productos. La propiedad única de las microondas, de penetrar y producir calor profundo, dentro de los materiales alimentarios (Tong, Lentz, y Lund, 1993) les hace muy potencial, en la aceleración de la descongelación. La descongelación por microondas, requiere menor tiempo de descongelación y menor espacio para el procesamiento y reduce la pérdida por goteo, los problemas microbianos y la deterioración química (Meisel, 1973; Rosenberg & Bogl, 1987; Virtanen, Goedecken, y Tong, 1997; Taoukis, Davis, Davis, Gordon, y Takmon, 1987).

La mejora en la uniformidad de la temperatura, durante la descongelación por microondas es necesaria. Tong *et al.*, (1993) diseñaron un horno de microondas con potencia continua variable y un controlador de temperatura a la inversa, para mantener un gradiente de temperatura deseada, dentro de un sistema de modelo alimentario. El uso de este aparato, redujo el tiempo de descongelación, en comparación con la descongelación convectiva, cuando se utilizaron en condiciones apropiadas de la temperatura y presión atmosférica.

La velocidad de descongelación de las muestras congeladas en microondas, dependen de las propiedades de los materiales, de las dimensiones, de la magnitud y de la frecuencia de las radiaciones electromagnéticas (Pangrle, Ayappa, Davis, Davis, y Gordon, 1991). Factores tales como propiedades térmicas que varían con la temperatura, formas irregulares y la heterogeneidad del alimento, hacen que el proceso de la descongelación sea más complicado (Taoukis *et al.*, 1987). Jackson *et al.*, (1997) estudiaron el efecto combinado de irradiación de microondas y crio-protector y revelaron que, los principales efectos de microondas y la concentración de etilenglicol, así como la interacción entre estos dos factores influyeron de manera significativa, en la

cantidad de hielo formado. El mecanismo a subrayar, se supone que el componente de campo eléctrico de la radiación electromagnética interactúa con moléculas dipolares de agua y alterando de esta manera los fenómenos de enucleación de hielo.

Actualmente, las microondas con frecuencias de 915 MHz, se utiliza para el calentamiento industrial y las de 2.450 MHz, para el uso doméstico. Los aceites son ésteres de ácidos grasos de cadena larga que tienen mucho menos movilidad en comparación con las moléculas de agua en respuesta a campos electromagnéticos oscilantes. Por consiguiente, la constante dieléctrica y el factor de pérdida de los aceites son muy pequeños en comparación con el agua libre. Las burbujas de aire en algunos alimentos reducen el factor de pérdida y aumentan la profundidad de penetración de las microondas a 915 MHz y 2450 MHz. La variación en las propiedades dieléctricas entre los productos de alto valor proteico puede ser tan grande como entre otros grupos de alimentos a 915 MHz y 2450 MHz. La temperatura y la sal son factores importantes en las propiedades dieléctricas de los productos cárnicos como el jamón cocido y carne de res.

El factor de pérdida (que, es una medida de la tendencia que tiene el material de disipar la energía electromagnética en calor (Stuchly, 1973)) de jamón cocido es mucho más grande que la carne cocinada. La profundidad de penetración de las microondas a 915 MHz y 2.450 MHz en el jamón es de menos de 0,5 cm. Las constantes dieléctricas (Toda la energía electromagnética absorbida por un alimento, no se convierte en calor, ya que, este proceso dependerá de la composición del alimento, de la frecuencia aplicada y del factor de pérdida de cada muestra, por tal motivo cada alimento tiene su constante dieléctrica (Hasted, 1973), ver el capítulo siguiente para una aclaración detallada sobre este tema) y la profundidad de penetración de las microondas en estos alimentos disminuyen, mientras que los factores de pérdidas aumentan, junto con aumento de la temperatura a 915 MH. En general, la predicción de las propiedades dieléctricas de los productos alimentarios es complejo y su medición directa necesita ser realizada basándose en rangos específicos de composición, temperatura y frecuencia (Wang *et al.*, 2003; Guan *et al.*, 2004).

El calentamiento por microondas ha encontrado muchas aplicaciones en la industria de procesamiento de alimentos, incluyendo el atemperado de los alimentos congelados para su posterior procesamiento, pre-cocción de tocino para el uso industrial, y en la

terminación del secado de pastas alimenticias. En estas aplicaciones, el calentamiento por microondas ha demostrado ventajas significativas, sobre los métodos convencionales en la reducción del tiempo de proceso, mejorando la calidad de los alimentos, y la reducción de los impactos ambientales (Tang, 2009).

4.4.2.5. La descongelación mediante alta presión

La descongelación por alta presión, sería otra nueva aplicación de alta presión sobre la industria alimentaria. Aunque se ha prestado menos atención a la descongelación por alta presión en comparación con la congelación de alta presión, varios estudios revelan que, la descongelación de alta presión puede preservar la calidad de los alimentos y reducir el tiempo de descongelación necesaria (Makita, 1992; Zhao, Fores, y Olson, 1996; Zhao *et al.*, 1998), lo que sugiere su potencial utilización para la industria alimentaria.

Makita (1992) encontró que la descongelación de la carne por alta presión, requiere sólo un tercio del tiempo necesario a presión atmosférica, pero produce cualidades sensoriales comparables a los de los productos descongelados convencionalmente. Teramoto y Fuchigami (2000) informaron de la mejora de la textura de konnyaku (gel de glucomanano de konjac) cuando konnyaku estaba congelado y luego descongelado a 20 -400 MPa.

Además, la descongelación de alta presión es más eficaz en la mejora de la textura del queso de soja congelada y que luego fue descongelando a presión atmosférica. Durante la descongelación de alta presión, la pérdida por goteo de la carne era demasiado pequeña y no hubo efectos negativos sobre el color, la fuerza de penetración o pérdida por cocción de la carne descongelada de vacuno (Zhao *et al.*, 1998).

La velocidad de descongelación, sólo depende de la conducción de calor, ya que la presión se transmite uniformemente a través de la muestra (Kalichevsky *et al.*, 1995). Zhao *et al.*, (1998) demostraron que el nivel de presión y tiempo de tratamiento afectan, el ritmo de descongelación y la calidad de producto, mientras que las características del producto, tales como el tamaño y la temperatura inicial, no afectaron la velocidad de descongelación, lo que indica la ventaja de la alta presión, para descongelar una gran cantidad de productos. Las limitaciones en la aplicación de esta técnica de descongelación son principalmente, el alto costo, los mismos que son encontrados en la

congelación por alta presión, y la desnaturalización de las proteínas inducida por la presión y la decoloración de la carne.

4.4.2.6. Descongelación por campo electrostático

Descongelar la carne de cerdo mediante la temperatura baja, requiere un tiempo largo y la calidad de la misma se afecta de forma significativa. Se ha conseguido acortar el tiempo de descongelación, utilizando campo eléctrico analizando al mismo tiempo, la calidad del producto. En un trabajo experimental (Uemura *et al.*, 2005), la descongelación de la carne de cerdo, se realizó colocando el alimento entre dos electrodos, que sirvieron para crear el campo eléctrico con tres voltajes diferentes que son 5, 10, 12 kv. La velocidad de la descongelación de los cubos de hielo fue más acelerada, cuando el alimento fue sometido bajo el campo eléctrico. El tiempo que duro para descongelar la carne fue de 62 minutos en 10kv y 30 minutos para 12 kv, frente 86 minutos en la muestra de control (descongelado en cámaras de frío). Cuando el tamaño de la muestra aumento a 20x50x100 mm, el tiempo necesario para la descongelación completa fue de 337 minutos en 5 kv, 168 minutos para 10 kv y 165 min (½ de la muestra de control) para 12 kv, además la muestra tratada por esta técnica no mostro alteraciones en cuanto al color, pH y en la capacidad de retención de agua (Uemura *et al.*, 2005).

En otro trabajo de investigación similar (Xiangli *et al.*, 2013), que incluía estudiar, las características de descongelación y post-descongelación de calidad de carne de cerdo mediante un campo eléctrico (esta vez de alto voltaje) se observo que: las muestras después de la descongelación con campos electrostáticos de alto voltaje (High voltaje electrostatic field (HVEF)) se compararon con las muestras de control (descongelados por aire), bajo los voltajes eléctricos de 4, 6, 8 y 10 kV y los resultados en tiempos de descongelación fueron 70, 52, 46 y 40 min, respectivamente, frente a 64 min en la muestra de control. A demás, el tratamiento por campo electrostático de alto voltaje (HVEF) era particularmente eficaz en el intervalo de temperatura de -5°C hasta 0°C. Durante los cinco días de almacenamiento post-descongelación, el nivel de nitrógeno básico volátil (VBN), (que indica el grado de frescura de la carne) aumentó de 10,64 a 16,38 mg/100 g con una tensión aplicada, por debajo de de 10 kV, mientras que el VBN del control aumentó 10,66 a 19,87 mg/100 g. Esto sugiere una aplicación potencial del

tratamiento de HVEF, en la descongelación y almacenamiento de carne congelada (Xiangli *et al.*, 2013).

4.4.2.7. La descongelación al vacío

(Swain y James, 2005), reportaron sobre la importancia de la descongelación al vacío explicando que, un sistema de descongelación al vacío, funciona mediante la transferencia de calor de condensación de vapor, hacia el producto congelado. Aquí el producto se somete a una presión menor a la atmosférica. A baja presión el vapor de agua se condensa en la superficie del producto, por esto se obtiene una transmisión térmica superficial muy superior a la de los métodos anteriores. Teóricamente, un vapor de condensación, en presencia de una cantidad mínima de un gas no condensable, puede lograr un coeficiente de transferencia de calor superficial muy superior a la alcanzada en la descongelación por agua. El principio de funcionamiento es que, cuando se genera vapor al vacío, la temperatura del vapor corresponderá a su equivalente presión de vapor. Por ejemplo, si se mantiene la presión de vapor a $1,106 \text{ Nm}^{-2}$, el vapor se generará a una temperatura de $15 \text{ }^\circ \text{C}$. El vapor de agua se condensará sobre cualquier superficie más fría, tal como un producto congelado. Dentro de los beneficios de la transferencia latente de calor está el de cocinar sin los problemas que se producirían a presión atmosférica. Los ciclos de descongelación son muy rápidos con materiales finos, lo que permite alcanzar altas producciones diarias.

El coste de equipos de gran capacidad (10-12 toneladas) puede restringir su aplicación. El producto congelado se voltea continuamente en el sistema de descongelación al vacío mientras, que el vapor de vacío se condensa en las superficies expuestas del alimento. Se ha reportado la obtención de una descongelación muy rápida, para los productos pequeños individuales congelados a granel. Swain & James, (2005).

4.4.3. Efectos negativos de la descongelación sobre la carne

La acción de formación de hielo en la rotura del tejido muscular y en el descenso de la CRA es bien conocida (Jalang *et al.*, 1987). La formación y modificación de cristales de hielo conducen a una redistribución del agua, que afecta a su re-entrada en los sitios originales (rehidratación proteica y CRA) resultando una eliminación de agua de los tejidos como exudado (Connell, 1968; Matsumoto, 1979). Calvelo (1981) explica la

pérdida de CRA del tejido por la acumulación de solutos y su relación con las membranas, además de la distorsión del tejido resultado de la formación de grandes cristales extracelulares. Las pérdidas de peso que sufren los músculos durante la descongelación son menores al estar los músculos unidos al esqueleto; esto tiende a reducir la exudación al mínimo. Deben descongelarse lentamente para reducir el goteo al mínimo (Yeates, 1967). Todo ello obliga a realizar los estudios de evaluación de calidad de carne sin congelar (Sierra, 1977).

Cuando la carne se descongela, los cristales de hielo pueden causar daños físicos a las micro-estructuras de la misma, y la descongelación juega un papel importante en el procesamiento de la carne congelada, porque, la cantidad de exudados que se generan en el proceso de descongelación, es una de las medidas de la calidad de la carne congelada (Añón y Calvelo, 1980). Además, la velocidad de descongelación puede influir en la cantidad de pérdidas de agua (Lind, Harrison, y Kropf, 1971; Uttaro y Aalhus, 2007).

Lo anterior coincide con las indicaciones de varios autores, que las condiciones en las que la carne congelada se almacena y se muestra pueden tener efectos significativos en la calidad (Jasper y Placzek, 1980), duración del almacenamiento (Berry, 1990; Hainan, Mittal, y Osborne, 1989; Méndez, 1999), la temperatura o las fluctuaciones en ella (Berry, 1990; Moore, 1990b; Méndez, 1999), la exposición a la luz y / o el aire (Bhattacharya, Hanna, y Mandigo, 1988), y el embalaje (Brewer y Harbers, 1991; Moore, 1990b; Méndez, 1999; Smith et al, 1968), pueden afectar la calidad de la carne.

Los alimentos congelados, aunque microbiológicamente son estables, son propensos a deterioros durante el almacenamiento, debido a las reacciones químicas (Akköşe y Aktas, 2008), ya que la actividad enzimática se ralentiza, pero no cesa (Devine *et al.*, 1995; Jiménez y Carballo, 2000).

4.4.3.1. Parámetros de la calidad de la carne afectados por la descongelación

❖ El contenido de agua

La congelación y descongelación alteran el contenido y la distribución de la humedad en el tejido de la carne. Como se ha mencionado en el capítulo anterior, la humedad como característica de calidad de la carne se puede evaluar de varias maneras, incluyendo la pérdida por goteo; pérdida por descongelación, pérdida por cocción, la

capacidad de retención de agua y el contenido de humedad total. La pérdida de humedad *post-mortem* en la carne es inevitable, debido a la disminución del pH (más cerca del pH en el punto isoeléctrico, de las proteínas), la pérdida de la adenosina trifosfato (ATP), y los efectos estéricos debido a la contracción de las miofibrillas como resultado del *rigor-mortis* y el acondicionamiento (Huff - Lonergan y Lonergan, 2005). Todos estos factores, actúan para liberar el agua que antes estaba inmovilizada y ligada a las proteínas, en los espacios interfibrilares. El agua liberada se redistribuye en los espacios sarcoplásmicos y extracelulares. Se sabe que la congelación y descongelación afectan a la cantidad de exudado (pérdida de descongelación y / o pérdida por goteo) (Añón y Cavelo, 1980).

En cuanto a la descongelación, existen importantes diferencias de opinión con respecto a la correlación entre la tasa de descongelación y el grado de exudado formado. González-Sanguinetti, Añón y Cavelo (1985) llegaron a la conclusión de que una disminución en el tiempo de descongelación (tiempo transcurrido desde -5 °C a -1 °C) por debajo de 50 minutos provocaba una disminución en el exudado. Esto se atribuyó a la fusión de hielo en los espacios extracelulares, causando un aumento en la actividad de agua, lo que resulta en el flujo neto de agua a los espacios intracelulares y su posterior reabsorción por las fibras deshidratadas. Estos autores sugieren que al aumentar el ritmo de descongelación, el nivel en la que el agua se hace disponible, supera la velocidad a la que las fibras pueden reabsorber agua, este exceso de agua, se excreta en forma de exudado.

Haugland (2002), también afirmó que un aumento de la frecuencia (o disminución en el tiempo) de descongelación provocó menos exudado. Ambrosiadis, Theodorakakos, Georgakis y Lekas (1994) informaron que, la descongelación rápida de la carne por inmersión en agua, se reducía la pérdida por goteo. Por otra parte, se encontró en el último estudio que la descongelación por microondas (35 minutos para llegar a 0 °C) provocó el aumento de la pérdida por goteo, dentro del mismo rango que, la descongelación por aire (5-7 h), pero esta pérdida por goteo fue todavía menos marcada que en el caso de productos descongelados por refrigeración a (28 h), que dio lugar a un alto valor de pérdida por goteo.

En general, existe un consenso en la literatura científica, sobre la noción de que la congelación, el almacenamiento congelado y la descongelación, contribuyen a una

disminución de la capacidad de retención de agua de la carne (Añón y Cávelo, 1980; Ngapo, Babare, Reynolds, y Mawson, 1999; Vieira, Díaz, Martínez y García-Cachan, 2009).

❖ **Desnaturalización de proteínas**

Tradicionalmente se ha pensado que, la desnaturalización de la proteína podría suceder durante la congelación, debido a un aumento de la fuerza iónica intracelular, después de la migración de agua a los espacios extracelulares. No obstante, este mecanismo ha sido refutado por varios autores. Añón y Cávelo (1980), Mietsch, Halász, y Farkas (1994) y Ngapo *et al.*, (1999) sugirieron que la desnaturalización de las proteínas no contribuye significativamente a la pérdida de calidad, ya que no encontraron diferencia marcada en la cantidad y la composición de las proteínas, entre el suero recogido a partir de muestras frescas y las muestras que habían sido congeladas y descongeladas de forma inmediata.

Tras el análisis de muestras de carne para la desnaturalización de proteínas utilizando el termograma de calorimetría diferencial de escaneo (Differential Scanning Calorimetry, en sus siglas en inglés, DSC), Wagner y Añón (1985) reportaron que la miosina es la proteína más afectada por la congelación. Se ha observado que las proteínas miofibrilares, fueron desnaturalizadas independientemente de la velocidad de congelación.

Benjakul, Visessanguan, Thongkaew, y Tanaka (2003), encontraron que la congelación y el almacenamiento congelado causó una marcada disminución de Ca_2^+ menos actividad de la ATPasa y un aumento en la actividad de Mg_2^+ ATPasa, la cual se traduce en la desnaturalización de la miosina y el complejo de la troponina-tropomiosina. También informaron de fuertes interacciones entre oxidación proteica (formación de carbonilos) y la desnaturalización de las mismas. Estos resultados contradictorios, reportados en los diferentes estudios sugieren la necesidad de seguir la investigación, para establecer los mecanismos que intervienen en desnaturalización de proteínas durante la congelación y el almacenamiento congelado.

❖ **El color**

La mioglobina se ha identificado en el exudado, por la técnica de electroforesis en gel, relacionado en parte, con el cambio en la estabilidad del color de la carne después de la

congelación y descongelación (Añon y Cávalo, 1980). También se ha informado que, la desnaturalización de la fracción de globina (molécula de mioglobina), se lleva a cabo en algún momento durante la congelación, almacenamiento congelado y descongelación (Cálvelo, 1981). La desnaturalización conduce a un aumento de susceptibilidad de la mioglobina a la auto-oxidación y la subsiguiente pérdida de presentación de color óptimo. Esta teoría ha sido verificada por muchos autores, comparando el grado del ‘*blooming*’ y la capacidad de la carne para resistir la oxidación a metamioglobina durante la refrigeración, después de almacenamiento en congelación / y descongelación (Abdallah, Marchello, y Ahmad, 1999; Farouk y Swan, 1998; Lanari, Bevilacqua, y Zaritzky, 1990; Lanari y Zaritzky, 1991; Leygonie, Britz, y Hoffman, 2011; Marriott, García, Kurland, y Lee, 1980; Otremba, Dikeman, y Boyle, 1999).

La existencia de un sistema enzimático capaz de reducir la metamioglobina en mioglobina fue propuesta por Livingston y Brown (1981) y fue llamado la actividad de reducción de metamioglobina, (myoglobin reduction activity [MRA] en sus siglas en ingles). La teoría es que la enzima es muy activa en carne fresca y la metamioglobina formada se reduce rápidamente a desoximioglobina oxigenada y de vuelta a oximioglobina reteniendo de este modo el “blooming” (rojo brillante), Sin embargo, a medida que la carne se madura o se congela disminuye la actividad de la MRA, comenzando la acumulación de metamioglobina, en la superficie de la carne en un ritmo rápido (Abdallah *et al.*, 1999).

❖ El pH

El pH de la carne congelada y descongelada, tiende a ser menor que la carne fresca (Leygonie et al., 2011). Como el pH es la medida de la cantidad de los iones libres de hidrogeno que existe en una solución, es posible que la congelación realizada con formación de exudados, provoque la desnaturalización de las proteínas tamponadoras, la liberación de iones de hidrogeno con la subsiguiente disminución del pH. De forma alternativa la pérdida de líquido de la carne, produce el aumento de la concentración de solutos, que a su vez resulta en la disminución del valor de pH. Otra explicación de este hallazgo, incluye la desaminación de las proteínas, por la acción de microbios o enzimas, con la liberación de átomos de hidrogeno (Leygonie, 2011).

5. USO DE LAS RADIOFRECUENCIAS PARA LA DESCONGELACION DE LA CARNE

5.1. Introducción

La energía electromagnética, fue descubierta en el año 1861 cuando J.C. Maxwell desarrollo su teoría de ondas electromagnéticas. La teoría se basa en los trabajos de previos de los científicos como A.-M. Ampère, M. Faraday y J.C. Gauss, y permitió deducir la existencia de unas ondas, formadas por campos eléctricos y campos magnéticos variables (**Figura 10**).

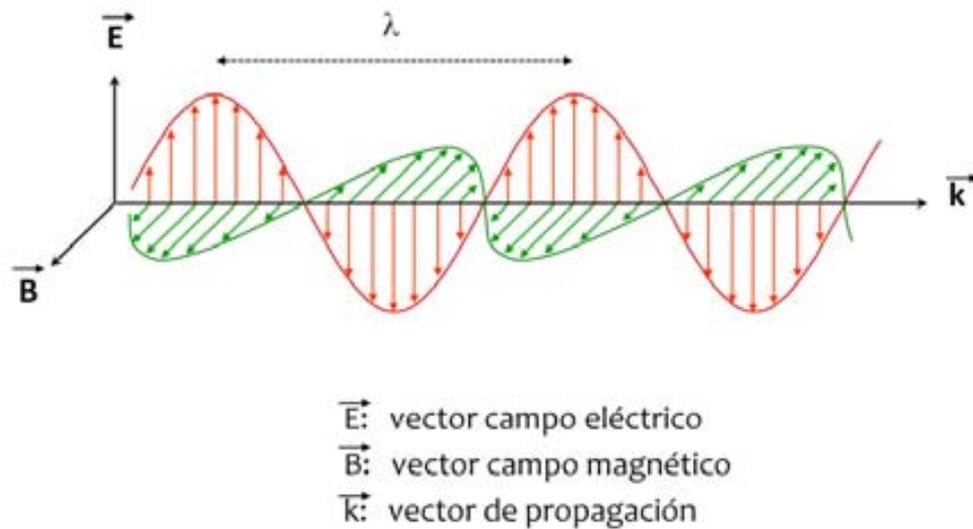


Figura 10. Representación de una onda electromagnética con los vectores de los campos eléctrico y magnético. λ indica la longitud de la onda.

En el mundo alimentario, el uso de las ondas electromagnéticas de alta frecuencia fue casual cuando, en 1945, ingenieros americanos, de la compañía Raytheon, que trabajaban en la tecnología de los radares y particularmente de los magnetrones descubrieron que dichas ondas podían también calentar alimentos, enseguida se presento una patente (*US patent 2, 495,429 - microwave oven*) sobre un nuevo tipo de fuente para calentar alimentos.

El calentamiento eléctrico se divide en calentamiento eléctrico directo (calentamiento óhmico) e indirecto (calentamiento por microondas o radiofrecuencias). En el primero, la energía eléctrica se aplica directamente al alimento; mientras que en el calentamiento indirecto o dieléctrico la energía eléctrica primero es convertida a radiación

electromagnética, que subsecuentemente genera calor dentro del alimento (Marra *et al.*, 2009; Vandivambal y Jayas, 2010).

5.2. Las radiofrecuencias en el espectro electromagnético

En el espectro electromagnético (**Figura 11**), está dividido en varias regiones (rayos X, ultravioleta, visible, infrarrojo, altas frecuencias, frecuencias sub-radio), pero a nosotros nos interesa las ondas de alta frecuencias. Las ondas de radiofrecuencias entre 30 kHz y 300 MHz, se encuentran después de las microondas y la luz visible a frecuencias más altas.

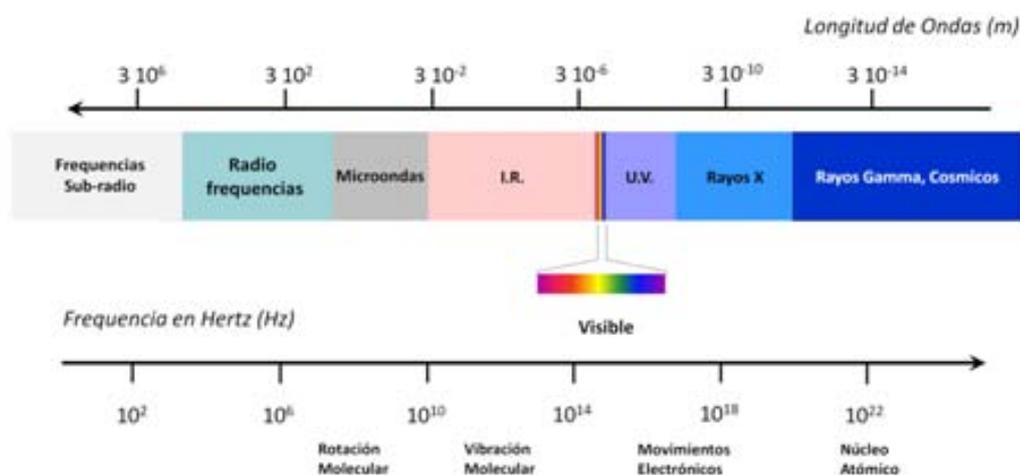


Figura 11. Espectro electromagnético.

La energía de las radiofrecuencias, no es suficiente como para romper enlaces químicos o para mover electrones, por tal motivo las radiofrecuencias al igual que las microondas, forman parte de las radiaciones no ionizantes. Cuando la energía de las radiofrecuencias incide sobre un alimento, realiza una acción de tipo mecánica y molecular y no ataca la estructura atómica, ni induce daños en el alimento. Como se deduce del gráfico, para tener un poder ionizante, se necesitan frecuencias más elevadas que deben estar en la porción del espectro electromagnético, completamente opuesta con respecto a las de radiofrecuencias y microondas (Shukla y Anantheswaran, 2001).

En los distintos países el espectro radio eléctrico se halla asignado a diversas aplicaciones de la energía electromagnética, radar, televisión, radio, telefonía móviles y inalámbricos. Para las aplicaciones industriales, científicas y médicas, sólo quedan

algunas bandas de frecuencia muy restringidas (**Tabla 7**) llamadas bandas I.S.M. (*Industrial Scientific and Medical*) que son libres, es decir, que no necesitan una licencia para ser utilizada. En el caso de las radiofrecuencias, las bandas 13,56 MHz, 27,12 MHz y 40,68 MHz se pueden utilizar para un calentamiento dieléctrico (Rowley, 2001).

Al igual que las microondas y el calentamiento óhmico, la tecnología radiofrecuencias es una tecnología donde el calor es generado volumétricamente al interior del alimento (Orsat, 1999). La principal diferencia radica en la frecuencia pero también en la forma de generar las ondas electromagnéticas. Las radiofrecuencias (RF) no se generan por un magnetrón pero mediante unos electrodos donde se aplica un campo eléctrico.

Tabla 7. Bandas ISM de uso libre, es decir sin licencia.

	Rango de Frecuencia	Frecuencia Central
Radiofrecuencias	13,553 – 13,567 MHz	13,560 MHz
	26,957 – 27,283 MHz	27,120 MHz
	40,66 – 40,70 MHz	40,68 MHz
Microondas	902 – 928 MHz	915 MHz
	2400 – 2500 MHz	2450 MHz
	5725 – 5875 MHz	5800 MHz

Entonces que es un calentamiento por radiofrecuencias, Piyasena *et al.*, (2003), Marra *et al.* (2009) lo resumen de la siguiente manera:

- ✓ Es un calentamiento dieléctrico, es una técnica de calentamiento destinada a los materiales que no manifiestan conducción de corriente apreciable, con o sin tensión elevada, es decir materiales dieléctricos.
- ✓ Si son introducidos en un campo eléctrico con dos cargas, una positiva y otra negativa, las moléculas del material se orientan en la dirección del campo (las moléculas positivas hacia polo negativo y viceversa).
- ✓ Si el campo eléctrico cambia la polaridad con una cierta frecuencia, a cada inversión de campo, se verifica una inversión de orientación de las moléculas.

- ✓ Tal proceso produce una disipación de energía con relativa producción de calor, directamente proporcional a la intensidad y a la frecuencia del campo eléctrico.
- ✓ La radiofrecuencia consiste en una exposición del producto en movimiento, por parte de energía electromagnética de ondas largas y frecuencia típica de las ondas radio.

5.3. Las constantes dieléctricas

En término eléctrico los alimentos son definidos como material dieléctrico (Rowley 2001) donde se tiene que definir el concepto de permitividad. La permitividad de un material caracteriza la respuesta del material al polarizarse bajo la acción de un campo eléctrico. Esta respuesta depende del frecuencia aplicada y presenta un retraso temporal lo que hace que la permitividad tiene una componente real (ϵ_r') y un componente complejo o imaginaria (ϵ_r''). También en el electromagnetismo la permitividad del material se relaciona con la permitividad del vacío ϵ_0 y se denomina permitividad relativa y se define como $\epsilon_r = \epsilon_r' - j\epsilon_r''$ donde ϵ_r'' es la constante dieléctrica real, que representa la capacidad del material para absorber, transmitir y reflejar de una porción del campo eléctrico externo, es constante para cada material a una frecuencia determinada y bajo condiciones constantes, mientras ϵ_r'' es compleja o imaginaria y se denomina factor de pérdidas, que mide la cantidad de energía que se pierde del campo eléctrico y está relacionada con la forma en que la energía del campo es absorbida y convertida en calor en un material, cuando pasa a través de este. (Venkatesh y Raghavan, 2004).

La importancia de estos parámetros se puede reflejar en las ecuaciones que se utilizan para determinar, la densidad de potencia disipada al interior de un material resistivo P_v (EQ 1.) o la distancia de penetración dp (EQ2.):

$$P_v = 2\pi\epsilon_0 f \epsilon_r'' E^2 \quad \text{EQ1. (Ryyänen 1995)}$$

$$dp (m) = \frac{c}{2\pi f \sqrt{2\epsilon_r'}} \times \left[\left(\sqrt{1 + \left(\frac{\epsilon_r''}{\epsilon_r'} \right)^2} - 1 \right) \right]^{-1/2} \quad \text{EQ2. (Bengtsson y Risman, 1971)}$$

donde f es la frecuencia en Hz, ϵ_0 es la permitividad en el espacio libre, c la velocidad de la luz y E la intensidad del campo eléctrico localmente, en un punto concreto, ϵ_r' es la constante dieléctrica y ϵ_r'' es el factor de pérdida.

Más concretamente, el campo eléctrico generado actuará sobre las moléculas de los alimentos de diferente manera. Primero actúa sobre moléculas con momentos de dipolo eléctrico permanente que se denominan moléculas polares. El agua tiene un dipolo permanente y es a menudo un componente importante en los materiales biológicos. En un campo de MO o RF, los dipolos de las moléculas de agua tratan de seguir el campo eléctrico que cambia rápidamente. Estas moléculas que giran de forma rápida, pueden causar fricciones con otras moléculas adyacentes a ellos, lo que lleva a un aumento de la temperatura. Esto se conoce como orientación o polarización dipolar, y es fuertemente dependiente de la temperatura (Marra *et al.*, 2009; Hossan *et al.*, 2010).

Otro mecanismo importante que contribuye al calentamiento por MO y RF es la conductividad iónica. Por ejemplo, la sal, cloruro de sodio, disuelta en los materiales biológicos se puede separar en dos partículas cargadas o iones opuestos (Na^+ y Cl^-). Las partículas cargadas se mueven hacia atrás y adelante en un campo eléctrico alterno. La colisión entre las cargas en movimiento se traduce en calentamiento dieléctrico (Wang *et al.*, 2003).

5.4. Factores que influyen en las propiedades dieléctricas de los alimentos

Como se ha visto las propiedades dieléctricas proporcionan información acerca de la interacción entre los campos eléctricos y los productos alimenticios (Ikediala *et al.*, 2002). Para un material determinado varios factores importantes están involucrados en los valores de las propiedades dieléctricas. Algunos de estos factores están relacionados con la naturaleza del material (composición, estructura), mientras que otros están asociados con las condiciones en las que se aplica el electro calefacción (temperatura, frecuencia), y otros están relacionados con la edad o el estado de madurez de la materia alimenticia.

Estos parámetros, a pesar de llamarse constantes, son variables con distintos factores como: la frecuencia del campo electromagnético, la actividad de agua, las concentraciones de sales, el contenido en grasa, etc. (Swan et al, 2004; Picouet, et al 2005; Wang et al, 2005; Marra et al, 2009).

Con la excepción de algunos materiales con muy baja pérdida (materiales que absorben esencialmente ninguna energía a partir de los campos de alta frecuencia), las propiedades dieléctricas de la mayoría de los materiales varían considerablemente con la frecuencia de los campos eléctricos aplicados con la temperatura del material. Por lo tanto, un fenómeno importante que contribuye a la dependencia de la frecuencia de las propiedades dieléctricas, es la polarización de las moléculas, derivadas de la orientación con el campo eléctrico impuesto, que tienen momentos dipolares permanentes (Venkatesh y Raghavan, 2004). Con respecto al rango de temperatura que se considera -20°C y +10°C, hay un cambio de fase del agua que afecta las propiedades dieléctricas.

Como se muestra en la **Tabla 8**, la constante dieléctrica (ϵ_r') y el factor de pérdida (ϵ_r'') varían con la frecuencia y la temperatura. Al analizar los datos de dichos parámetros con respecto a la carne de vacuno, se observa que la constante dieléctrica (ϵ_r') y el factor de pérdida (ϵ_r'') dependen de la temperatura y frecuencias utilizadas. A frecuencias bajas (27 y 35 MHz), la (ϵ_r') aumenta al incrementar la temperatura (320), pero, a frecuencias un poco más alta de 100 MHz, ha descendido a un valor de (64), también se puede observar, lo que ocurrió con respecto a la carne de cerdo, que a la frecuencia baja de (27,12 MHz), el factor de pérdida (ϵ_r''), aumenta alcanzando un valor de (527), mientras que, a la frecuencia alta de (2450 MHz), disminuye al incrementar la temperatura. Según Wang *et al*, (2005), tanto el aumento, como la disminución del (ϵ_r''), se debe a la conductividad iónica y a la dispersión del agua libre en el alimento, respectivamente.

Al observar los valores de dicha tabla en conjunto, se puede ver que a frecuencias bajas la constante dieléctrica (ϵ_r') y el factor de pérdida (ϵ_r'') marcan valores elevados, con respecto a los obtenidos a frecuencias altas. Esta diferencia se debe a las variaciones de longitud de onda, ya que las longitudes de onda de las frecuencias altas, tienen una baja penetración en el alimento, en comparación con las longitudes de onda de frecuencias bajas (Sosa-Morales *et al*, 2010).

Para la mayoría de alimentos, las propiedades dieléctricas aumentan a medida que el alimento se descongela, después cae gradualmente a medida que se incrementa la temperatura (Bengtsson y Risman, 1971). Las propiedades dieléctricas de la carne congelada son muy bajas y no se ven afectadas a temperaturas por debajo de -10°C (Mudgett *et al*, 1979). El agua congelada es poco móvil y también afecta a los iones del alimento provocando una reducción en su movilidad.

Tabla 8. Constante dieléctrica ϵ_r' y ϵ_r'' de productos cárnicos que pueden ser descongelados.

	Frecuencia (MHz)	Temperatura (°C)	ϵ_r'	ϵ_r''	dp (cm)	Referencia
Carne de Vacuno	27,12	-10	38	23	49,1	
	27,12	0	253	71	39,8	Farag <i>et al.</i> , 2008
	27,12	+10	320	75	42,2	
Carne de Cerdo	27,12	+5	47	527	5,7	Zhang <i>et al.</i> , 2004
Carne de Vacuno	35	-10	13	7	72,8	
	35	0	18	22	29,9	Bengtsson <i>et al.</i> , 1963
	35	+10	101	808	3,6	
Carne de Vacuno	100	+1.2	64	115	4,1	Tran & Stuchly 1987
Preparado de carne de cerdo	915	+5°C	37	28	1,2	Zhang <i>et al.</i> , 2004
Jamón Cocido	2450	-10	7	2	2,6	
	2450	0	44	17	0,8	Sipahioglu <i>et al.</i> , 2003
	2450	10	44	16	0,8	
Preparado de carne de cerdo	2450	+5	36	17	0,7	Zhang <i>et al.</i> , 2004

La dependencia de la temperatura del constante dieléctrico es bastante compleja, y puede aumentar o disminuir en función la temperatura del material. La temperatura de un material tiene un efecto significativo en las propiedades dieléctricas. En general, el factor de pérdida aumenta con el aumento de temperatura a bajas frecuencias, debido a la conductividad iónica (Guan *et al.*, 2004) y disminuye al aumentar la temperatura a altas frecuencias, debido a la dispersión de agua libre, siendo similar este argumento al planteado por Wang *et al.*, (2005).

Las propiedades dieléctricas de los materiales dependen de su composición química. En los alimentos, el agua es generalmente el componente predominante. Por otra parte, el contenido de sal, de grasa y otros minerales tendrá un efecto sobre la absorción de las ondas de radiofrecuencias, según la manera en que están unidos o restringidos en su movimiento por otros componentes de los alimentos.

Por ser el agua el elemento principal que absorbe la energía microondas en los alimentos, en consecuencia, a mayor contenido de humedad, mejor será el calentamiento. En su forma pura, el agua es un ejemplo clásico de un dieléctrico polar (Venkatesh y Raghavan, 2004). En general, un mayor contenido de humedad resulta en mayor constante dieléctrica y el factor de pérdida del alimento (Rowley *et al.*, 1997).

Por lo tanto en el rango de temperatura que se considera (-20°C y +10°C) el cambio de fase del agua adquiere una importancia que se refleja en los valores de las constantes dieléctricas. Aun así el agua, es el medio en el que se encuentran disueltas sales, proteínas, ácidos nucleicos, y otras moléculas de pequeño tamaño; por ello, es difícil comprender y predecir el comportamiento dieléctrico de los alimentos basándose únicamente en el comportamiento del agua (Buchner *et al.*, 1998; Ndife *et al.*, 1998; Kraszewski, 2000).

La geometría de los sistemas modelo alimentarios se ha reportado como un aspecto importante por, Marra *et al.*, (2007); Birla *et al.*, (2008), donde afirman que, durante el calentamiento con RF hay una gran influencia de la geometría, ya que los cubos mostraron calentamiento más uniforme, mientras que los cilindros deben ser colocados en posición vertical respecto a los electrodos para mejorar la uniformidad. Chang *et al.*, (2004).

5.5. Los equipos de radiofrecuencias

En el sistema de radiofrecuencias en paralelo de placas, uno de los electrodos es situado para establecer función de condensador, para almacenar energía eléctrica. El material objetivo a calentar se coloca entre pero sin tocar los electrodos paralelos (**Figura 12**). Debe tenerse en cuenta que, si bien el uso de electrodos de placas paralelas, es la más comúnmente utilizada configuración de electrodos para el calentamiento de materiales más gruesos, se incluyen otros dos tipos de configuración según Jones y Rowley (1997).

El calentamiento de materiales resistivo se produce, cuando el campo eléctrico de alta tensión alterno, se aplica a un medio intercalado entre dos electrodos de placas paralelas, formando así una configuración de condensador (Ryynänen 1995).

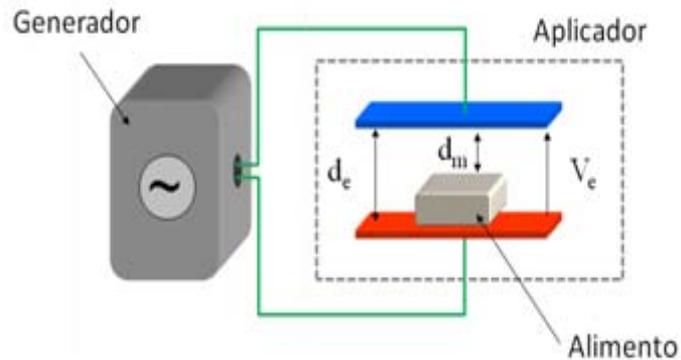


Figura 12. Esquema de un equipo de radiofrecuencia.

Como se muestra en la **Figura 12**, La energía de RF es generada por medio de un generador de RF que produce campos oscilantes de energía electromagnética. Esta energía es mandada a los electrodos del aplicador, directamente o a través de un cable de 50 ohmios. Los parámetros importantes son el voltaje (V_e) aplicado entre los electrodos, las distancias entre estos electrodos (d_e) y la distancia entre el producto resistivo y el electrodo superior (d_m).

¿Que implica la existencia de espacio de aire, entre el producto destinado a calentar y el electrodo superior? Según Orsat (1999), existen dos distribuciones heterogéneas de campo eléctrico en cada medio (en el producto y en el espacio libre) y el campo eléctrico en el espacio libre, es igual al campo eléctrico en el producto, multiplicado por su constante dieléctrica. El voltaje aplicado, sería la suma de dos voltajes: el voltaje que se aplica para crear el campo eléctrico en el producto y otro para el espacio libre.

En la **Figura 13** se observa la existencia de dicho espacio libre (representado por d_m), entre el producto a calentar y el electrodo superior, que necesita la aplicación de voltaje intermedio, es por esto, en equipos diseñados con una configuración plana y con un espacio libre mínimo entre el producto a calentar y el electrodo superior, se podrá realizar el proceso de calentamiento de los alimentos con ahorro de energía, es decir al

minimizar el espacio libre, se reducirá también el gasto de energía. El generador de los equipos de RF, se compone de un circuito oscilador, fuente de alimentación y control.

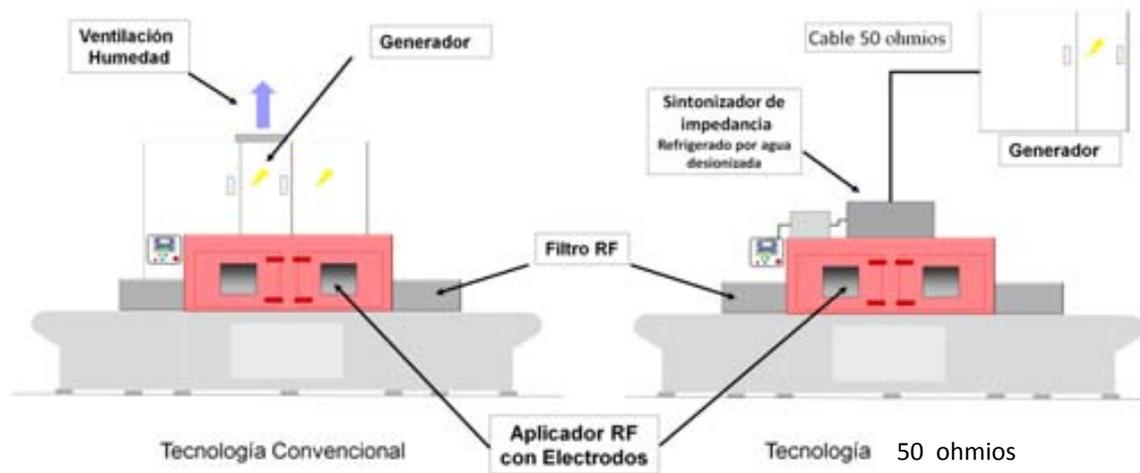


Figura 13. Esquemas de los tipos de equipo de radiofrecuencias convencional y 50 ohmios que se puede utilizar para la descongelación de bloques de carne, por ejemplo.

A nivel industrial o de planta piloto existen principalmente dos tecnologías (**Figura 13**) que se diferencia por el modo de llevar la energía del generador al aplicador:

- La tecnología convencional donde el generador está a poca distancia del aplicador, por ejemplo encima del aplicador
- La tecnología 50 ohmios donde el generador puede estar a varios metros del aplicador. En este caso los dos elementos están conectados por un cable coaxial de 50 ohmios y de un sintonizador de frecuencia.
- En los sistemas convencionales el nivel de energía aplicada, es indicada por el detector de corriente, a través de la válvula de alta potencia, que es el triodo, dentro del generador.
- La frecuencia de operación, del generador en la tecnología de 50 ohmios, es controlada por un oscilador de cristal y está fijada a frecuencias específicas de 13,56 MHz o 27,12 MHz.
- En la tecnología de 50 ohmios, para que el generador transmita energía de forma efectiva, se debe conectar con una fuente de una impedancia de 50Ω .

Tanto la tecnología convencional de RF, como la de 50 ohmios, los electrodos se deben diseñar con vista al producto, que va a ser calentado o secado, aunque el tamaño y forma de electrodos puede tener grandes variaciones, los más importantes son los denominados de “Placa” y de “Rodillos” (**Figura 14**).

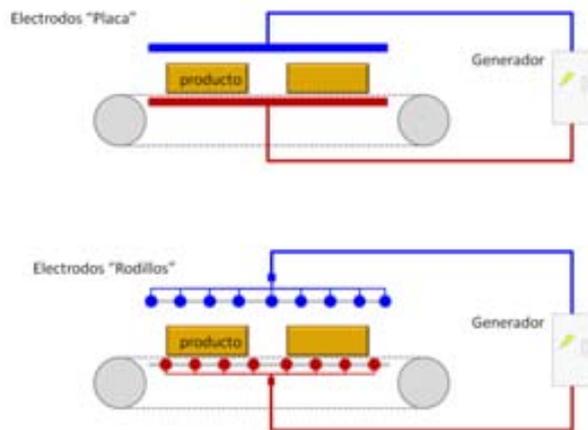


Figura 14. Diferentes tipos de electrodos para procesar bloques de carne (Adaptado de Rowley, 2001).

Electrodos de “Placa”: Es el diseño más utilizado comúnmente, con el campo eléctrico precedente de una tensión de alta frecuencia, aplicada a través de los electrodos que forman un condensador de placas paralelas. Este tipo de sistema puede ser utilizado, tanto para aplicaciones de procesamiento por lotes, como continuos, principalmente es usada para productos relativamente gruesos o bloques de materiales. Es el que se utiliza en la descongelación de bloques de carne (Rowley, 2001).

Electrodos en forma de “Rodillos”: Este diseño se utiliza, para los productos que tienen grosor intermedio. Esta disposición de los electrodos, reduce la capacitancia global del aplicador que, a su vez, hace más fácil el arranque del sistema, así como reduce ligeramente, la tensión que se aplica mediante los electrodos, con el fin de producir, una determinada densidad de potencia de RF en el producto. Esta configuración de los electrodos, se utiliza en aplicaciones de post-cocción (Rowley, 2001).

Cualquiera que sea el tipo de aplicador, el sistema de procesamiento de alimentos por RF, será más eficaz cuando se combina con el calentamiento convencional de aire caliente y el aire caliente se puede introducir directamente en el aplicador o dirigirse hacia la superficie del producto a través de los electrodos. Esta combinación de

calentamiento superficial volumétrico y convencional, optimiza los procesos de cocción y secado de los productos con menos gasto de energía (Rowley, 2001).

Figura 15. Túnel semi-industrial de Radiofrecuencias (27,12 MHz) con una potencia máxima de 15 kW. Este equipo es de tipo convencional y funciona con electrodos de tipo “rodillos” que cubren una superficie de 1,5x1,0 m (Fuente: IRTA).



El equipo que se muestra en la **Figura 15** es un túnel semi-industrial de radiofrecuencia que está provisto de un generador acoplado al mismo, una cinta transportadora que corre a través de la unidad de RF pasando entre los electrodos superior e inferior, así como de filtros de RF, para la protección del operador. Al interior tiene electrodos de tipo rodillos para generar un campo eléctrico horizontal, para muestras finas <6 mm o vertical para muestras gruesas, hasta 15 cm de espesor.

5.6. Aplicación de las radiofrecuencias en la descongelación de productos cárnicos

La descongelación de productos cárnicos por calentamiento dieléctrico tiene que permitir aumentar la velocidad del proceso, reducir el coste energético y mejorar la calidad del producto final con respecto a una descongelación convencional (ver capítulo 2). Dentro de las tecnologías de calentamiento dieléctrico hay las microondas, la radiofrecuencia y el calentamiento óhmico. Los dos primeros se utilizan industrialmente cuando al último funciona a nivel de plata piloto (Iecer *et al.*, 2010).

Durante el calentamiento por radiofrecuencias, la energía electromagnética puede penetrar profundamente en las muestras (**Figura 12**), sin provocar calentamiento

superficial y sin desarrollar puntos fríos o calientes. Así se puede evitar gradiente de temperaturas, especialmente en bloques de carne.

También como se ha visto, que el cambio de fase del agua tiene un impacto importante sobre el factor de pérdidas y por lo tanto sobre la eficacia de un proceso por altas frecuencias. El mayor riesgo que existe es que no todas las partes de un bloque de carne se descongelen a la misma velocidad y que pase el 0°C al mismo tiempo. Así se pueden tener fenómenos de *runaway heating* (Frag et al. 2009) donde algunos puntos llegan a temperaturas superiores a 20°C cuando el resto de la muestra tiene temperaturas por debajo de 0°C.

Tabla 9. Descongelación de la carne por RF, realizada por diferentes autores.

	Tamaño Muestra	Peso	Potencia	Temperaturas	Tiempo	Referencias
Vacuno Magro	20×20×10 cm	4 kg	600 W	-17°C hasta -6°C	8 min	Farag <i>et al.</i> 2008
Grasa/Magro	20×20×10 cm	4 kg	600 W	-17°C hasta -7°C	8 min	Farag <i>et al.</i> 2008
Grasa	20×20×10 cm	4 kg	600 W	-17°C hasta -8°C	8 min	Farag <i>et al.</i> 2008
Vacuno Magro	20×20×10 cm	4 kg	400 W	-17°C hasta -1y5°C	35 min	Farag <i>et al.</i> 2009
Lomo de Cerdo	36x20x10 cm	4 kg	≈1,2 kW	-19°C hasta -3°C	24 min	Picouet 2010
Lomo de Cerdo	18 x Ø10cm	1,4 kg	≈300 W	-20°C hasta -2°C	22 min	Datos IRTA 2013

Por lo tanto en un proceso de calentamiento dieléctrico, se suele hablar de atemperado y no de descongelación, es decir que se busca llegar a -1°C y pasar la barrera del 0°C mediante una estabilización en cámara de refrigeración a 4-5°C (Picouet, 2013). En la **Tabla 9**, se han referenciado algunos datos de descongelación de bloques o muslo de carne por radiofrecuencias. Estos datos indican que con un tiempo de 20 – 40 min se pueden alcanzar temperaturas alrededor de los -2/-1° C.

En su trabajo de evaluar el uso de la tecnología de RF, para la descongelación de bloques de carne de vacuno, Farag *et al.*, (2008, 2009 y 2011) utilizaron bloques rectangulares de 4 kg con un espesor de 10 cm. El objetivo de esto trabajos fue de descongelar todos los bloques con el propósito de llegar a la temperatura de -1 y +5°C. El estudio del año (2009) comparo los resultados de temperatura, entre bloques de carne

descongelados por RF y por la técnica convencional (se utilizó una incubadora con cavidad interna, para la descongelación con aire).

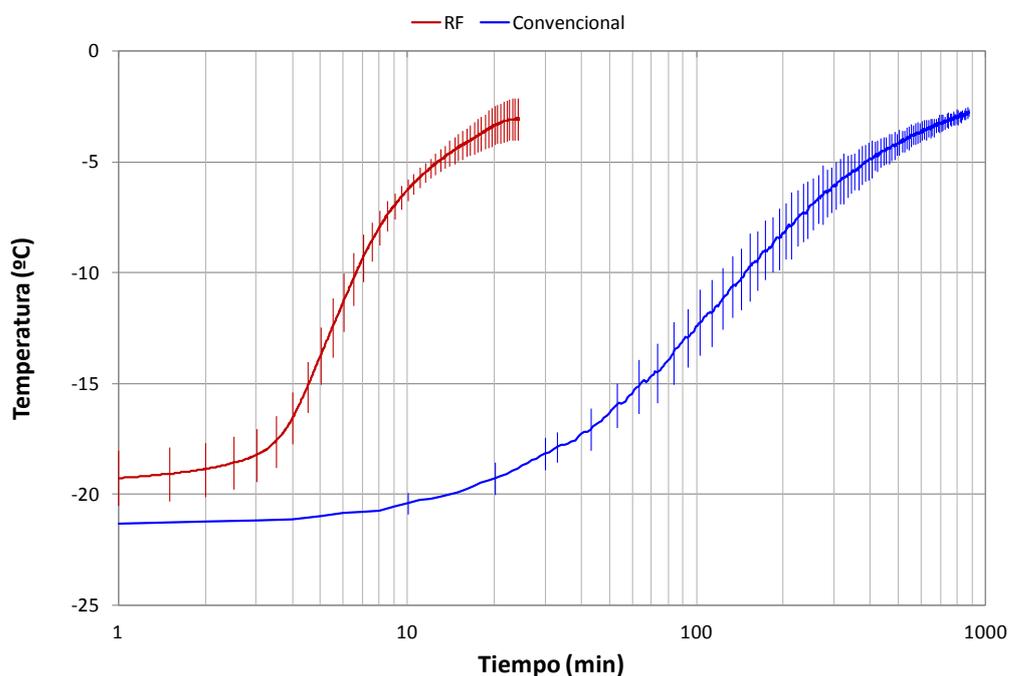


Figura 16. Gráfico del tiempo de descongelación mediante RF y Convencional (Fuente: datos IRTA, 2013).

El resultado fue que para llegar a las temperaturas elegidas el equipo de RF tardó 35 minutos y el convencional 50 horas y 20 minutos, lo cual demuestra la gran diferencia de tiempo entre ambas técnicas. Con respecto a la calidad de la carne descongelada por ambas técnicas, Farag et al. (2009) indican que la descongelación por RF resultó en una disminución significativa en la pérdida por goteo ($P < 0,05$) cuando se compara con la descongelación por aire. La pérdida de micronutrientes (mg / ml de goteo) también fue mayor en las muestras descongeladas por aire ($P < 0,05$). Las propiedades dieléctricas de carne de vacuno magra, medidas desde 0,01 - 20GHz a 5°C, fueron mayores después de la descongelación por radiofrecuencias. Estos resultados proporcionan información valiosa sobre la fijación de agua en la carne tras el atemperado / descongelación por radiofrecuencias.

En un estudio realizado en el IRTA (Monells), Picouet (2010) reportaron que, en la descongelación de bloques de carne de cerdo de 4 kg, mediante la aplicación de un tratamiento de radiofrecuencia duró 24 minutos para alcanzar una temperatura de -3°C,

mientras con el tratamiento convencional, por aire duro un tiempo de 140 min. Alcanzando una temperatura de $-3,5^{\circ}\text{C}$.

En otro trabajo experimental realizado en el año 2013, en el IRTA de Monells, se han observado resultados similares, tal como se muestra en la **Figura 16**. En este trabajo se atemperaron lomos de un peso medio de 1,4kg por radiofrecuencia y por un método convencional en cámara de refrigeración a $+5^{\circ}\text{C}$. Se puede observar que en el método convencional, el tiempo para llegar a la temperatura de -24°C hasta -3°C fue de unas 15 horas, mientras las muestras descongeladas por radiofrecuencias solo tardaron 24 minutos para pasar de -19°C hasta -3°C , lo cual representa una reducción de tiempo muy notable.

5.7. Ventajas e inconvenientes de las radiofrecuencias

En la siguiente tabla se intentan resumir las ventajas e inconvenientes de la tecnología de calentamiento radiofrecuencias para descongelar productos de cárnicos.

Tabla 10. Ventajas e inconvenientes de las radiofrecuencias.

Principales Ventajas	Principales Inconveniente
El calentamiento se hace de forma volumétrica lo que reduce los gradientes de temperaturas en los bloques de carne	Las radiofrecuencias permiten atemperar pero no descongelar totalmente hasta +5° debido al riesgo del sobrecalentamiento en puntos concretos (fenómeno de <i>runaway heating</i>)
La descongelación se realiza en cuestión de minutos en lugar de horas / días, incluso para los grandes bloques de productos	Para aplicar las altas frecuencias se necesita un buen conocimiento del producto y de sus características dieléctricas y termodinámicas
Las radiofrecuencias son eficaces para los alimentos de gran diámetro, como la carne, porque la baja frecuencia de la radiación electromagnética incidente permite una mayor profundidad de penetración	Hay un riesgo de formación de arcos eléctricos, en particular en muestras muy húmedas que pueden provocar quemaduras locales.
Se minimiza el riesgo de degradación del producto (pérdidas por goteo, el deterioro de las características sensoriales, químicas y físicas, el crecimiento de bacterias, etc.)	El coste de adquisición del equipo puede bloquear su implantación en la industria. Soporte en innovación y desarrollo limitado. Falta de datos dieléctricos para las RF.
El producto se obtiene a la temperatura correcta necesaria para la siguiente etapa de procesamiento; Se puede procesar en continuo	Para implantar esta tecnología en la industria, se necesita también re-evaluar los movimientos de productos congelados y descongelados, algo que puede ser un freno para algunas industrias.
RF no requiere que los electrodos estén en contacto con el alimento (calentamiento sin contacto).	Se necesita un personal cualificado para mantener y ejecutar el proceso
El control del proceso es más rápido y mejor que en los procesos tradicionales ya que la fuente de energía puede conectarse y desconectarse	

6. LA UTILIZACIÓN DE LA ESPECTROSCOPIA DIELECTRICA EN LA INVESTIGACION ALIMENTARIA

6.1. Introducción

Actualmente la industria alimentaria está sujeta a desafíos de suma importancia, tales como la internacionalización del mercado y a la globalización de la economía mundial, que provocan alta competencia, presionando a dicha industria a la innovación constante, a la evolución continua de la tecnología, para que de esta forma, dar respuestas eficaces, a los constantes cambios de hábitos del consumidor exigente, de este modo, las industrias tienen que concentrar sus esfuerzos en la innovaciones tanto del proceso, como del producto. La innovación de proceso conduce a la aplicación de nuevas tecnologías y a la elaboración de productos de alta calidad y seguridad, que están directamente relacionados con las exigencias de los consumidores. En este contexto, los sensores modernos juegan un papel importante y suponen un gran avance para el control de las propiedades concretas o atributos de los alimentos. Estos sensores pueden ser basados en las radiaciones electromagnéticas fotónicas (ultravioleta o UV, visible, próximo infrarrojo o NIR y infrarrojo mediano o MIR), radiaciones electromagnéticas no fotónicas (altas frecuencias o ultrasonidos) y técnicas de resonancia (resonancia magnética nuclear).

En los últimos años sensores fotónicos, principalmente visible y NIR, han sido desarrollados en algunas aplicaciones industriales, para el control de calidad de los alimentos, directamente en el proceso en-línea y de forma no destructiva y no invasiva o al lado de la línea de producción. En este contexto, los métodos de control en línea y no invasivos basados en el uso de la radiación electromagnética de alta frecuencia aparecen como una herramienta útil para la determinación de parámetros de calidad o de contenido (Castro-Giraldez *et al.*, 2010). Así se pueden encontrar diversas tecnologías de alta frecuencias como la espectroscopia dieléctrica y la espectroscopia en el dominio del tiempo llamada *Time Domain Reflectometry* (TDR) en inglés.

En el primer caso se mira la intensidad de las constantes dieléctricas (ϵ' y ϵ'') de la señal reflejada por cada frecuencia, utilizando un analizador de red acoplado a una sonda de medición (Castro-Giraldez *et al.*, 2010).

En segundo el caso de la técnica TDR se puede medir la interacción de un pulso electromagnético incidente que contiene un gran rango de frecuencias (Miura *et al.*, 2003; Fulladosa *et al.*, 2013). La señal reflejada vuelve al sistema con un desfase temporal, integrando las propiedades dieléctricas del alimento con el que ha

interaccionado (Rubio, *et al.*, 2011). El uso de la tecnología TDR permite tener un equipo compacto y portátil cuando la espectroscopia dieléctrica es un equipo de laboratorio más preciso ya que da los valores de las constante dieléctricas.

6.2. Principios de funcionamiento

6.2.1. Espectroscopia dieléctrica

En la espectroscopia dieléctrica se busca determinar las constantes dieléctricas (ϵ' y ϵ'') del producto monitorizando la señal respuesta de la muestra a un barrido de frecuencia incidente. Actualmente existen varias sondas de medición, para el barrido de frecuencia y su lectura posterior se suele utilizar un analizador de redes (Sosa-Morales *et al.*, 2010).

Tabla 11. Características de diferentes sondas en espectroscopia dieléctrica (Adaptado de İçier & Baysal, 2004 y Sosa-Morales *et al.*, 2010).

Características	Descripción breve	Frecuencias de uso	Material Analizado
Sonda Coaxial	Se utiliza un cable coaxial abierto en una extremidad y conectado al analizador de red en la otra. La extremidad abierta forma una frontera plana con la muestra. Se mide la reflexión de la señal incidente	Entre 200 MHz y 50 GHz	Productos Líquidos y semisólidos
Línea de Transmisión	Una muestra rectangular (previamente preparada) está conectada al analizador que cambia la impedancia del circuito. Se mide coeficiente de reflexión y transmisión.	< 100 MHz	Producto sólido del mismo tamaño
“Free space”	Se utiliza una antena para iluminar la muestra con un haz microonda. Se mide los coeficientes de transmisión y de reflexión	300 kHz y 325 GHz dependiendo del analizador de red	Producto sólido del mismo tamaño
Cavidad Resonante	La muestra es introducida en una cavidad conectada al analizador de red. Se mide la señal transmitida por la cavidad con y sin la muestra a una frecuencia determinada por el tamaño de la cavidad.	Entre 200 MHz y 50 GHz	Productos Líquidos, semisólidos y sólidos

Este analizador de redes, acoplado a un ordenador de adquisición, genera y analiza típicamente ondas electromagnéticas entre 300 kHz y 325 GHz (**Figura 17**).

Las propiedades dieléctricas, o permitividad, son factores que influyen en la forma, como un material interactúa, con un campo electromagnético aplicado, y están determinadas por su estructura molecular. Si la estructura molecular cambia las propiedades dieléctricas también cambian ([www/agilent.com/find/materials](http://www.agilent.com/find/materials)).

Como se ha visto en el capítulo anterior, la permisividad compleja (ϵ_r) es la propiedad dieléctrica que describe el comportamiento de un alimento, cuando está sometido dentro un campo electromagnético (Metaxas & Meredith, 1993; Nelson y Datta, 2001). Este fenómeno se debe principalmente por el desplazamiento de las cargas positivas y negativas de sus posiciones de equilibrio, bajo la influencia del campo electromagnético aplicado y en contra de las atracciones atómicas y moleculares. Se sabe que los alimentos no son dieléctricos ideales y la polarización está asociada al fenómeno de la disipación que produce una absorción de energía y el decaimiento de la constante dieléctrica. El parámetro que refleja la absorción y disipación de la energía electromagnética es el factor de pérdida (Metaxas y Meredith, 1993).



Figura 17. Esquema de un equipo para medir la intensidad de las constantes dieléctricas con la frecuencia.

La interacción entre el alimento y las ondas electromagnéticas produce el fenómeno llamado γ -dispersión, que está estrechamente relacionado con el estado y contenido del agua. El espectro dieléctrico a estas frecuencias también depende de la composición del alimento que obviamente tiene influencia en el estado de agua. Además la presencia de

iones, produce una conductividad iónica que afecta el espectro del factor de pérdida. La carga eléctrica de las proteínas, la presencia de aminoácidos libres o la variación del pH, son los factores que afectan la espectroscopia dieléctrica (Gabriel, 2006).

Hay varias técnicas para medir las propiedades dieléctricas de los materiales. Icier y Baysal (2004) citan diferentes técnicas de mediciones, y sus principales características se resumen en la **Tabla 11**. En general, la elección de los equipos de medición depende del material, el rango de frecuencia requerido y precisión, y tanto la disponibilidad y los costes de equipos (Nelson y Kraszewski, 1990). Los tres métodos más populares, para medir las propiedades dieléctricas de los alimentos y los productos básicos son: sonda coaxial abierta, línea de transmisión y, método de cavidad resonante.

El método de la sonda se basa, en una línea coaxial que termina abruptamente en la punta que es en contacto, con el material que está siendo probado. Este método ofrece mediciones de banda ancha, mientras que minimiza la perturbación de la muestra. El coeficiente de reflexión medido está relacionada con la permisividad de la muestra (Sheen y Woodhead, 1999). El método de la sonda es la más fácil de usar ya que, no requiere una forma determinada de muestra o contenedores especiales (Feng *et al.*, 2001, Tang, Cavalieri, y Plumb, 2001; Ikediala et al, 2000; Nelson, 2003; Wang, Tang, *et al.*, 2003).

El método de la línea de transmisión consiste en colocar una muestra dentro de una línea de transmisión adjunta. La sección transversal de la línea de transmisión debe ser llenada con precisión con la muestra. Este método es por lo general más precisa y sensible que el método de la sonda, pero es difícil de implementar y requiere mucho tiempo. En contraste, el método de cavidad resonante utiliza una cavidad de modo único. La muestra de geometría conocida se coloca en la cavidad; los cambios en la potencia reflejada de la cavidad y la frecuencia de resonancia se utilizan para calcular la propiedad dieléctrica de la muestra. El método de la cavidad puede ser preciso y es especialmente adecuado, para las muestras con un factor de pérdida dieléctrica muy baja; Sin embargo, este método proporciona propiedades dieléctricas en una sola frecuencia fija (Engelder y Buffler, 1991). Hay un cuarto sistema llamado de espacio libre, que consiste en un analizador de red vectorial y contiene dos antenas colocados uno frente al otro, con un soporte de muestras entre ellos. La técnica de espacio libre funciona bien para materiales en forma de hoja, polvos, o líquidos. Debido a que es una

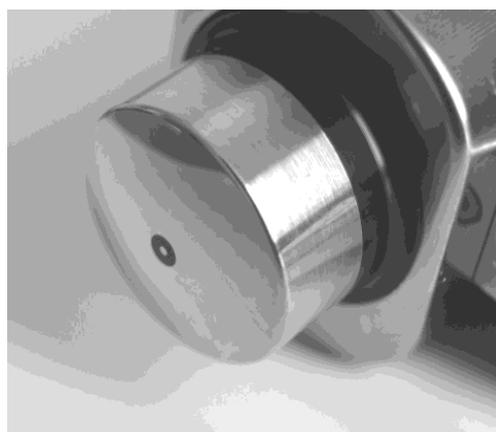
técnica sin contacto, es ideal para el control remoto y aplicaciones de alta temperatura. Hornos especiales se pueden comprar con “ventanas” microondas. La muestra se coloca en el interior y el equipo de prueba puede permanecer seguro fuera.

6.2.2. Espectroscopia de dominio en tiempo (TDR)

En la espectrometría TDR, no se hace un barrido de frecuencias pero más bien todas las frecuencias son comprimidas en un pulso único. El pulso electromagnético generado es mandado a través del sensor de línea coaxial e interactúa con la muestra. Antes de ser reflejado, el pulso multi-frecuencias se quedara más o menos tiempo en el interior de la matriz alimentaria, según la frecuencia y la composición de dicha matriz. La forma de la señal reflejada TDR se define por la forma de la señal de paso emitida, la geometría del sensor y lo más importante por la permisividad compleja del material bajo prueba. El resultado es una curva TDR de transreflectancia que muestra la intensidad de la señal reflejada versus el tiempo que han viajado las diferentes frecuencias de las ondas electromagnéticas por la muestra. La relación exacta entre las curvas de TDR y permisividad es bastante complejo y la permisividad del material viene dada por la permisividad compleja relativa (Risman, 1991).



A



B

Figura 18. A) Equipo Sequid RFQ-Scan. Dispositivo manual (izquierda) y dispositivo de control (derecha). B) Sensor del equipo Sequid RFQ-Scan (Fuente: IRTA, Monells).

Para el uso en alimentos, uno de los equipos de espectrometría TDR que se puede usar es el equipo Sequid RFQ-Scan3.0 (Sequid GmbH, Alemania; **Figura 18**). En este instrumento (Fulladosa *et al.*, 2012), la gama de frecuencias se sitúa entre 20 MHz y 5 GHz y es comprimida, en una única señal de 100 pico segundos (ps) de tiempo de subida. Dicha señal es generada continuamente con una repetición de 5 MHz y mandada a la muestra mediante un cable coaxial abierta.

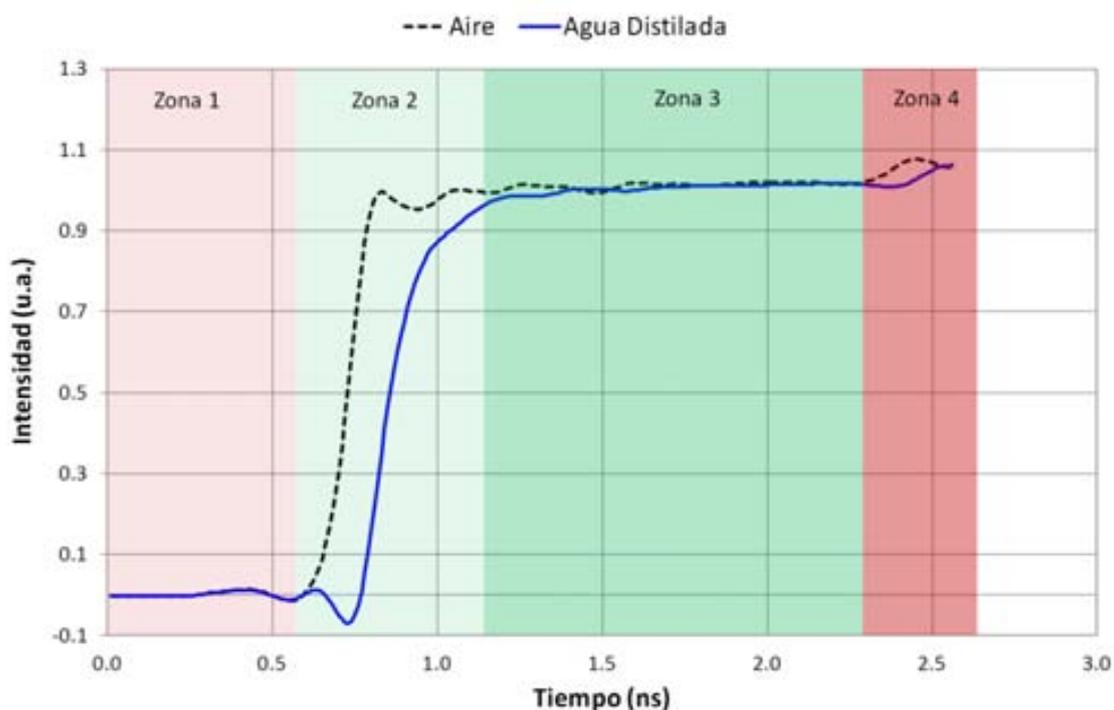


Figura 19. Curvas TDR típicas del aire (en guión negro) y del agua destilada (en línea azul) (Datos IRTA).

El sensor coaxial de extremo abierto adquiere la señal reflejada con una resolución de tiempo de unos picosegundos (ps). La forma y la intensidad de la señal reflejada por el producto dependerá: de la señal incidente, de la geometría del detector, pero sobre todo de los parámetros dieléctricos del producto analizado, tal como se señaló anteriormente. El equipo Sequid RFQ-Scan3.0, también se compone, de un componente electrónico para generar el pulso y monitorizar la señal reflejada y un ordenador con un programa de adquisición y análisis. Mediante este equipo, se puede calcular parámetros de interés y puede ser adaptada para cualquier tipo de alimento. El equipo es pequeño y manejable y los análisis se pueden llevar a cabo en línea. Esta tecnología es más rápida y barata que los métodos tradicionales de espectroscopia dieléctrica, de manera que se puede

ahorrar mucho tiempo y reducir los análisis fisicoquímicos (Rubio, *et al.*, 2012). La **Figura 19**, muestra una curva de dominio de tiempo o curva TDR típica con el tiempo en abscisa y la intensidad normalizada en ordenada, obtenidas mediante el uso del Sequid. Estas curvas del aire (referencia) y de agua destilada están compuestas por cuatro zonas: La primera de 0 hasta 600 ps y la última entre 2300 y 2560 ps no contienen informaciones de la muestra. La segunda (zona 2) entre 0,60 y aproximadamente 1,15 ns corresponde a las frecuencias más altas y el *plateau* (zona 3) entre 1,15 y 2,30 ns corresponde a las frecuencias más bajas (Rubio *et al.*, 2011). Por lo tanto, la información útil se suele encontrar entre 600 y 2300 ns.

Dado que los dispositivos TDR se pueden construir más pequeños, y adquieren señales de medidas más rápidas, en comparación con los instrumentos de dominio de frecuencia de banda ancha (analizadores de redes vectoriales), los dispositivos basados en esta técnica, podrían cumplir mejor los requisitos industriales *in situ* y mediciones en líneas, descrito por (Fulladosa *et al.*, 2013).

6.3. El uso de la espectroscopia en productos cárnicos

6.3.1. Aplicación de la espectroscopia dieléctrica directa

La técnica de espectroscopia dieléctrica es más ventajosa en relación a otros métodos tradicionales de determinación de la calidad de carne; la cual se puede considerar relativamente más barata, rápida, aplicable en la línea de sacrificio de los animales y no destructiva. La misma ha demostrado su importancia potencial, en el control de calidad de los alimentos y en las mediciones de la composición de la carne (Kent *et al.*, 2000, 2001; Kent *et al.*, 2002), se ha usado también en la determinación de la actividad de agua en geles proteicos (Clerjon *et al.*, 2003), en el control de la frescura de la carne (Clerjon y Damez, 2007), y en la predicción del contenido de grasa en carne triturada (Borgaard *et al.*, 2003; Kent *et al.*, 1993), en la adición fraudulenta de agua en productos cárnicos (Castro-Giráldez *et al.*, 2010) para el control del proceso de salado en carne (Castro-Giráldez *et al.*, 2009), y en la determinación de la maduración de la carne (Castro-Giráldez *et al.*, 2010; Damezet *et al.*, 2008).

6.3.1.1. Evaluación de la calidad tecnológica en el músculo de porcino

Un problema importante en la calidad de la carne de cerdo, es la prevención de la producción de la carne pálida, blanda y exudativa (PSE) cuyo pH disminuye rápidamente y tal, como se ha mencionado en capítulos anteriores, por ser altamente exudativas, no son adecuadas para procesamiento industrial. La dificultad en la detección de carnes PSE durante el desarrollo del rigor mortis se debe a que, cuando se produce este fenómeno, parámetros como el pH y la temperatura, evolucionan rápidamente y suceden modificaciones metabólicas secuenciales, que afectan a la estructura y por lo tanto, a las propiedades eléctricas (Bendall y Swatland, 1988).

La mayoría de los estudios en este campo se han centrado en la detección precoz de los defectos de calidad, es decir, entre 45 minutos y 1 hora después del sacrificio. Sin embargo, los resultados muestran que las mediciones eléctricas no permiten la detección temprana del aspecto DFD (Forrest *et al.*, 2000; Garrido *et al.*, 1994). Guerrero *et al.* (2004) observaron que las carnes PSE son mejor detectados por métodos de impedancia de baja frecuencia, una vez alcanzado su pH final.

Recientemente, Castro-Giraldez *et al.*, (2010), analizaron los cambios en las propiedades dieléctricas de la carne durante su maduración. El estudio se realizó midiendo la constante dieléctrica ϵ' en lomos entre 500 MHz y 20 GHz utilizando una sonda coaxial abierta (Agilent 85070E Agilent, St Louis US). Los lomos seleccionados fueron clasificados como PSE, DFD y RFN (*Red Firm and Non-exudative*). Al efectuar las mediciones utilizaron un intervalo de tiempo de 6, 24, 48 y 168 horas *post-mortem*, poniéndose en contacto la sonda con la superficie de la muestra, siguiendo la dirección de las fibras musculares y perpendiculares a ellos. Todas las determinaciones se realizaron a la temperatura de 4°C. El estudio de dichos autores reveló que, con la intensidad a dos frecuencias 0,5 GHz y 10 GHz se podía determinar diferentes categorías de la calidad de la carne (RFN, PSE, y DFD) muy temprano a las 6 h después del sacrificio. Basado en estos resultados, los autores piensan que es posible desarrollar algoritmo de control, con el fin de aislar las carnes de peor calidad y decidir sobre su uso posterior. En el mismo trabajo (Castro-Giraldez *et al.*, 2010), los autores evaluaron el impacto dirección de las fibras musculares sobre las medidas de espectroscopia dieléctrica. Las mediciones fueron realizadas siguiendo la dirección de las fibras musculares y perpendiculares a estas.

El resultado del estudio demostró que, solo las muestras DFD mostraban diferencias entre ambas direcciones, especialmente a las 24 horas *post-mortem*. La diferencia entre las propiedades dieléctricas medidas en paralelo y en perpendicular a la dirección de las fibras musculares, se debe a que la carne exuda más en la dirección paralela a las fibras musculares y por esta razón los parámetros dieléctricos de las muestras DFD toman valores más altos en la dirección de las fibras, que en perpendicular a ellos. El hecho de que no se observaron diferencias entre ambas direcciones, durante la medición de las muestras PSE y RFN puede estar relacionado con la desnaturalización de las proteínas, que al mismo tiempo está vinculada a la disminución del pH y desorganización rápida del tejido, que ocurre en las muestras PSE y RFN, siendo un comportamiento diferente con respecto a las muestras DFD. (Offer y Cousins, 1992).

6.3.1.2. Determinación de marcadores bioquímicos

La espectroscopia dieléctrica también se puede utilizar, para describir y analizar los aspectos físico-químicos, las interacciones de componentes y los cambios estructurales en los productos alimenticios (Castro-Giráldez *et al.*, 2009; İçier y Baysal, 2004). Debido a este hecho, las mediciones precisas de las propiedades dieléctricas, pueden proporcionar a los científicos e ingenieros una valiosa información, para el seguimiento de los procesos de fabricación, con el fin de mejorar el control de la calidad de los productos cárnicos. En este contexto (Castro-Giráldez *et al.*, 2011), utilizaron las mediciones de las propiedades dieléctricas, especialmente la espectroscopia dieléctrica en frecuencias de banda ancha, como un método para determinar diferentes marcadores bioquímicos claves (nucleótidos, nucleósidos, ácido láctico y mioglobina). Este trabajo se hizo utilizando diferentes soluciones estándar simulando las concentraciones de estas sustancias en la carne, durante las primeras horas *post-mortem*. Se encontraron buenas correlaciones entre las soluciones de trifosfato de adenosina (ATP), inosina monofosfato (IMP) y el ácido láctico con el factor de pérdida, en las frecuencias puntuales (0,5, 0,915 y 1 GHz). Otras sustancias analizadas no presentaron una correlación marcada, con los espectros electromagnéticos registrados.

Este trabajo, prospectivo, permite concluir que la espectroscopia dieléctrica puede ser útil para estimar marcadores bioquímicos claves. Antes de considerar su posible aplicación, como sensor de control no destructivo para la predicción de la calidad de la

carne de cerdo, los autores reconocen que hace falta más trabajo para su aplicación en productos cárnicos reales.

6.3.1.3. Adición fraudulenta de agua en productos cárnicos

Kent *et al.*, (2000) determinaron parámetros de calidad y frescura en distintas muestras de pescado. En este estudio se demostró la capacidad de esta tecnología para determinar si el producto era fresco o había sido congelado. Durante la congelación se producen cambios en la distribución del agua, debido a los daños producidos en los tejidos. Esto produce que las moléculas de agua estén ligadas de distinta forma al alimento, provocando unas características dieléctricas diferentes.

En el mismo trabajo, los autores también utilizaron la técnica para detectar si se había añadido agua de manera fraudulenta en muestras de gambas y distintas especies de pescado. Para esta detección se basaron en el hecho de que si se añade agua al alimento, las sales iónicas se diluyen o difunden al exterior, lo que hace variar las propiedades dieléctricas del producto en cuestión. En el campo de los productos cárnicos también existen interesantes aplicaciones. Kent *et al.*, (2002) determinaron la presencia de agua añadida en diferentes productos derivados del cerdo.

6.4. Aplicación de la espectroscopia TDR

Como se ha mencionado con anterioridad, el sistema TDR en combinación con el sensor de línea coaxial abierta, es un método bien investigado para la adquisición de información sobre las propiedades dieléctricas (permisividad compleja) de materiales, dentro de una amplia gama de frecuencias.

6.4.1. Evaluación de la frescura del pescado

Investigadores también han estudiado las propiedades dieléctricas de los alimentos usando el sistema de la Reflectometría en el Dominio del Tiempo, Kent *et al.*, (2004) estudiaron diversos parámetros de calidad de distintas especies de pescados. En este estudio demostraron como el tiempo de almacenamiento y diversos atributos sensoriales podían ser predichos. En su trabajo, los autores se basaron en la interacción de los

campos electromagnéticos con materiales húmedos, típicamente el uso de las propiedades dieléctricas para la medición del contenido de agua. Trabajos anteriores (Forrest *et al.*, 2000 y Damez, 2003) han ampliado el alcance de tales mediciones dieléctricas mediante el uso de una combinación de espectroscopia dieléctrica y análisis multivariable para determinar, entre otras cosas, algunas de las cualidades definidos de alimentos.

Esto ha llevado a los trabajos descritos aquí en la determinación de la calidad del bacalao báltico refrigerado (*Gadus morhua*). En dicho experimento los peces obtenidos fueron almacenados en hielo durante un máximo de 24 días y a intervalos de dos días, se midieron las propiedades dieléctricas en dominio en tiempo, de cada pece en un rango desde 0,01 hasta 1,0 ns, utilizando un sensor coaxial abierta y reflectómetro de dominio de tiempo, Kent *et al.*, (2004). En el mencionado trabajo, los impulsos reflejados desde la superficie de las muestras de peces individuales, se midieron a intervalos de 10 ps en un lapso de 1 ns, utilizando el sensor de TDR. La forma de onda de entrada tenía un tiempo de subida de 100 ps. Finalmente, para las mediciones dieléctricas, se obtuvieron mejores resultados, al utilizar muestras picadas en comparación, tanto para la muestra del método indicador de valor de calidad (QIM), como para las muestras de un día con hielo.

El orden del resultado fue, filete triturado mejor que filete con parte de músculo y éste mejor que filete con partes de piel. Como era de esperar de la naturaleza subjetiva de las puntuaciones sensoriales, las muestras con un día en hielo, que se conocen con precisión, son un poco mejores. Los métodos de este estudio si se utiliza de forma independiente, podrían proporcionar estimaciones razonables de frescura del pescado. Sin embargo, hay que decir que estos resultados están en un lote de pescado, que aunque heterogéneos en tamaño, se obtuvieron todos en idénticas condiciones, temporada y manipulación (Kent *et al.*, 2004).

6.4.2. Determinación del contenido de sal en jamón curado

En un estudio de predicción del contenido de agua y sal en jamón curado, mediante el equipo Sequid RFQ-Scan (Rubio *et al.*, 2012), usaron lonchas de 2 cm de grosor procedentes de 34 jamones deshuesados, estos jamones tenían un amplio rango de

contenidos de sal, agua y grasa, para que de este modo se pueda incluir todo el rango de contenidos de sal de jamones que se pueden encontrar en el mercado. Para llegar a obtener muestras tan dispares, los jamones se elaboraron usando diferentes razas de cerdo y utilizando procesos de salado en pila estándar (11 días) y de salado reducido (4 días).

Los autores, utilizando diferentes modelos de predicción para el agua y sal, confirmaron que el modelo de predicción del contenido de agua es más concreto, que el modelo de predicción del contenido de sal. En el caso de predicción de sal, puede que factores como la composición de la muestra o la temperatura influyan más en el proceso de la predicción, así como observaron que la diferencia en el contenido de sal altera la predicción de sal, mientras que el contenido de agua de la muestra no influyó en las predicciones de agua ni de sal. Finalmente llegaron a concluir que, el equipo Sequid RFQ-Scan, es un instrumento fiable para predecir el contenido de agua y sal en jamón curado. Este equipo podrá ser utilizado como una alternativa a los métodos destructivos o incorporarse en línea de producción. Además, servirá para clasificar el producto final, según sus niveles de sal, así como seleccionar aquellos jamones que tienen un contenido de sal reducido (Rubio *et al.*, 2012).

Recientemente se realizó otro trabajo investigativo en el IRTA de Monells (Girona, España), que tenía como objetivo estudiar la variación de las curvas de TDR, en función de diferentes composiciones de jamón curado y el desarrollo de modelos predictivos para determinar el contenido de sal, agua, grasa y la actividad de agua (a_w), en jamón curado usando la técnica de TDR. En dicho estudio, se midieron las muestras con diferentes composiciones, con un dispositivo TDR, equipado con un sensor de línea coaxial abierta. Se utilizó un análisis de regresión por mínimos cuadrados parciales (PLSR), para desarrollar modelos predictivos. También se analizó, la influencia de la salinidad, sequedad y se evaluó el grosor de las muestras, sobre la exactitud de los modelos de predicción.

Los resultados mostraron que, el contenido de sal, contenido de agua y actividad de agua (a_w), pueden determinarse con precisión con errores de validación de 0,22%, 1,67% y 0,0087, respectivamente. Para la predicción del contenido en grasa los resultados fueron menos precisos con un error de validación de 2,81%. La salinidad, sequedad y el grosor de las muestras, en el rango estudiado, no afectó a la exactitud de

las predicciones. El modelo predictivo desarrollado, fue lo suficientemente preciso, para considerar el dispositivo TDR, como una herramienta útil, para la caracterización y clasificación de lonchas de jamón curado en la industria (Fulladosa, *et al.*, 2013).

Por otra parte, la pastosidad es uno de los principales defectos de textura en jamón curado, este fenómeno comúnmente se evaluó por análisis sensorial y métodos instrumentales pero, estos métodos son laboriosos y consumen mucho tiempo. El desarrollo de métodos de detección, que podrían estar relacionados con los atributos sensoriales de textura, tendría una gran importancia para la industria cárnica.

Como se ha mencionado anteriormente la reflectometría de dominio en tiempo (TDR) ha demostrado ser una herramienta rápida y eficaz para la evaluación de la calidad de la carne. En sus estudios de evaluación de la viabilidad de las curvas TDR, para clasificar las lonchas del jamón curado, en función de su nivel de pastosidad, (Rubio *et al.*, 2013) confirmaron que, el sistema TDR es útil para la clasificación de lonchas de jamón curado, de acuerdo con los tres niveles de pastosidad sensorial establecida por ellos.

7. CONCLUSIONES

Basándose en el trabajo de revisión de los capítulos anteriores se pueden concluir los aspectos más relevantes de la siguiente forma:

- 1). La calidad de la carne de cerdo, especialmente la calidad tecnológica, es afectada por una serie de factores genéticos, nutricionales y de manejo, etc., por tal motivo, para obtener carne de óptima calidad se debe velar para que exista una coordinación desde el productor del animal, hasta en los mataderos, con el fin de cumplir de manera estricta las normas de buenas prácticas indicadas y aceptadas en la Unión Europea.
- 2). Llevar un programa de evaluación y control de la eliminación del gen de halotano, mediante la estrategia de selección de las empresas genéticas, ya que la presencia de dicho gen afecta de forma directa la calidad tecnológica de la carne de cerdo.
- 3). En general, la reserva de energía existente en el músculo del animal, determina el ritmo del metabolismo, por tal motivo factores como la dieta (que incluye las alternativas nutricionales para reducir el estrés, mediante el uso del triptófano sintético en las raciones de cerdos), el ayuno, el transporte y la estabulación de los animales antes del sacrificio, no deben ser pasados por alto, cuando se pretende mejorar la calidad de la carne. Por estas razones, es imprescindible invertir, para procurar el bienestar de los animales. Al mismo tiempo, será necesario concienciar tanto a los consumidores, como a la industria de la carne, que el valor ético de un producto es un elemento de creciente importancia económica.
- 4). Los procesos de congelación y descongelación son complejos e involucran la transferencia de calor y las posibilidades de una serie de cambios físico-químicos que afectan en gran medida la calidad del producto.
- 5). Analizar la cristalización del agua en materiales alimenticios de forma teórica y práctica y relacionar los parámetros de proceso con la distribución del tamaño de los cristales, así como con la ubicación y la morfología de los mismos, es útil para mejorar el proceso de congelación.
- 6). Desde el punto de vista de ahorro de energía y la mejora de la calidad del producto, los nuevos métodos de congelación por alta presión y las técnicas que acelerarán el proceso de congelación formando pequeños y uniformes cristales de hielo, son necesarios, incluyendo el uso de proteínas anticongelantes que mejoran el proceso de congelación.

7). La industria de la carne necesita información fiable sobre el proceso de producción, con el fin de garantizar los productos de alta calidad exigidos por los consumidores. Se han presentado tecnologías novedosas basadas sobre el registro de ondas de altas frecuencias mediante espectroscopia dieléctrica que permite estimar la calidad de la carne, es decir la composición química, propiedades fisicoquímicas y características nutricionales.

8) Si bien se han obtenido resultados muy interesantes, estas tecnologías requieren un período de transición entre la utilización experimental y su aplicación industrial, lo cual demuestra la necesidad de trabajos de investigación adicionales, para desarrollar e industrializar estos métodos.

8. BIBLIOGRAFIA

- Aalhus, J., L., Jones, S.,D., Murray, A.,C., and Best, D.,R., (1995). A comparison of PSE beef to PSE pork. *Proc. West. Sect. Am. Soc. Anim. Sci.*, 46,284.
- Abdallah, M., B., Marchello, J., A., & Ahmad, H., A., (1999). Effect of freezing and microbial growth on myoglobin derivatives of beef. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 4093–4099.
- Acton, E., & Morris, G., J., (1992). *Method and apparatus for the control of solidification in liquids*, WO 99/20420, USA Patent Application, USA.
- Ahmad, S., Yaghmaee, P., & Durance, T., (2012). Optimization of dehydration of lactobacillus salivarius using radiant energy vacuum. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 1019-1027.
- Aimoto, A., & Matsumoto, T., (1996). Non-invasive method for measuring the electrical properties of deep tissues using an open-ended coaxial probe. *Medical Engineering and Physics* 18 (8), 641–646.
- Akamittath, J., G., Brekke, C., J., & Schanus, E. G. (1990). Lipid oxidation and colour stability in restructured meat systems during frozen storage. *Journal of Food Science*, 55, 1513–1517.
- Alfonso, M., Sañudo, C., Pardos, J., F., Pardos, J., J., Olleta, J., L., Sierra, I.,(2000). Consumidores de carne de cordero: Encuesta sobre sus hábitos de consumo y Estudio de preferencia de diez tipos ovinos comerciales europeos. *Actas del XXV Congreso de la Sociedad Española de Ovinotecnia y Caprinotecnia* (pp. 93–96).
- Alimentos congelados. Procesado y distribución.- 3rd ed.-Editado por el Instituto Internacional del Frío.- Editorial Acribia, S.A., Zaragoza, 1990.-19+184 páginas.- ISBN 84-200-0679-3
- Alizadeh, E., Chapleau, N., de-Lamballerie, M., & Le-Bail, A., (2009). Impact of freezing process on salt diffusivity of seafood: application to salmon (*salmo salar*) using conventional and pressure shift freezing. *Food and Bioprocess Technology*, 2, 257-262.
- Alonso V., Campo M.d.M, Provincial L., Roncalés P. & Beltrán J.A..(2010). Effect of protein level in commercial diets on pork meat quality. *Meat Science* 85, 7–14.

- Alvarez, M., Fernandez, C., & Canet, W., (2010). Oscillatory rheological properties of fresh and frozen/thawed mashed potatoes as modified by different cryoprotectants. *Food and Bioprocess Technology*, 3, 55-70.
- Ambrosiadis, I., Theodorakakos, N., Georgakis, S., & Lekas, S., (1994). Influence of thawing methods on the quality of frozen meat and drip loss. *Fleischwirtschaft*, 74, 284–286.
- Andersen, H., J., Oksbjerg, N., & Therkildsen, M., (2005). Potential quality control tools in the production of fresh pork, beef and lamb demanded by the European society. *Livestock Production Science*, 94(1), 105–124.
- Andújar, G., Pérez, D., Venegas, O., (2003). Química y bioquímica de la carne y los productos cárnicos. *Ciencia y Tecnología de la Carne y Productos Cárnicos*, -- Ciudad de La Habana, Cuba.
- Añón, M., C., & Cavelo, A., (1980). Freezing rate effects on the drip loss of frozen beef. *Meat Science*, 4, 1–14.
- Apple, J.K., Dikeman, M.E., Minton, J., E., McMurphy, R.M., Fedde, M.R., Leith, D.E., & Unruh, J.A., (1995). Effects of Restraint and Isolation Stress and Muscle Glycogen. *Journal of Animal Science*, 73, 2295-307.
- Arthur, I., (2006). Shipboard refrigeration and the beginnings of the frozen meat trade. Bertram, H., C., Purslow, P., & Andersen, H., J., (2002). Relationships between meat structure, water motility, and distribution: A low-field nuclear magnetic resonance study. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 824–829.
- Ashokkumar, M., & Grieser, F., (1999). Ultrasound assisted chemical processes. *Reviews in Chemical Engineering*, 15, 41-83.
- Averós, X., Knowles, T.G., Brown, S.N., Warriss, P.D., Gonsalvez, L.F., (2008). Factors affecting the mortality of pigs being transported to slaughter. *Vet. Rec.* 163, 386-390.

- Aziz, N., N., Ball, R., O., Sharpe, P., H., y McCutcheon, B., (1993). Growth, carcass composition and meat quality of crossbred lambs at different slaughter weights. 39th International Congress of Meat Science and Technology, S2PO2. WP.
- Bailey, C.,G., Jayas, D.,S., Holley, R.,A., Jeremiah, L.,E., y Gill, C.,O., (1997). Design, fabrication and testing of returnable, insulated, nitrogen-refrigerated shipping container for distribution of fresh red meat under controlled CO₂ atmosphere. *Food Research International*, 30 (10), 743-753.
- Barbut, S., Sosnicki, A.,A., Lonergan, S.,M., Knapp, T., Ciobanu D.,C., Gatcliffe, L.,J.,(2008). Progress in reducing the pale, soft and exudative (PSE) problem in pork and poultry meat. *Meat Science*, 79, 46-63.
- Bate-Smith, E.,C., (1948). The Physiology and Chemistry of Rigor Mortis, with Special Reference to the Aging of Beef. In: Mrak and George, E.M. (Ed.), *Advances in Food Research*, Academic Press, pp. 1-38.
- Battle, N., Aristoy, M., C., & Toldrá, F., (2000). Early postmortem detection of exudative pork meat based on nucleotide content. *Journal of Food Science*. 65, 413-416.
- Bench, C., Schaefer, A., Faucitano, L.,The welfare of pigs during transport. (2008). In: *welfare of pigs from birth to slaughter*. New York / TheNetherlands: Wageningen Academic Publishers, chap. 06, p.161-18.
- Bendall, J., R., & Swatland, H., J., (1988). A review of the relationships of pH with physical aspects of pork quality. *Meat Science*, 24, 85–126.
- Bendall, J.,R.,(1973).The biochemistryof *rigor-mortis* and cold contracture. Proc. *Eur.Meet. Meat Res. Workers* 19, 1-27.
- Bengtsson, N.,E., & Risman, P.,O., (1971). Dielectric properties of food at 3 GHz as determined by a cavity perturbation technique. II. Measurements on food materials. *Journal of Microwave Power*, 6, 107-123.
- Bidner, B.,S., Ellis, M., Miller, K.,D., Hemann, M., Campion, D., y Mckeith., F.,K., (1999). Effect of the RN gene and feed withdrawal prior to slaughter on fresh

- longissimus quality and sensory characteristics. *Journal of Animal Science*, 77(Supp.1), 49-53.
- Birla, S., L., Wang, S., Tang, J., & Hallman, G. (2004). Improving heating uniformity of fresh fruit in radio frequency treatments for pest control. *Postharvest Biology and Technology*, 33, 205–217.
- Bischof, J., C., Mahr, B., Choi, J., H., Behling, M., & Mewes, D., (2007). Use of X-ray tomography to map crystalline and amorphous phases in frozen biomaterials. *Annals of Biomedical Engineering*, 35, 292-304.
- Boccard, R., Naude, R.,T., Cronje, D.,E., Smith, M.,C., Venter, H.,J., Rossouw, E.,J., (1979).The influence of the age, sex and breed of cattle on their muscle characteristics. *Meat Science*, 3, 261-268.
- Bodwell, C.,E., Pearson, A.,M., Spooner, M.,E., (1965). *Post-mortem* changes in muscle. I.Chemical changes in beef. *Journal of Food Science*, 30, 766-780.
- Bohigas, X., & Tejada, J., (2009). Dielectric properties of acetic acid and vinegar in the microwave frequencies range 1–20 GHz. *Journal of Food Engineering*, 94, 46–51.
- Bohigas, X., Amigó, R., & Tejada, J., (2008). Characterisation of sugar content in yoghurt by means of microwave spectroscopy. *Food Research International*, 4, 104–109.
- Bonen, A., Tan, M., K., & Watson-Wright W.M.(1981). Insulin binding and glucose uptake difference in rodent skeletal muscle. *Diabetes*, 30, 702-704
- Borgaard, C., Christensen, L., B., & Jespersen, B., L., (2003). Reflection mode microwave spectroscopy for on-line measurement of fat in trimmings. 49th ICoMST, 31 August– 5 September, Campinas, Brazil.
- Bouton, P.,E., Ford, A.,L., Harris, P.,V., Ratcliff, D., (1975). Objective-subjective assesment on meat tenderness. *Journal of Texture Studies* 6, 217-228.
- Bowater, F.,J., (2001). Rapid carcass chilling plants compared to conventional systems. International Institute of Refrigeration. Consultado en <http://www.fjb.co.uk>.

- Bradshaw, R.,H., Parrot, R.,F., Goode, J.,A., Lloyd, D.,M., Rodway, R.,G., Broom, D.,M., (1996). Behavioral and hormonal responses of pigs during transport: effects of mixing and duration of journey. *Anim. Sci.* 62, 547-554.
- Bratzler, L.,J., (1975). Measuring the tenderness of meat by means of a mechanical shear. MS. Thesis, Kansas State College. En: Bouton, P.E. Harris, P.V. y Shorthose, W.R.. Changes in shear parameters of meat associated with structural changes produced by aging, cooking and myofibrillar contraction. *Journal of Food Science*, 40, 1122-1126.
- Brody, A., (2001). The return of microwavable foods. *Food Technology*, 55,p. 69-70.
- Broom, D.,M., 2006. Behaviour and welfare in relation to pathology. *Applied Animal Behaviour Science*, 97: (1), 73-83.
- Buchner, R., Hefter, G.,T., & May, P.,M., (1998). Dielectric relaxation of aqueous NaCl solutions. *Journal of Physical Chemistry A*, 103, 1-9.
- Bustabad, O.,M., (1999). Weight loss during freezing and storage of frozen meat. *Journal of Food Engineering*, 41 (1): 1-11.
- Chavarrias, M.,(2012). Tres maneras de descongelar alimentos. Seguridad alimentaria. www.consumer.es/seguridadalimentaria/y/2012//209909.php.
- Calidad de la canal y de carne, curso internacional en tecnología de productos cárnicos. (2013). Irta-Monells. Girona/España.
- Calvelo, R.,J., (1981). Recent studies on meat freezing. In R. Lawrie (Ed.), *Developments in meat science 2* (pp. 125–158). London: Elsevier Applied Science Publishers.
- Campañone, L.,A., Roche, L.,A., Salvadori, V.,O., y Mascheroni, R., H., (2006). Structural studies on unpackaged foods during their freezing storage. *Journal of Food Science*, 71 (5), 218-226.
- Campo, M.,M., Santolaria, P., Sañudo, C., Lepetit, J., Olleta, J.,L., Panea, B.,(2000). Assessment of breed type and ageing time effects on beef quality using two different texture devices. *Meat Science*, 55,371-378.

- Castro, M., (2010). Estudio de los espectros dieléctricos para el control de calidad de alimentos. Tesis doctoral. Universidad politécnica de Valencia.
- Castro-Giráldez M., Dols., L., Toldrà., F., Fito, P., (2011). Development of a dielectric spectroscopy technique for the determination of key biochemical markers of meat quality. *Food Chemistry*, 127, 228–233
- Castro-Giráldez, M., Aristoy, M.,V.,C., Toldrà, F., Fito, P., (2010). Microwave dielectric spectroscopy for the determination of pork meat quality. *Food research International* 43: 2367-2374.
- Castro-Giráldez, M., Fito, P.,A., Fito, P., (2009). Application of microwaves dielectric spectroscopy for controlling pork meat (*Longuissimus dorsi*) salting process. *Journal of Food Engineering* , 97,484-490.
- Cheftel, J., C., (1991). Applications des hautes pressions entechnologie alimentaire. *Ind. Alim. Agric.*, 108, 141-153.
- Cheftel, J., C., Levy, J., & Dumay, E., (2000). Pressure-assisted freezing and thawing: principles and potential applications. *Food Reviews International*, 16(4), 453 – 483.
- Chevalier, D., Sequerira-Munoz, A., Le Bail, A., Simpson, B., K., & Ghoul, M., (2001). Effect of freezing conditions and storage on ice crystal and drip volume in turbot (*Scophthalmus maximus*) evaluation of pressure shift freezing vs. air-blast freezing. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 1, 193–201.
- Choe, S., Hecht, K.,A., and Grabe, M., (2008). A continuum method for determining membrane protein insertion energies and the problem of charged residues. *J. Gen. Physiol.* 131:563–573.
- Chow, R., Blindt, R., Chivers, R., & Povey, M., (2003). The sonocrystallisation of ice in sucrose solutions: primary and secondary nucleation. *Ultrasonics*, 41, 595-604.
- Chow, R., Blindt, R., Kamp, A., Grocutt, P., & Chivers, R., (2004). The microscopic visualisation of the sonocrystallisation of ice using a novel ultrasonic cold stage. *Ultrasonics Sonochemistry*, 11, 245-250.
- CIE (1976). Commission Internationale de l’Eclairage, 18th session, London, UK.

- Clerjon, S., & Damez, J., L., (2009). Microwave sensing for an objective evaluation of meat ageing. *Journal of Food Engineering*, 94(3–4), 379–389.
- Código Alimentario Argentino, art. 162 y 515. Reglamento de Inspección de Productos de origen animal. Decreto 4238/68 numerales 5.7.15 y 22.2.66.
- Código Alimentario Argentino, Ley No 18.248/1969/Reglamento de Inspección de productos, Subproductos y Derivados de Origen Animal, Decreto No 4238/1968.
- Colomer-Rocher, F., Morand-Fehr, P., Kirton, A.,H., Delfa, R., y Sierra, I., (1988). Métodos normalizados para el estudio de los caracteres cuantitativos y cualitativos de las canales caprinas y ovinas. Cuadernos INIA, 17: 41 pp.
- Colomer-Rocher, F., Morand-Fehr, P., Y Kirton, A.,H., (1987). Standard methods and procedures for goat carcass evaluation, jointing and tissue separation. *Livestock Production Science*, 17 (1), 149-159.
- D'Souza, D.N., Warner, R.D., Leury, B.J., Dunshea, F.R., 1998a. The effect of dietary magnesium aspartate supplementation on pork quality. *Meat Sci.* 76, 104–109.
- Dainty R.,H., Edwards R.,A., Hibbard C.,M., Marnenwick, J.,J.,(1989). Volatile compounds associated with microbial growth on normal and high pH beef stored and chill temperatures. *J Appl Bact* 66, 281-289.
- Dalmau, A., Temple, D., Rodríguez, P., Llonch, P., Velarde, A., (2009). Application of the Welfare Quality® protocol at pig slaughterhouses. *Anim. Welfare*, 18(4), 497-505.
- Damez, J., L., Clerjon, S., Abouelkaram, S., & Lepetit, J., (2008). Beef meat electrical impedance spectroscopy and anisotropy sensing for non-invasive early assessment of meat ageing. *Journal of Food Engineering*, 85, 116–122.
- Damez, J. L., Clerjon, S., Abouelkaram, S. & Lepetit, J. (2007). Dielectric behavior of beef meat in the 1–1500 kHz range. Simulation with the Fricke/Cole-Cole. *Meat Science*, 77(4), 512-519.
- Damodaran, S., Parkin, K., & Fennema, O., R., (2007). *Fennema's food chemistry*. Boca Raton: Taylor & Francis. 1160 paginas. ISBN-10: 0824723457

- Datta, A.K., Sumnu, G. & Raghavan, G.S.V. (2005). Dielectric properties of foods. En M.A. Rao, S.S.H. Rizvi y A.K. Datta (Eds.), *Engineering properties of foods* (pp.501-565). Tercera edición, Taylor&Francis Group, Boca Raton, E.E.U.U.
- De Paula, R., Colet, R., de Oliveira, D., Valduga, E., & Treichel, H.(2011). Assessment of different packaging structures in the stability of frozen fresh Brazilian toscana sausage. *Food and Bioprocess Technology*, 4, 481-485.
- Dekkers, J., C., M., (1999). Optimizing strategies for selection on major genes. Plant & Animal Genome VII held at St. Diego, CA. 1-16.
- Delgado, A., E., & Rubiolo, A., C., (2005). Microstructural changes in strawberry after freezing and thawing processes. *Lwt-Food Science and Technology*, 38, 135-142.
- Delgado, A., E., & Sun, D.,W., (2001). Heat and mass transfer models for predicting freezing processes - a review. *Journal of Food Engineering*, 47, 157-174.
- Delgado, A., E., & Sun, D.,W., (2003). One-dimensional finite difference modelling of heat and mass transfer during thawing of cooked cured meat. *Journal of Food Engineering*, 57, 383-389.
- Delgado, A., Zheng, L., & Sun, D.,W., (2009). Influence of ultrasound on freezing rate of immersion-frozen apples. *Food and Bioprocess Technology*, 2, 263-270.
- Devine, C., E., Graham, R., G., Lovatt, S., & Chrystall, B., B., (1995). Chapter 2: Red meats, 51–86. In L. E. Jeremiah (Ed.), *Freezing effects on food quality*, 520 pp.
- Dransfield, E., Etherington, D.,J., Taylor, M.,J., (1992). Modelling *post-mortem* tenderisation – II: enzyme changes during storage of electrically stimulated and non stimulated beef. *Meat Science* 31, 75–84.
- Dransfield, E., Lachaud, A., y Ouali A., (1994). In vitro measurement of calpain activity. Proceeding 35 the International Conference of Meat Science and Technology. Copenhagen, p1141.
- Dransfield, E., Nute, G.,R., Hogg, B.,W., Walters, B.,R., (1990). Carcass and eating quality of ram, castrated ram and ewe lambs. *Anim. Prod.* 50, 291-299.

- Dreyb, C., Klaus, T., & Lücker, E., (2010). The recognition of fresh meat quality parameters using the dielectric time domain reflectometry. *Bestimmung von Qualitätsparametern im Frischfleischsektor*, 90, 106–110.
- D'Souza, D., N., Warner, R., D., Dunshea, F., R., & Leury, B., J., (1998). Effect of on-farm and pre-slaughter handling of pigs on meat quality. *Australian Journal of Agricultural Research*, 49, 1021-1025.
- Eastridge, J., S., B., C., Bowker., (2011). Effect of rapid thawing on the meat quality attributes of USDA select beef strip loins steaks. *Journal of Food Science*, 76, 156-162.
- EFSA. (2004). Opinion of the Scientific Panel on Animal Health and Welfare (AHAW) on a request from the Commission related to the welfare of animals during transport. *EFSA J.* 44, 1–36 (Question No EFSA-Q-2003- 094).
- Eikelenboom, G., Bolink, A., H., Sybesma, W., (1990). Effects of feed withdrawal before delivery on pork quality and carcass yield. *Meat Science*, 29, 25-30.
- Esquivel, H., Isabel, R., Correa, M., María, S., Martínez, C., José, L., (2005). *Nutrición y salud*, Manual moderno, México.
- FAO (2013), Food Outlook, Biannual report on global food market. *FAO Trade and Market Division*, 140 paginas. ISSN: 0251-1959
- Farag, K. W. Lyng, J. G. Morgan, D. J. Cronin, D. A. (2011). A comparison of conventionally and radio frequency thawing of beef meats: effects on product temperature distribution. *Food Bioprocess and Technology*, 10.1007.
- Farag, K., W., Duggan, E., Morgan, D., J., Cronin, D., A., Lyng, J., G., (2009). A comparison of conventional and radiofrequency defrosting of lean beef meats: Effects on water binding characteristics. *Meat Science*, 83, 278- 284.
- Farag, K., W., Ling, J., G., Morgan, D., J., Cronin, D., A., (2008). A comparison of conventional and radiofrequency tempering of beef meats: Effects on product temperature distribution. *Meat Science*, 80 , 488-495.

- Farouk, M., M., & Swan, J., E., (1998). Effect of rigor temperature and frozen storage on functional properties of hot-boned manufacturing beef. *Meat Science*, 49, 233–247.
- Farouk, M.,M., y Price, J.,F., (1994). The effect of post-exanguination infusion on the composition, exudation, color and post-mortem metabolic changes in lamb. *Meat Science*, 38, 477-496.
- Faucitano, L., (2010) Handling of Pigs Prior to Slaughter: Economical Impact of Good Practices. *Pork Expo 2010 e V Fórum Internacional de Suinocultura*, Brazil.
- Faustman, C., Liebler, D.,C., McClure, T.,D., Sun, Q., (1999). α,β -unsaturated aldehydes accelerate oxymyoglobin oxidation. *J. Agric. Food Chem.*, 47,3140–44.
- Faustman, C., Sun, Q., Mancini, R.,A., Suman, S.,P., (2010). Myoglobin and lipid oxidation interactions: mechanistic bases and control. *Meat Science*, 86, 86–94.
- FDA. Departamento de Salud Pública de Madison USA. (2004) “Entrenamiento para la Alimentación Segura y Programa de Reconocimiento Público”,
- Feldman, Y., Ermolina, I., & Hayashi, Y., (2003). Time domain dielectric spectroscopy study of biological systems. *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation*, 10, 728-753.
- Fellows, P., (2000). Freezing. Food processing technology, principles and practice (pp. 418–440). (2 ed.). London: Woodhead Publishing Limited.
- Fennema, O., R., (1975). Reaction kinetic in partially frozen aqueous systems. *Water Relations in Foods* (R.B. Duckworth, ed), Academic Press, New York, p.539.
- Fennema, O., R., Powrie, W., D., & Marth, E., H., (1973). Low temperature preservation of foods and living matter (p. 598). New York, USA: Marcel Dekker.
- Fernandez, P., P., Otero, L., Guignon, B., & Sanz, P., D., (2006). High-pressure shift freezing versus high-pressure assisted freezing: effects on the microstructure of a food model. *Food Hydrocolloids*, 20, 510-522.
- Fernández, P.,P., Sanz, P.,D., Molina-García, A., D., Otero, L., Guignon, B., & Vaudagna, S. R.(2007). Conventional freezing plus high pressure-low temperature

treatment: physical properties, microbial quality, and storage stability of beef meat. *Meat Science*, 77(4), 616–625.

Fernandez-Martin, F., Otero, L., Solas, M., T., & Sanz, P., D., (2000). Protein denaturation and structural damage during high-pressure shift freezing of porcine and bovine muscle. *Journal of Food Science*, 65, 1002–1008.

Field, R., A., Maiorano, G., McCormick, R., J., Riley, M., L., Russell, W., C., Williams, F., L., y Crouse, J., D., (1990). Effect of plane of nutrition and age on carcass maturity of sheep. *Journal of Animal Science* 68 (6), 1616-1623.

Fikiin, K.A. (2003). *Novelties of food Freezing Research in Europe and Beyond*. Flair-Flow Europe Synthetic Brochure for SMEs No, 10 (ISBN: 2-7380-1145-4), INRA: Institut National de la Recherche Agronomique, Paris (France), p.55.

Flores, M., Armero, E., Aristoy, M., C., & Toldrá, F., (1999). Sensory characteristic of cooked pork loin as affected by nucleotide content and postmortem meat quality. *Meat Science*, 51, 53-59.

Flores, M., Moya, V., J., Aristoy, M., C., & Toldrá, F., (2000). Nitrogen compounds as potential biochemical markers of pork meat quality. *Food Chemistry*. 69, 371-377.

Forrest, J., C., Morgan, M., T., Borggaard, C., Rasmussen, A., J., Jespersen, B., L., & Andersen, J., R., (2000). Development of technology for the early post mortem prediction of water holding capacity and drip loss in fresh pork. *Meat Science*, 55, 115–122.

Forrest, J., C., L., L., Kastenschmidt, G., R., Beecher, R., H., Gummer, W., G., Hoekstra, & E. J. Briskey (1965). Porcine muscle properties B. Relation to naturally occurring and artificially induced variation in heart and respiration rates. *Journal Food Science* 30: 492-497.

Forrest, J., C., Aberle, E., D., Hedrich, H., D., Judge, M., D., Merkel, R., A., (1979). *Fundamentos de Ciencia de la Carne*. Acribia, Zaragoza. 361 paginas.

- Fulladosa, E., Duran-Montgé, P., Serra, X., Picouet, P., Schimmer, O., & Gou, P., (2013). Estimation of dry-cured ham composition using dielectric time domain reflectometry. *Meat Science*, 93, 873–879.
- Funebo, T., & Ohlsson, T., (1999). Dielectric properties of fruits and vegetables as a function of temperature and moisture content. *Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy*, 34(1), 42-54.
- Gabriel, C., (2006). Dielectric properties of biological materials. In F. S. Barnes & B.Greenbaum (Eds.), *Bioengineering and biophysical aspects of electromagnetic fields, Handbook of biological effects of electromagnetic fields* (pp. 51–100). Boca Raton,U.S.A. CRC Press.
- Gabriel, S., Lau, R., W., & Gabriel, C., (1996). The dielectric properties of biological tissues: II. Measurements in the frequency range 10 Hz to 20 GHz. *Physics in Medicine and Biology*, 41, 2251–2269.
- Gallo, C., (1994). Efecto del manejo pre y post faenamamiento en la calidad de la carne. *Serie Simposios y Compendios de la Sociedad Chilena de produccion Animal 2*: 27-47.
- Garrido, M., D., Pedauye, J., Banon, S., & Laencina, J., (1994). Objective assessment of pork quality. *Meat Science*, 37, 411–420.
- Garrido, M.,D., Bañon, S., Alvares, D., (2005). Medida del pH. En: *Estandarización de las metodologías para evaluar la calidad del producto* (animal vivo, canal, carne y grasa) en los rumiantes. Monografía INIA Madrid Monografías INIA, Madrid, goats. *Journal of Animal Science* 77 (Suppl. 1), 267
- Garriz, C., (1995). Calidad total vs rechazos y machucos. *Revista CCDH. Convenio INTA-CCDH*.
- Gilbert, S.,E., Whyte, R., Bayne, G., Paulin, S.,M., Lake, R.,J., y van der Logt, P., (2007). Survey o of domestic food handling practices in New Zealand. *International Journal of Food Microbiology*, 117 (1), 306-311.
- Gispert, M., y Diestre, A., (1999) En: *Jornada técnica: factores que afectan la eficiencia productiva y la calidad en el porcino* Ed. IRTA, Vic, Barcelona.

- Gispert, M., Guardia, M., D., Diestre, A., (1996). La mortalidad durante el transporte y la espera en porcinos destinados al sacrificio. *Eurocarne*, 45, 73-79.
- Gispert, M., M., D., Guardia, A., Diestre. (2000). La calidad de la carne porcina. *ANAPORC*. 200: 76-80.
- Gong, C., L., & Hart, D., P., (1998). Ultrasound induced cavitation and sonochemical yields. *Journal of the Acoustical Society of America*, 104, 2675-2682.
- Grandin, T., (1993). *Livestock Handling and Transport*. CAB International, Wallingford Oxon, United Kingdom.
- Grandin, T., (1980). The effect of stress on livestock and meat quality prior to and during slaughter: review article. *International Journal for the Studies of Animal Problems*, 1(5), 313-337.
- Grant, J., P., Clarke, R., N., Symms, G., T., & Spyrou, N., M., (1989). A critical study of the open-ended coaxial line sensor technique for RF and microwave complex permittivity measurements. *Journal of Physics E: Scientific Instruments*, 22, 757-770.
- Gregory, N., (1998). *Animal welfare and meat science*. CABI Publishing. 298 p.
- Griffith, M., & Ewart, K., V., (1995). Antifreeze proteins and their potential use in frozen foods. *Biotechnology Advance*, 13(3), 373-402.
- Grobet, L., R. Hanset, C., Dasnois. (1992). Réponse au test a l halothane et génotype au locus Ryr1 du récepteur a la ryanodine chez des porcs croises Pietrain. *Ann. Méd. Vét.* 136: 249-257.
- Guan, D. Cheng, M., Wang, Y., Tang, J. (2004). Dielectric properties of mashed potatoes relevant to microwave and radio-frequency pasteurization and sterilization processes. *Journal of Food Science* 69 (1), 30-37.
- Guerrero, L., Gobantes, I. Oliver, M., A., Arnau, J., Guardia, M., D., Elvira, J., Riu, P. Grebol, N., & Monfort, J.M. (2004). Green hams electrical impedance spectroscopy (EIS) measures and pastiness prediction of dry cured hams. *Meat Science*, 66(2), 289-294.

- Gutiérrez, B.J, (1988). Ciencia y tecnología culinaria, Ediciones Díaz de Santos, Madrid, pp.150- 396.
- Haenian, R., Mittal, G.,S., y Usborne, R., (1989). Effects of Pre-Chilling, Freezing Rate and Storage Time on Beef Patty Quality. *Journal of Food Science*, 54 (3), 532-535.
- Hagyard, C.,J., Keiller, A.,H., Cummings, T.,L., y Chrystall, B.,B., (1993). Frozen storage conditions and rancid flavour development in lamb. *Meat Science*, 35 (2), 305-312.
- Hamilton, D. N., Ellis, M., Wolter, B. F., Augspurger, N. R., McKeith, F. K., & Wilson, E. R. (2000). The growth performance of the progeny of two sire lines reared under differing environmental conditions. *Journal of Animal Science*, 78 (Suppl. 1), 239.
- Hamm, R., (1960). Biochemistry of meat hidratation. *Advances Food Research*, 10:355
- Hamm, R., (1986). *Functional Properties of the Miofibrilar System and their Measurements*. En: Muscle as Food. Ed. P.J. Bechtel. Academic Press, New York.
- Hannula, T., y Puolanne, E., (2004). The effect of cooling rate on beef tenderness: The significance of pH at 7 °C. *Meat Science*, 67 (3), 403–408.
- Hansen, E., Juncher, D., Henckel, P., Karlsson, A. Bertelsen, G. y Skibsted, L.H. (2004). Oxidative stability of chilled pork chops following long term freeze storage. *Meat Science*, 68 (3), 479-484.
- Hargreaves, A., L. Barrales, I., Peña, R., Larraín, y L., Zamorano. (2004). Factores que Infuyen en el pH Ultimo e Incidencia de Corte Oscuro en Canales de Bovinos. *Cien. Inv. Agr.* 31(3):155-166.
- Hartel, R.W.(2001). *Crystallization in Foods*. Gaithersburg, MD: Aspen Publishers Inc, pp.145-191.
- Heffron, J.,J., Heggarty, P.,V.,J., (1974). Evidence for a relationship between ATP hydrolysis and changes in extracellular space and fiber diameter during *rigor* development in skeletal muscle. *Comp. Biochem. Physiol.* A 49, 43-56.

- Hills, B., P., & Remigereau, B., (1997). NMR studies of changes in subcellular water compartmentation in parenchyma apple tissue during drying and freezing. *International Journal of Food Science and Technology*, 32, 51-61.
- Hindmarsh, J., P., Buckley, C., Russell, A., B., Chen, X., D., Gladden, L., F., Wilson, D., I. (2004). Imaging droplet freezing using MRI. *Chemical Engineering Science*, 59, 2113-2122.
- Hindmarsh, J., P., Wilson, D., I., Johns, M., L., Russell, A., B., and Chen, X., D., (2005). NMR verification of single droplet freezing models, *Aiche Journal*, 51(10) 2640-2648.
- Honikel, K., O., (2004). Conversion of muscle to meat. In: W. K. Jensen, C. E. Devine, & M. Dikeman, *Encyclopedia of meat science*: Elsevier Academic Press.
- Honikel, K., O., and Fischer, Ch., (1977). Eine Schnellmethode zur Bestimmung von PSE- und DFD Fleisch beim Schwein. *Fleischwirtschaft*, 5, 1015–1017.
- Honikel, K., O., Hamm, R., (1994). Measurement of water-holding capacity and juiciness. En: Quality attributes and their measurements in meat, poultry and fish products. *Advances in meat research Series, volume 9*, 125-161.
- Hood, D., E., y Riordan, E., B., (1973). Discoloration in pre-packaged beef measurement by reflectance spectrophotometry and shopper discrimination. *Journal of Food Technology*, 8, 333-343.
- Hopkins, D., L., & Wang, D., (2012). Preliminary investigation of high resolution impedance spectroscopy for measuring shear force. *58th International Congress of Meat Science and Technology, Vol. B-27*. (pp. 1–4) (Montreal, Canada).
- Huff-Lonergan, E., & Page, J., (2001). The role of carcass chilling in the development of pork quality. Facts, National Pork Producers Council, Pork Quality, *American Meat Science Association*, (pp. 1–8).
- Huff-Lonergan, E., & Lonergan, S., M., (2005). Mechanisms of water-holding capacity of meat: The role of post mortem biochemical and structural changes. *Meat Science*, 71, 194–204.

- Hunt, M.,C., Hedrick H.,B., (1977). Profile of fiber types and related properties of five bovine muscles. *Journal of Food Science*, 42,513–17.
- İcier, F., & Baysal, T., (2004). Dielectrical Properties of Food Materials-2: Measurement Techniques. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 44: 473-478.
- Ikediala, J., N., Hansen, J., D., Tang, J., Drake, S., R., & Wang, S., (2002). Development of a saline water immersion technique with RF energy as a postharvest treatment against codling moth in cherries. *Postharvest Biology and Technology*, 24, 209–221.
- International Commission on Microbiological Specifications for Food of the International Association of Microbiological Societies (ICMSF). (1983). “Ecología Microbiana de los Alimentos” Tomo I. Factores que afectan la supervivencia de los microorganismos en los alimentos”, p.16, Ed. ACRIBIA.
- International Institute of Refrigeration.(1972). *Recommendations for the processing and handling of frozen foods* (2nd ed.). Paris, France.
- Jackson, T., H., Urgan, A., Critser, J., K., & Gao, D., Y., (1997). Novel microwave technology for cryopreservation of biomaterials by suppression of apparent ice formation. *Cryobiology*, 34, 363-372.
- Jacob, R., H., Pethick, D., W., & Chapman, H., M., (2005). Muscle glycogen concentrations in commercial consignments of Australian lamb measured on farm and post-slaughter after three different lairage periods. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 45, 543–552.
- Jason, A.,C., Sanders, H.,R., (1962). Dielectric thawing of fish. I. Experiments with frozen herrings. *Food Technology* 16 (6), 101–106.
- Jin, S., Kim, I., Jung, H., Kim, D., Choi, Y., & Hur, S., (2010). Effect of cryoprotectants on chemical, mechanical and sensorial characteristics of spent laying hen surimi. *Food and Bioprocess Technology*, 1-7.
- Jones, P.,L., Rowley, A.,T., (1997). In: Baker, C.G.J. (Ed.), *Industrial Drying of Foods*. Blackie Academic and Professional, London (Chapter 8).

- Jones, S.,M.,S., & Tong, A., K., W. (1989). Factors influencing the commercial incidence of dark cutting beef. *Canadian Journal of Animal Science* 69, 649-654.
- Joo, S., T., Kauffman, R., G., Kim, B., C., & Park., G., B., (1999). The relationship of sarcoplasmic and myofibrillar protein solubility to colour and water-holding capacity in porcine *longissimus* muscle. *Meat Science*, 52(3), 291-297.
- Junqueira, O., M., (2009).FCAV/UNES, Brasil. Extraído de Watt AgNet.com (<http://wattagnet.com>).
- Kalichevsky, M. T. Knorr, D. & Lillford, P. J. (1995). Potential food applications of high-pressure effects on ice-water Transitions. *Trends in Food Science & Technology*, 6, 253-259.
- Kauffman, R., G., Sybesma, W., Smulders, F., J., M., Eikelboom, G., Engel, B., van Laack, R., L., J., M., Hoving-Bolink, A. Sterrenburg, H. P. Nordheim, E. V. Walstra, P. & van der Wal, P. G. (1993). The effectiveness of examining early post mortem musculature to predict ultimate pork quality. *Meat Science*, 34, 283–300.
- Kauffman, R.,G., Cassens, R.,G., Scherer, A., y Meeker, D.,L., (1992). *Variations in pork quality.NPPC Bulletin*, Des Moines, IA.
- Kent, M., & Anderson, D., (1996). Dielectric studies of added water in poultry meat and scallops. *Journal of Food Engineering*, 28, 239–259.
- Kent, M., & Jason, A., C., (1975). Dielectric properties of foods in relation to interactions between water and the substrate. In R. B. Duckworth (Ed.), *Water relations of foods* (pp. 211–231). New York, U.S.A.: Academic Press.
- Kent, M., Knochel, R., Daschner, F., & Berger, U.,K., (2000a). Composition of foods using microwave dielectric spectra. *European Food Research Technology*, 210(5), 359–366.
- Kent, M., Knöchel, R., Daschner, F., Berger, U-K. (2001). Composition of foods including added water using microwave dielectric spectra. *Food control* 12,467-482.

- Kent, M., Knöchel, R., Daschner, F., Schimmer, O., Oehlenschläger, J., Mierke Klemeyer, S., Kroeger, M., Barr, U., K., Floberg, P., Tejada, M., Huidobro, A. Nunes, L., Martins, A. Batista, I., & Cardoso, C., (2007). Intangible but not intractable: The prediction of fish quality variables using dielectric spectroscopy. *Measurement Science and Technology*, 18, 1029–1037.
- Kent, M., Knökel, R., Daschner, F., & Berger, U. (2000). Composition of foods using microwave dielectric spectra. *European Food Research and Technology*, 210, 359–366.
- Kent, M., Knökel, R., Daschner, F., & Berger, U. (2001). Composition of foods including added water using microwave dielectric spectra. *Food Control*, 12, 467–482.
- Kent, M., Lees, A. & Roger, A., (1993). Estimation of the fat content of minced meat using a portable microwave fat meter. *Food Control*, 4, 222–227.
- Kent, M., MacKenzie, K., Berger U., Knöchel, R. & Daschner, F., (2000). Determination of prior treatment of fish and fish products using microwave dielectric spectra. *European Food Research and Technology*, 210, 427-433.
- Kent, M., Peymann, A., Gabriel, C. & Knight, A., (2002). Determination of added water in pork products using microwave dielectric spectroscopy. *Food Control*, 13, 143-149.
- Kim, B., C., Warner, R., D., and Kaufman, R., G., (1993). Changes in expressible fluid losses of porcine musculature at different times post-rigor. In *Proceedings of the 39th International Congress of Meat Science and Technology*, Calgary, Alberta, Canada.
- Kirk, S., Skepper, J., & Donald, A., M., (2009). Application of environmental scanning electron microscopy to determine biological surface structure. *Journal of Microscopy-Oxford*, 233, 205-224.
- Klont, R., E., Barnier, V., Brocks L., van Crujningen, C., van Dijk, A., Eikelenboom, G., Hoving- Bolink, A., H., and Oliver, A., (1998). Muscle Fibre Type and Meat Quality. *Meat Science*, 49, 219-229.

- Kraszewski, A. (2000). Recent bibliography on moisture sensing: 1990–1998 (sensors, methods, applications). In H. Baltes, W. Göpel, & J. Hesse (Eds.), *Sensors update* (pp. 393–414). Weinheim, Germany: Wiley–VCH.
- Kraszewski, A., W., (2000). Recent bibliography on moisture sensing: 1990-1998 (Sensors, Methods, Applications). En H. Baltes, W. Göpel, J. Hesse (Eds.), *Sensors update* (pp. 393-414). Wiley-VCH, Weinheim, Alemania.
- Lagerstedt, A., L., Enfalt, L., Johansson & K., Lundstrom. (2008). Effect of freezing on sensory quality, shear force and water loss in beef M. longissimus dorsi. *Meat Science*, 80, 457–461.
- Lambert, I., H., Nielsen, J., H., Andersen, H., J., & Ortenblad, N., (2001). Cellular model for induction of drip loss in meat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(10), 4876–4883.
- Lanari, M., C. & Zaritzky N.E. (1991). Effect of packaging and frozen storage temperature on beef pigments. *International Journal of Food Science & Technology*, 26: 629–640.
- Lawrie, R., A., (1985). *Meat Science*. Pergamon Press, Oxford, p. 451. ISBN-10: 0080307906
- Lawrie, R., A., (1998). In Anonymous (Ed.), *Lawrie's meat science*. Lancaster, PA: Technomic Publishing Inc. (pp. 1–336). (6th ed.)
- Lawrie, R., A., (1966). The eating quality of meat. En: *Meat Science*. Pergamon Press, London.
- LeBail, A., Chevalier, D., Mussa, D. M., & Ghoul, M. (2002). High pressure freezing and thawing of foods: a review. *International Journal of Refrigeration-Revue Internationale Du Froid*, 25, 504-513.
- Ledward, D., A., (1971). Metmyoglobin formation in beef muscles as influenced by water content and anatomical location. *Journal of Food Science*, 36, 138-140.
- Ledward, D., A., (1992). Colour of raw and cooked meat. In D. A. Ledward, D. E. Johnston, & M. K. Knight (Eds.), *The chemistry of muscle-based foods* (pp. 33–68). Cambridge: The Royal Society of Chemistry.

- Lee, D. K., Kwon, B. S., & Ramamoorthy, A. (2008). Freezing point depression of water in phospholipid membranes: a solid-state NMR study. *Langmuir*, 24, 13598-13604.
- Lepetit, J., Damez, J.,L., Clerjon, S., Favier, R., Abouelkaram, S., and Dominguez, B., (2006). Multi-electrode sensor for measuring the electric anisotropy of a biological material and the use of said sensor. French Patent FR2880124–WO2006070169.
- Lepetit, J., Salé, P., Favier, R., & Dalle, R., (2002). Electrical impedance and tenderization in bovine meat. *Meat Science*, 60, 51–62.
- Lepetit, J., y Culioli, J., (1994). Mechanical properties of meat. *Meat Science*, 36, 203–237.
- Lerena, C.,A., Lerena, J.,I., Martínez, Souto, L., (1998). Experiencia en la descongelación de filetes de pescado para su comercialización. Assistance Food Argentina S.A.
- Leygonie, C., Britz, T., J., & Hoffman, L., C., (2011). Oxidative stability of previously frozen ostrich M. iliofibularis packaged under different modified atmospheric conditions. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 1171–1178.
- Leygonie, C., Britz, T., J., & Hoffman, L., C., (2012). Meat quality comparison between fresh and frozen/thawed ostrich M. iliofibularis. *Meat Science*, 91, 364-368
- Li, B., & Sun, D., W., (2002). Novel methods for rapid freezing and thawing of food: a review. *Journal of Food Engineering*, 54, 175–182.
- Li, J., & Lee, T., C., (1995). Bacterial ice nucleation and its potential application in the food industry. *Trends in Food Science and Technology*, 6, 259–265.
- Lind, M. L., Harrison, D. L., & Kropf, D. H. (1971). Freezing and thawing rates of lamb chops: Effects on palatability and related characteristics. *Journal of Food Science*, 36(4), 629–631.
- Livingston, D. J., & Brown, W., D., (1981). The chemistry of myoglobin and its reactions. *Food Technology*, 35, 238–252.

- Lleó, L., Ruiz-Altisent, M., Hernández, N., & Gutiérrez, P., (2007). Application of microwave return loss for sensing internal quality of peaches. *Biosystems Engineering*, 96, 525–539.
- Lobban, C., Finney, J. L., & Kuhs, W. F. (1998). The structure of a new phase of ice. *Nature*, 391, 268–270.
- Martino, M., N., Zaritzky, N., E., (1989). Ice recrystallization in a model system and in frozen muscle tissue, *Cryobiology* 26, 138-148.
- Mahdjoub, R., Chouvinc, P., Seurin, M., J., Andrieu, J., & Briguet, A., (2006). Sucrose solution freezing studied by magnetic resonance imaging. *Carbohydrate Research*, 341, 492-498.
- Maity, T., Raju, P.S., & Bawa, A.S., (2012). Effect of freezing on textural kinetics in snacks during frying. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 155-165.
- Makita, T. 1992. Application of high pressure and thermophysical properties of water to biotechnology. *Fluid Phase Equilibrium*, 76, 87–95.
- Mancini, R., A., & Hunt, M., C., (2005). Current research in meat colour. *Meat Science* 71,100–121.
- Maribo, H., Olsen, E., V., Barton-Gade, P., Møller, A., & Karlsson, A., (1998). Effect of early post-mortem cooling on temperature, pH fall and meat quality in pigs. *Meat Science*, 59, 115–129.
- Marra, F., Zhang, L., & Lyng, J., (2009). Radiofrequency treatment of foods: Review of recent advances. *Journal of Food Engineering*. 91: 497-508
- Martino, M., N., & Zaritzky, N., E., (1988). Ice crystal size modifications during frozen beef storage. *Journal of Food Science*, 53, 1631–1637.
- Martino, M., N., Otero, L., Sanz, P., D., & Zaritzky, N., E., (1998). Size and location of ice crystals in pork frozen by high pressure assisted freezing as compared to classical methods. *Meat Science*, 50, 303–313.
- Martins, A., (2004). Time domain reflectometry as a tool for the estimation of quality in foods. *Internacional Agrophysics* 18: 225-229.

- Martins, R., Castro, C., & Lopes, V., (2011). The influence of geometrical and operational factors on supercooling capacity in strawberries: a simulation study. *Food and Bioprocess Technology*, 4, 395-407.
- Mason, T., J., Paniwnyk, L., & Lorimer, J., P., (1996). The uses of ultrasound in food technology. *Ultrasonics Sonochemistry*, 3, 253-260.
- Matsumoto, T., Sakai, A., Nako, Y., (1998). A novel preculturing for enhancing the survival of in vitro-grown meristems of wasabi (*Wasabia japonica*) cooled to -196°C by vitrification. *CryoLetters*, 19: 27-36.
- McKenna, B.M., Lyng, J., Brunton, N., Shirsat., N., (2006). Advances in radio frequency and ohmic heating of meats. *Journal of Food Engineering*, 77 (2), 215–229.
- McKenna, D.,R., Mies, P.,D., Baird, B.,E., Pfeiffer K.,D., Ellebracht, J.,W., Savell, J.,W., (2005). Biochemical and physical factors affecting discoloration characteristics of 19 bovine muscles. *Meat Science*, 70,665–82.
- McLellan, M., R., Morris, G., J., Grout, B., W., W., & Hughes, K., (1991). Light microscopy of foodstuffs during freezing and thawing. En W. B. Bald (Ed.), *Food freezing: Today and tomorrow*. London/ New York: Springer-Verlag.
- McMillin, K., W., (2008). Where is MAP going. A review and the future potential of modified atmospheric packaging for meat. *Meat Science*, 80, 43–63.
- Meat Atlas (2014). Heinrich Böll Foundation, Berlin, Germany, and friends of the earth Europe, Brussels, Belgium, 53106-1311-1008.
- Meisel, N., (1973). Microwave applications to food processing and food systems in Europe. *Journal of Microwave Power*, 8(2), 143– 146.
- Melody, J.,L., S.,M., Lonergan, L.,J., Rowe, T.,W., Huiatt, M.,S., Mayes, & E., Huff-Lonergan., (2004). Early postmortem biochemical factors influence tenderness and water-holding capacity of three porcine muscles. *J. Ani. Sci.* 82, 1195-1205.
- Metabolism, and Incidence of Dack-Cutting Longissimus Muscle of Sheep. *Journal of Animal Science* 73, 2295-2307.

- Metaxas, A., C., & Meredith, R., J., (1993). Industrial microwave heating. En *IEE power engineering series, 4*, London, UK: Peter Peregrinus LTD.
- Mikkelsen, A., & Skibsted, L.,H., (1992). Kinetics of enzymatic reduction of metmyoglobin in relation to oxygen activation in meat products. *Zeitschrift fur Lebensmitteluntersuchung und forschung*, 194, 9–16.
- Mikkelsen, A., Juncher, D., & Skibsted, L., H., (1999). Metmyoglobin reductase activity in porcine m. longissimus dorsi muscle. *Meat Science*, 51, 155–161.
- Ming, L., Rahim, R., Wan, H., & Ariff, A., (2009). Formulation of protective agents for improvement of lactobacillus salivarius I24 survival rate subjected to freeze drying for production of live cells in powderized form. *Food and Bioprocess Technology*, 2, 431-436.
- Miranda-De La Lama G.,C., Villarroel, M., Olleta J.,L., Alierta, S., Sañudo, C., Maria, G.,A., (2009). Effect of the pre-slaughter logistic chain on meat quality of lambs. *Meat Science*, 8, 604-609.
- Miura, N., Yagihara, S., Mashimo, S., (2003). Microwave dielectric properties of solid and liquid foods investigated by time-domain reflectometry. *Food engineering and physical properties* 68, 1396-1403.
- Monin, G., y Sellier, P., (1987). Le métabolisme énergétique musculaire peri-mortem. *Viandes et Produits Carnés*, 20 (6), 266-272..
- Monin, G., Lambooy, E., & Klont, R., (1995). Influence of temperature variation on the metabolism of pig muscle in situ and after excision. *Meat Science*, 40, 149–158.
- Moore, V., J., (1990). Increase in retail display of frozen lamb chops with increased loin storage time before cutting into chops. *Meat Science*, 28, 251–258.
- Morgan, J., B., Smith, G., C., Cannon, J., McKeith, F., K., & Heavner, J., L., (1994). Pork distribution channel audit report, pork chain quality audit. Des Moines, IA: National Pork Producers Council.
- Mousavi, R., Miri, T., Cox, P., W., & Fryer, P., J., (2005). A novel technique for ice crystal visualization in frozen solids using X-ray micro-computed tomography. *Journal of Food Science*, 70, 437-442.

- Mousavi, R., Miri, T., Cox, P., W., & Fryer, P., J., (2007). Imaging food freezing using X-ray microtomography. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 714-727.
- Mudgett, R.,E., (1985). Dielectric Properties of Foods. En R.V. Decareau (Ed.), *Microwaves in the Food Processing Industry* (pp. 15-37), Food Science and Technology, a series of monographs, Academic Press, Inc, Florida, E.E.U.U.
- Mudgett, R.,E., Goldblith, S.,A., Wang, D.,I.,C., & Westphal, W.,B., (1979). Dielectric properties of frozen meats. *Journal of Microwave Power*, 14(3), 209-216.
- Muela, E., Sañudo, C., Campo, M.,M., Medel, I., Beltrán, J.,A., (2012). Effect of freezing method and frozen storage duration on lamb sensory quality. *Meat Science*, 90 (1), 209–215.
- Myerson, A., S., (2002a). Crystals, crystal growth and nucleation. En A. S. Myerson (Ed.), *Handbook of industrial crystallization*. Boston/Oxford: Butterworth-Heinemann.
- Myerson, A., S., (2002b). *Handbook of industrial crystallization*, (2nd ed.). Boston/Oxford: Butterworth-Heinemann.
- Nakagawa, K., Hottot, A., Vessot, S., & Andrieu, J., (2006). Influence of controlled nucleation by ultrasounds on ice morphology of frozen formulations for pharmaceutical proteins freeze-drying. *Chemical Engineering and Processing*, 45, 783-791.
- Naveau, J., (1986) Contribution à l'étude du déterminisme genetique de la qualité de la viande porcine. Heritabilité du rendement technologique Napole. *Journée de la Recherche Porcine en France*. 18: 265-276.
- Ndife, M.K., Sumnu, G., & Bayindirli, A.,L., (1998). Dielectric properties of six different species of starch at 2450MHz. *Food Research International*, 31(1), 43-52.
- Nelson, S., O., & Datta, A., K., (2001). Dielectric properties of food materials and electric field interactions. En A. K. Datta & R.C. Anantheswaran (Eds.),

Handbook of microwave technology for food applications (pp. 69–114). New York: Marcel Dekker.

- Nelson, S.O., & Kraszewski, A.W., (1990). Dielectric properties of materials and measurement techniques. *Drying Technology*, 8(5), 1123-1142.
- Ngapo, T., M., Babare, I., H., Reynolds, J., & Mawson, R., F., (1999). Freezing and thawing rate effects on drip loss from samples of pork. *Meat Science*, 53, 149–158.
- Nigel, P., Brunton, James, G., Lyng, Wenqu, Li, Denis A., Cronin, Desmond, M., Brian, M., (2004). Effect of radiofrequency (RF) heating on the texture, colour and sensory properties of a comminuted pork meat product. *Food Research International*, 38, 337-344.
- Nii, M., & Hayashi, T., & Mikawa, S., & Tani, F., & Niki, A., & Mori, N., (2005). "Quantitative trait loci mapping for meat quality and muscle fiber traits in a Japanese wild boar×Large White intercross", *Journal of Animal Science*, 83, 308-315.
- O’Keeffe, M., Hood, D.,E., (1982). Biochemical factors influencing metmyoglobin formation on beef from muscles of differing color stability. *Meat Science*. 7, 209–228.
- Offer, G., (1991). Modelling of the formation of pale, soft and exudative meat: Effects of chilling regime and rate and extent of glycolysis. *Meat Science*, 30(2), 157–184.
- Offer, G., and Knight, P., (1988). The structural basis of water-holding in meat. Part 1: General principles and water uptake in meat processing. En: *Developments in Meat Science* (Ed. Lawrie, R.A.), pp. 63-171. Elsevier, Oxford, U.K.
- Offer, G., y Trinck, J., (1983). On the mechanism of water holding in meat: the swelling and shrinking of myofibrils. *Meat Science*, 8:245.
- Offer, G., Knight, P., Jeacocke, R., Almond, R., Cousins, T., Elsey, J., Parsons, N., Sharp., A., Starr, R., y Purslow, P.,(1989). The structural basis of the water

holding, appearance and toughness of meat and meat products. *Food Microstructure*, 8,151.

OIE, 2005. *Terrestrial Animal Health Code* (2005). World Organization for Animal Health (OIE), Paris, France.

Oliver, M.,A., Gispert, M., Diestre, A., (1993). The effects of breed and Halothane sensitivity on pig meat quality. *Meat Science* 35, 105-118.

Oliver, M. A., Gou, P., Gispert, M., Diestre, A., Arnau, J., Noguera, J. L. & Blasco, A. (1994). Comparison of five types of pig crosses. II. fresh meat quality and sensory characteristics of dry cured ham. *Livestock Production Science*, 40 (2), 179-185.

Oliver, M.,A., Weiler., U., Fischer., K., Font., M. Gispert., M. Diestre., A., y Claus, R., (1998) *Proc.44th ICoMST*: 816.

Oliver, M.,A., (2013). XII Curso Internacional en Tecnología de Productos Carnicos.Irta de Monells.Girona. España. 50-65 p.

Olmo, A., Baena, R., & Risco., R., (2008). Use of a droplet nucleation analyzer in the study of water freezing kinetics under the influence of ultrasound waves. *International Journal of Refrigeration*, 31, 262-269.

Onega, M., (2003). Evaluación de la calidad de carnes frescas: aplicación de técnicas analíticas, instrumentales y sensoriales. Tesis Doctoral. Departamento de Nutrición y Bromatología. Universidad Complutense. Madrid. España. 40 p.

Ordoñez, J.,A., Cambero, M.,I., Fernandez, L., Garcia, M.,L., Garcia de Fernando, G., Dela Hoz, L., y Selgas, M.,D., (1998). Cambios *post-mortem* del músculo. En: *Tecnología de los Alimentos. Alimentos de origen animal*, pp. 170-184. Síntesis S.A, Madrid, España.

Organizacion Mundial de la Salud, [OMS] (2003). Dieta, nutricion y prevencion de enfermedades cronicas. *WHO technical report series no. 916*. Genova: Organizacion Mundial de la Salud.

Orsat, V., (1999). Radio-Frequency Thermal Treatments for Agri-Food Products. Tesis doctoral, Department of Agricultural and Biosystems Engineering, Macdonald Campus of McGill University, Quebec, Canada.

- Otero, L., & Sanz, P., D., (2000). High-pressure shift freezing. Part 1. Amount of ice instantaneously formed in the process. *Biotechnology Progress*, 16, 1030-1036.
- Otero, L., & Sanz, P., D., (2006). High-pressure-shift freezing: main factors implied in the phase transition time. *Journal of Food Engineering*, 72, 354-363.
- Otero, L., Martino, M., N., Sanz, P., D., & Zaritzky, N., E., (1997). Histological analysis of ice crystals in pork frozen by Liquid N₂ and high-pressure-assisted freezing. *Scanning*, 19, 241–242.
- Otero, L., Martino, M., Zaritzky, N., Solas, M., & Sanz, P., D., (2000). Preservation of microstructure in peach and mango during highpressure- shift freezing. *Journal of Food Science*, 65, 466-470.
- Otero, L., Sanz, P., D., Guignon, B., & Aparicio, C., (2009). Experimental determination of the amount of ice instantaneously formed in high-pressure shift freezing. *Journal of Food Engineering*, 95, 670-676.
- Otto, G., R., Roehe, H., Looft, L., Thoelking, and E., Kalm. (2004). Comparison of different methods for determination of drip loss and their relationships to meat quality and carcass characteristics in pigs. *Meat science*, 68(3): 401–409.
- Ouali, A., & Sentandreu, M., A., (2002). Overview of muscle peptidases and their potential role in meat texture development. En: *Research advances in the quality of meat and meat products*. Ed. F. Toldrá. pp. 33-63. Research Signpost. Trivandrum, India.
- Ouali, A., (1992). Proteolytic and phsycochemical mechanisms. A review. *J. Muscle Foods*, 1:129-165.
- Ouali, A., Herrera-Mendez, C., H., Coulis, G., Becila, S., Boudjellal, A., Aubry, L., & Sentandreu, M. A. (2006). Revisiting the conversion of muscle into meat and the underlying mechanisms. *Meat Science*, 74(1), 44–58.
- Ouhaoun, J., & Delmas., (1988), 4° Congreso Mundial de Cunicultura. Budapest.
- Page, J.K.; Wulf, D.M. and Schwotzer, T.R. (2001). A survey of beef muscle color and pH. *Journal of Animal Science* 79, 678-687.

- Owen, J., E., & Lawrie, R., A., (1975). The effect of an artificially induced high pH(hydrogen-ion concentration) on the susceptibility of minced porcine muscle to undergo oxidative rancidity under frozen storage. *Journal of Food Technology*, 10, 169–180.
- Ozawa, S., Mitsuhashi, T., Mitsumoto, M., Matsumoto, S., Itoh, N., Itagaki, K., Kohno, Y., Dohgo, T., (2000). *Meat Science* 54:65-70.
- Pangrle, B., J., Ayappa, K., G., Davis., H., T., Davis, E., A., & Gordon, J., (1991). Microwave thawing of cylinders. *AIChE Journal*, 37(12), 1789–1800.
- Pardo, J., M., Suess, E., & Niranjana, K., (2002). An investigation into the relationship between freezing rate and mean ice crystal size for coffee extracts. *Food and Bioprocess Processing*, 80, 176-182.
- Parrish, F.,C., Goll, D.,E., Newcomb, W.,J., Delumen, B.,O., Chaundhry, H.,M., Kline, E.,A., (1969). Molecular properties of *post-mortem* muscle. 7. Changes in non-protein nitrogen free amino acids of bovine muscle. *Journal of Food Science*. 34, 196-203.
- Pearce, K., L., K., Rosenvold, H., J., Andersen, and D., L., Hopkins. (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.
- Pearson, A.,M., Love , J.,D., & Shorland, F.,B., (1977). Warmed-over flavor in meat, poultry and fish. *Adv. Food Res.*, 23,1–74.
- Pearson, A., M., (1986). Physical and biochemical changes occurring in muscle during storage and preservation. En: *Muscle as Food*. Ed. P.J. Bechtel. Academic Press, New York. 345 p.
- Pearson, A.,M., Tarladgis, B.,G., Spooner, M.,E., & Quinn, J.,R., (1966). The browning produced on heating fresh pork. II. Nature of the reaction. *Journal Food Science* 31, 184-189.

- Penny, I., F., (1975). Use of a centrifuging method to measure the drip of pork *Longissimus dorsi* slices before and after freezing and thawing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 26, 1593-1602.
- Pérez Chabela, M., L., and J. Mateo - Oyague . (2006). Frozen meat: Quality and shelf life . In *Handbook of Food Science, Technology, and Engineering*, Volume 3, edited by Y. H. Hui . Boca Raton, Fla. : CRC Press, Taylor and Francis Group.
- Pérez-Linares, C., (2011).Cambios en las prácticas de manejo antes y durante el sacrificio para disminuir la presencia de carne DFD en bovinos. *NACAMEH*; 5: S59-S68.
- Petzold, G., & Aguilera, J., M., (2009). Ice morphology: fundamentals and technological applications in foods. *Food Biophysics*, 4, 378-396.
- Picouet P., Altas frecuencias como proceso de descontaminación alternativo y tomografía computerizada como herramienta de seguimiento de procesos. En *Nuevas tecnologías en la conservación y transformación de los alimentos* edited University de Burgos. 167 p.
- Picouet, P., & del Valle-Rodríguez, V.,(2005).Tratamientos de altas frecuencias: parámetros y aplicaciones. *Eurocarnes* nº 137, 1-10.
- Pietrasik, Z., and Duda, Z., (2000). Effect of fat content soy protein/carrageenan mix on the quality characteristics of comminuted, scalded sausages. *Meat science* 56(2): 181-188.
- Pike, M.,M., T.,P., Ringkod, D.,D., Beekman, Y.,O., Kob, & W.,T., Gerthoffer. (1993). Quadratic relationship between early-*post-mortem* glycolytic rate and beef tenderness. *Meat Sci.* 34,13-26.
- Pizza, A., Pedrielli, R., & Busseto, M., (1997). Use of radiofrequencies in the meat processing industry. Effects on the quality characteristics of meat and cooked meat products. *Industria Conserve*, 72, 122-133.
- Pla, M., (2000). Determinación instrumental de la calidad de la carne. Medida de la capacidad de retención de agua. En: *Metodología para el estudio de la calidad de la canal y de la carne en rumiantes*. Coords. V. Cañequé y C. Sañudo. Monografías INIA: Ganadera N°1.

- Pommier, S.,A., Pomar, C., Godbout, D., (1998). Effect of the Halothane genotype and stress on animal performance, carcass composition and meat quality of crossbred pigs. *Can J. Anim. Sci.*, 78,257-264.
- Pothakamury, U.,R., Barbosa-Cánovas, & Swanson,B.,G., (1993).Magnetic-field inactivation of microorganisms and generation of biological changes. *Food Technology*,47, 85-39.
- Potter, N., (1978). *La ciencia de los alimentos*. Distrito Federal, México. Ed EDUTEX. 749 paginas. ISBN 9687032006
- Prakash, A., Nelson., S.,O., Mangino, M.,E., & Hansen, P.,M.,T., (1992). Variation of microwave dielectric properties of hydrocolloids with moisture content, temperature and stoichiometric charge. *Foods Hydrocolloids*, 6(3), 315-322.
- Price, J.,F., Schweigert, B.,S., (1994). *Ciencia de la carne y de los productos carnicos*. Ed. Acribia, ISBN 8420007595.Zaragoza.España.
- Prosperetti, A., (1984a). Acoustic cavitation series .2. Bubble phenomena in sound fields 1. *Ultrasonics*, 22, 69-78.
- Raj Abm., (1999). Behaviour of pigs exposed to mixtures of gases and the time required to stun and kill them: welfare implications. *The Veterinary Record* 144, 165–168.
- Ramarathnam, N. Rubin, L.J. & Diosady, L.L. (1993). Studies on meat flavour. 4. Fractionation, characterization, and cuantitation of volatiles from uncured and cured beef and chicken. *J. Agric. Food Chem*, 41: 939-945.
- Ramaswamy, H. S. Tung, M. A. & Stark, R. (1983). A method to measure surface heat transfer from steam/air mixtures in batch retorts. *Journal of Food Science.*, 48, 900–904.
- Rasmussen, A. J. & Andersson, M. (1996). New method for determination of drip loss in pork muscles. In Meat for the Consumer, 42nd International Congress of Meat Science and Technology (pp. 286– 287). Matforsk, Lillehammer, Norway.
- Rawn, D. J. (1989). *Biochemistry*. NC, USA: Neil Patterson Publishers. ISBN 13: 9780892784004.

- Reddy, I.M, & Carpenter, C.E. (1991). Determination of metmyoglobin reductase activity in bovine skeletal muscles. *Journal of Food Science*, 56,1161–64.
- Rehfeldt, C, Tuchscherer, A., Hartung, M. & Kuhn, G. (2008). A second look at the influence of birth weight on carcass and meat quality in pigs. *Meat Science* 78, 170-175.
- Renand, G. Picard, B. Touraille, C. Berge, P. & Lepetit, J. (2001). Relationships between muscle characteristics and meat quality traits of young Charolais bulls. *Meat Science*, 59, 49-60.
- Renerre, M. (1982). La couleur de la viande et sa mesure. Bull Tech. C.R.Z.V. Theix., I.N.R.A. 47, 47-54.
- Renerre, M. (1984). Variabilite entre muscles et entre animaux de la stabilite de la couleur des viandes bovines. *Sciences des Aliments*, 4, 567-574.
- Renerre, M.(1990). Factores involoved in the discoloration of beef meat. *International Journal of Food Science & Technology*, 25, 613–630,
- Resurreccion, A.V.A. (1994). Cookery of Muscle Foods. En: *Muscle Foods. Meat Poultry and Seafood Technology*. Eds. D.M. Kinsman, A.W. Kotula, B.C. Breidenstein. Chapman & Hall, New York.
- Resurrección, A.V.A. (1994). Sensory aspects of consumer choices for meat products. *Meat Science*, 66 (1), 11-20.
- Risman, P. (1991). Terminology and notation of microwave-power and electromagnetic energy. *The Journal of Microwave Power and Electromagnetic Energy*, 26, 243–248.
- Rodríguez Almeida (200). Efecto del tiempo entre insensibilizado y desangrado y del tiempo de escaldado sobre las características fisicoquímicas de la carne de cerdo. Portal Veterinario disponible en: <http://albeitar.portalveterinaria.com/noticia>.
- Rodríguez, P., Dalmau, A., Ruiz-de-la-Torre J.,L., Manteca, X., Jensen, E.,W., Rodríguez, B., Litvan, H., and Velarde, A., (2008). Assessment of unconsciousness during carbon dioxide stunning in pigs. *Animal Welfare*, 17, 341–349.

- Rodriguez-Calleja, J.,M., Garcia-Lopez, M.,A, Santos, J.,A., Otero A. (2005). Development of the aerobic spoilage flora of chilled rabbit meat. *Meat Sci*, 70: 389-394.
- Rome, E., (1967). Light and X-ray diffraction studies of the filament lattice of glycerolextracted rabbit psoas muscle. *Journal of Molecular Biology*, 27(3), 591–594.
- Romero, P.M.H., L.F. Uribe- Velásquez, y V.J.A. Sánchez (2011). Biomarcadores de estrés como indicadores de bienestar animal en ganado de carne. *Biosalud*, 10(1),71-87.
- Roncales, P., (2001). Transformación del músculo en carne: rigor mortis y maduración. En: *Enciclopedia de la Carne y de los Productos Cárnicos* (Coord. Martin Bejarano, S.), pp. 291-312. Martin & Macias, Caceres, España.
- Rosenberg, U., & Bogl, W., (1987). Microwave thawing, drying, and baking in the food industry. *Food Technology*, 41 , 85–91.
- Rosenvold, K., & Andersen, H., J., (2003). Factors of significance for pork quality: a review. *Meat Science*, 64, 219–237.
- Rosenvold, K. ,Larke, H., N., Jensen, S., K., Karlsson, A. ,Lundström, K., & Andersen, H., J. ,(2002). Manipulation of critical quality indicators and attributes in pork through vitamin E supplementation level, muscle glycogen reducing finishing feeding and preslaughter stress. *Meat Science*, 62, 485–496.
- Rosenvold, K., Petersen, J., S. ,Laerke, H., N., Jensen, S., K. ,Therkildsen, M. ,Karlsson, A., H., Møller, H., S., & Andersen, H., J. (2001). Muscle glycogen stores and meat quality as affected by strategic finishing feeding of slaughter pigs. *Journal of Animal Science*, 7, 382–391.
- Rowley, A. T. (2001). Chapter 9: Radio frequency heating. En *Thermal technologies in food processing*. Ed. P. Richardson, Woodhead Publishing Limited, p. 163-177. ISBN 1 85573 558 X

- Rubio, M., Fulladosa, E., Duran, P., Garcia-Gil, N., (2011). Determinación no destructiva de los contenidos de agua y sal en jamón curado mediante el equipo Sequid RFQ-Scan. *Eurocarne*, 202: 82-87.
- Ryu, J.,S. , Kim, J.,I., Kunkel, T., Kim, B.,C. ,Cho, D.,S., Hong, S.,H., Kim, S.,H. ,ñías-Fernández, A., Kim, Y. , & Alonso, J.,M., (2005). Phytochrome-specific type 5 phosphatase controls light signal flux by enhancing phytochrome stability and affinity for a signal transducer. *CELL*, 120, 395–406.
- Ryynanen, S., (2002). Microwave heating uniformity of multicomponent prepared foods. PhD Dissertation. Helsingin Yliopisto.
- Ryynanen, S., (1995). The electromagnetic properties of food materials: a review of the basic principles. *Journal of Food Engineering*, 26, 409-429.
- Saclier, M., Peczalski, R., & Andrieu, J.(2010). Effect of ultrasonically induced nucleation on ice crystals' size and shape during freezing in vials. *Chemical Engineering Science*, 65, 3064-3071.
- Salmi, B., Trefan, L., Bünger L., Doeschl-Wilson A., Bidanel J.P., Terlouw C. & C. Larzul C. (2012). Bayesian meta-analysis of the effect of fasting, transport and lairage times on four attributes of pork meat quality. *Meat Science*, 90, 584-598
- Sañudo, C., (1992). La calidad organoléptica de la carne con especial referencia a la especie ovina: factores que la determinan, metodos de medida y causas de variación. Curso Internacional de Producción Ovina. SIA, Zaragoza.
- Sañudo, C. (1993). Calidad organoleptica de la carne. En: Tecnología y calidad de los productos carnicos. Ponencias del curso celebrado en Pamplona. Gobierno de Navarra. Departamento de Agricultura, Ganaderia y Montes.
- Sañudo, C., (1998). Analisis Sensorial de la Carne. Apuntes del curso: Requisitos de calidad de la canal y de la carne de rumiantes para su comercializacion. Impartido por Centre International de hautes etudes agronomiques mediterraneennes (CIHEAM) en el Instituto Agronomico Mediterraneo de Zaragoza.
- Sañudo, C., Sanchez A., Alfonso M., (1998). Small ruminant production systems and factors affecting lamb meat quality. *Meat Science* 49 (1), 29-64.

- Sañudo, C., y Sierra, I. (1982). Estudio de la calidad de la canal y de la carne en animales cruzados Romanov x Rasa Aragonesa. I. Descripción y comparación entre los tipos de ternasco y pascual. *An. Fac. Vet. Zaragoza* 16-17, 285-295.
- Sañudo, C., Sierra, I. Lopez, M. y Forcada, F. (1986) La qualité de la viande ovine. étude des différents facteurs qui la conditionnent. In Commission des C.E. Rapport EUR 11479, pp. 67-81.
- Sañudo, C., Macie, E.,S., Olleta, J.,L., Villarroel, M., Panea, B., and Alberti, P. ,(2004). The effects of slaughter weight, breed type and ageing time on beef meat quality using two different texture devices. *Meat Science*, 66, 925-932.
- Sañudo, C., Monson, F., Campo, M.,M., Beltran, J.,A., & Bello, J.,M., (2005). pH variability in commercial lamb carcasses. *XI Jornadas sobre Produccion Animal, Zaragoza, Spain, 11-12 Mayo, 2005* Volúmenes I and II: 703-705.
- Sañudo, C., Olleta, J.,L., Campo, M.,M., Alfonso, M., & Panea, B. (2001). Propuesta de muestreo. En: Monografías INIA: Ganadera N.1. Metodología para el Estudio de la Calidad de la Canal y de la Carne de Rumiantes pp. 139-144. MCyT- INIA, Madrid, España.
- Savage, A., W., Warris, P., D., & Jolley, P., D. (1990). The amount and composition of the proteins in drip from stored pig meat. *Meat Science*, 27, 289–303.
- Savell, J., W. ,Mueller, S., L., & Baird, B., E. ,(2005). The chilling of carcasses. *Meat Science*, 70(3), 449–459.
- Savell, J.,W., & Shackelford S., D.,. (1992). *Post-mortem* Degradation of muscle protein “Significance of tenderness to the meat industry”. Reciprocal Meat Conference Proceedings. 45: 44, 45.
- Sayre, R.,N., Briskey, E.,J., & Hoekstra, W.,G., (1963). Comparison of muscle characteristics and post-mortem glycolysis in three breeds of swine. *J. Anim. Sci.* 22: 1012-1020.
- Schafer, A., Henkel, P. & Purslow, P.P. (2000). Impedance and pH development in pork with different slaughter treatment and its relation to driploss. In: Proceedings of

the 46th *International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST)*, p 406- 407.

Schafer, A., Rosenvold, K., Purslow, P., P. ,Andersen, H., J., & Henckel, P. (2002). Physiological and structural events *post-mortem* of importance for drip loss in pork. *Meat Science*, 61(4),355-366.

Schimmer, O., Osen, R., Schönfeld K. ,Hemmy, B. (2009). Detection of added Water in Seafood using a Dielectric Time Domain Reflectometer. In: Proceedings, 8th International conference on Electromagnetic Wave Interaction with Water and Moist Substances, ISEMA, Espoo, Finland, 350-357.

Schmitt, F., K.,H., Shepers, H., Jungst, W. REUL, y Festerling, A., (1984). Fleischqualitätbeimschwein. Untersuchungenzuderenerfassung. *Fleischwirtsch* 64, 238-242.

Schubring, R., Meyer, C., Schlüter, O., Boguslawski, S. & Knorr, D. (2003). Impact of high pressure assisted thawing on the quality of fillets from various fish species. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 3, 257–267.

Schwartzkopf-Genswein, K.,S., Faucitano,L., Dadgar,S., Shand,P.,González,L. & Rowe T.G.(2012). Road transport of cattle, swine and poultry in North America and its impact on animal welfare, carcass and meat quality: A review. *Meat Science* 92 (227–243).

Seideman, S.,C., Cross, H.,R., Smith, C.,G., & Durland, P.,R. (1984). Factors associated with fresh meat color: A review. *Journal Food Quaterly*, 6, 211- 237.

Sellier, P., (1988). Aspects génétiques des qualitté's technologiques et organoleptiques de la viande chez le porc. *Journée de la Recherche Porcine en France*, 20 , 227-242

Sepulveda, W., Maza, M.,T., Mantecon, A.,R. ,(2008). Factors that affect and motivate the purchase of quality labeled beef in Spain. *Meat Science* 80, 1282-1289.

Seyfert, M., Mancini, R.,A., Hunt, M.,C., Tang, J., Faustman, C. (2007). Influence of carbon monoxide in package atmospheres containing oxygen on color, reducing activity, and oxygen consumption of five bovine muscles. *Meat Science* 75:432–42.

- Shackelford, S.,D., Koohmaraie, M., Whipple, G., Wheeler, M., Miller, M.,F. ,Crouse, J.D., & Reagan, J.O. (1991). Predictors of beef tenderness: development and verification. *Journal Food Science*, 56, 1130-1136.
- Sheen, N.,I., & Woodhead, I.,M., (1999). An open ended coaxial probe for broad-band permittivity measurement of agricultural products. *Journal of Agricultural Engineering Research* 74 (2), 193–202.
- Shiinoki, Y., Motouri, Y., Ito, K., (1998). On-line monitoring of moisture and salt contents by the microwave transmission method in a continuous salted butter making process. *Journal of Food Engineering* 38 (2), 153-167.
- Shukla, T.,R. ,& Anantheswaran, R.,C., (2001). Ingredient interactions and product development for microwave heating. En A.K. Datta y R.C. Anantheswaran (Eds.), *Handbook of microwave technology for food applications* (pp. 355-397). Marcel Decker Inc, Nueva York.
- Simek, J., Vorlova, L. Malota, L. Steinhauserova, I. Steinhauser, L. (2003). *Post-mortem* changes of pH value and lactic acid content in the muscles of pigs and bulls. *Czech Journal of Animal Science - UZPI* (Czech Republic), 48, 295-299.
- Simeonova, M. & Gimsa, J. (2005). Dielectric anisotropy, volume potential anomalies and the persistent Maxwellian equivalent body. *J. Phys.Condens. Matter*, 17, 7817-7831.
- Sipahioglu, O., Barringer, S.,A., Taub, I. ,& Yang, A.P.P. (2003b). Characterization and modeling of dielectric properties of turkey meat. *Journal of Food Science*, 68(2), 521-527.
- Sipahioglu, O., Barringer, S.,A., Taub, I. & Prakash, A. (2003a). Modeling the dielectric properties of ham as a function of temperature and composition. *Journal of Food Science*, 68(3), 904-909.
- Smith, G., C., Spaeth, C. W. Carpenter, Z. L. King, G. T. & Hoke, K. E. (1968). The effects of freezing, frozen storage conditions and degree of doneness on lamb palatability characteristics. *Journal of Food Science*, 33(1), 19–24.

- Smith, G., Duffy, A.,P. ,Shen, J. ,Olliff, C.,J. (1995). Dielectric relaxation spectroscopy and some applications in the pharmaceutical sciences. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 84 (9), 1029–1044.
- Smith, G.,C., J.,D. Tatum, y Morgan,J.,B., (1999). Reducing the incidence of dark-cutting beef. En *Beef Cattle Handbook* 4350: 1-3.
- Solís Rojas. (2005). Manual de prácticas de tecnología de carnes. Departamento académico de ciencia y tecnología de alimentos, Facultad de ingeniería en industria alimentaria. Universidad nacional del centro del Perú.
- Sornay, J. Legras, P. (1978). Cartographie du pH dans les carcasses de gros bovin. *Ind. Alim. Agric.* Mali, pp: 392-396.
- Sosa-Morales, M.E. Valerio-Junco, L. López-Malo, A. García, H.S. (2010). Dielectric properties of foods: Reported data in the 21st Century and their potential applications. *Food Science and Technology* 43: 1169-1179.
- Spanier, A. M. (1992). Current approaches to the study of meat flavour quality. *Developments in Food Science*, 29, 695–709.
- Special Eurobarometer 270/Wave 66.1, Brussels, Belgium, (2007). *Science Food. Agric.* 9:721. NACAMEH Vol. 7, No. 2, pp. 41-64, 2013,62.
- Speer, N.C. Slack, G. Troter, E. (2001). Economic factors associated with livestock transportation. *Journal Animal Science, Champaign*, v.79, p.166- 170.
- Splittstoesser, D. Wettergreen, W. y Pederson, C.(1961). “Control of microorganisms during preparation of vegetables. *Food Technol.*15, 329-331.
- Stalder, K.J. Maya, J. Christian, L.L. Moeller, S.J. & Prusa, K.J. (1998). Effects of preslaughter management on the quality of carcasses from porcine stress syndrome heterozygous market hogs. *J. Anim. Sci.* 76: 2435-2443.
- Steffolani, M., Ribotta, P., Perez, G., Puppo, M., & Leon, A. (2011). Use of enzymes to minimize dough freezing damage. *Food and Bioprocess Technology*,1-14.

- Stetzer, A.,J., & McKeith F.,K., (2003). Quantitative strategies and opportunities to improve pork quality. In: Benchmarking value in the pork supply chain. *American Meat Science Association, Savoy, IL*. Pg. 1-6.
- Stewart, J. y Moodie, E.W. 1956. The absorption of magnesium from the alimentary tract of sheep. *Journal Comparative Pathology*, 66(1),10-21.
- Streit, F. Corrieu, G. & Beal, C. (2010). Effect of centrifugation conditions on the cryotolerance of lactobacillus bulgaricus cfl1. *Food and Bioprocess Technology*, 3, 36-42.
- Sun, D.-W. & Zheng, L. (2006). Innovations in freezing process. En D. W. Sun (Ed.), *Handbook of frozen food processing and packaging*. Boca Raton, Fla./London: CRC/Taylor & Francis.
- Suslick, K. S. (1988). "Homogeneous Sonochemistry" En *Ultrasound: Its Chemical, Physical and Biological Effects*; Suslick, K. S., ed.; VCH Publishers: New York,;pp. 123-164.
- Swan, M.V.L. Russell, S.L. Clarke, R.N. y Swan, M.J. (2004). The development of food stimulants for microwave oven testing. *International Journal of Food Science and Technology*. 39:623-630.
- Swatland, H. (2003). Evaluación de la carne en la cadena de producción. España: Ed. Acribia, S.A. 333 pp.
- Swatland, H. J. (1991). Evolution of probe designs to measure connective-tissue fluorescence in beef. *Food Research International*, 26, 271-276.
- Swatland, H. J. (1990). Estructura y desarrollo de animales de abasto. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 159-205. ISBN-10: 8420006912
- Swatland, H.J. & Findlay, C.J. (1997). On-line probe prediction of beef toughness, correlating sensory evaluation with fluorescence detection of connective tissue and dynamic analysis of overall toughness. *Food Qual. Pref.*, 8(3), 233-239.
- Swatland,H.J. (1982). Fiber optic spectrophotometry and the wetness of meat. *Journal of Food Science*, 47, 1940-1954.

- Swatland, H.J. (1984). Optical characteristics of natural iridescence in meat. *Journal of Food Science*, 49, 685-686.
- Tang, X. Cronin, D. A. & Brunton, N. P. (2005). The effect of radio frequency heating on chemical, physical and sensory aspects of quality in turkey breast rolls. *Food Chemistry*, 93, 1-7.
- Taoukis, P. Davis, E. A. Davis, H. T. Gordon, J. & Takmon, Y. (1987). Mathematical modelling of microwave thawing by the modified isotherm migration method. *Journal of Food Science*, 52(2), 455-463.
- Tarrant, P.V. (1989). The effects of handling, transport, slaughter and chilling on meat quality and yield in pigs a review. *Ir. J. Food Sci. Technol.* 13, 79- 107.
- Tarrant, P.V. (1989). Animal behaviour and environment in the dark-cutting condition in beef- a review. *Ir. J. Food Sci. Technol.* 13, 1-21.
- Teramoto, A. & Fuchigami, M. (2000). Changes in temperature texture and structure of konnyaku (konjac glucomannan gel) during highpressure-freezing. *Journal of Food Science*, 65(3), 491-497.
- Terlouw C. (2005). Stress reactions at slaughter and meat quality in pigs: genetic background and prior experience. A brief review of recent findings. *Livestock Production Science*, 94, 125-135.
- Tikk, K., Tikk, M., Aaslyng, M.D., Karlsson, A.H., Lindahl, G. & Andersen, H.J. (2007). "Significance of fat supplemented diets on pork quality- Connections between specific fatty acids and sensory attributes of pork", *Meat Science*, 77, 275-286.
- Toldrá, F. & Flores, M. (2000). The use of muscle enzymes as predictors of pork meat quality. *Food Chemistry*, 69, 387-395.
- Tong, C. H. Lentz, R. R. & Lund, D. B. (1993). A microwave oven with variable continuous power and a feedback temperature controller. *Biotechnology Progress*, 9, 488-496.

- Traore , S.L. Aubry, P. Gatellier, W. Przybylski, D. Jaworska , K. Kajak-Siemaszko, V. Santé-Lhoutellier, (2012). Higher drip loss is associated with protein oxidation. *Meat Science*, 90, 917–924.
- Tressler, D. K. Van Arsdel, W. B. & Copley, M. J. (1968). *The freezing preservation of foods*. Avi Publishing Company, Westport, Conn. USA.
- Troeger, K., & Woltersdorf, W. (1989). Measuring stress in pigs during slaughter. *Fleischwirtschaft*, 69, 373-376.
- Tsai, R., Cassens, R.G., and Brisky, E.J. (1972). The emulsifying properties of purified muscle proteins. *Journal of Food Science*, 37, 286-288.
- Uemura, J., Miyahara, M., & Matsumoto, T., (2005). Effect of electric field on the defrosting rate of frozen pork . En *Collage of Bioresource Science*. Nihon University, Knagawa. Japan.
- Van de Water, G. Verjans, F. Geers, R.(2003). The effects of short distance transport under commercial condition on the physiology of slaughter calves; pH and color profile of veals. *Livestock production Science*, 82, 171-179.
- Van Dyke, D. Wang, DIC & Goldblith, S.A. (1969). Dielectric loss factor of reconstituted ground beef: the effect of chemical composition. *Food Technology*, 23, 84-86.
- Van Laack R. (1996). The relationship between color and water-holding-capacity of pork: the case of RSE. *Meat Focus International* 5(12), 438-439.
- Van Laack R, Solomon MB, Warner R, & Kauffman RG. (1996). A comparison of procedures for measurements of pigment concentration in pork. *J. Muscle Foods* 7, 149-163.
- Van Laack, R. L. J. M. & Smulders, F. J. M.(1992). On the assessment of water holding capacity of hot vs cold boned pork. *Meat Science*, 32,139-147.
- Van Oeckel M.J. (2003). Warnants N. Variation of the sensory quality within the M. longissimus thoracis et lumborum of PSE and normal pork. *Meat Science*, 63, 293-299.

- Van Oeckel, M. J. Warnants, N. Boucque, Ch.V. Delputte, P. & Depuydt, J. (2001). The preference of the consumer for pork from homozygous or heterozygous halothane negative animal. *Meat Science*, 58, 247–251.
- Vázquez, R. L. & Vanaclocha, A. C. (2004). *Tecnología de Mataderos*. Colección tecnología de Alimentos. Ediciones Mundi-prensa Libros, S. A. Madrid España. 186 paginas.
- Velarde, A. Gispert, M. Faucitano, L. Alonso, P. Manteca, X. and Diestre, A. (2001). Effects of the stunning procedure and the halothane genotype on meat quality and incidence of haemorrhages in pigs. *Meat Science* 58, 313–319.
- Velarde A, Gispert M, Faucitano L, Manteca X. & Diestre A. (2000). The effect of stunning method on the incidence of PSE meat and haemorrhages in pork carcasses. *Meat Science*, 55, 309-314.
- Velarde, A., Cruz, J., Gispert, M., Carrión, D., Ruiz de la Torre, J., L. & Diestre, A., (2007). Aversion to carbon dioxide stunning in pigs: Effect of carbon dioxide concentration and halothane genotype. *Animal Welfare*, 16, 513–522.
- Velarde, A., M., Gispert, L., Faucitano, X., Manteca, & A., Diestre (2000a). Survey of the efficiency of stunning procedures carried out in Spanish pig abattoirs. *The Veterinary Record*, 146, 65-68.
- Velarde, A. M. Gispert, L. Faucitano, X. Manteca, & A. Diestre (2000b). The effect of stunning method on the incidence of PSE meat and hemorrhages in pork carcasses. *Meat Science*, 55(3), 309-315.
- Venkatesh, M.S. & Raghavan, G.S.V. (2004). An overview of dielectric properties measuring techniques. *Canadian Biosystems Engineering*, 47(7), 15-29.
- Verbeke, W. (2011). Consumer attitudes and communication challenges for agro-food technologies. *Agro Food Industry Hi-Tech*, 22(5), 34–36.
- Villarroel, M., Maria, G.,A., Sañudo, C., Olleta, J.,L. & Gebresenbet, G., (2003).Effect of transport time on sensorial aspects of beef meat quality. *Meat Science* 63, 353-357.

- Virtanen, A., J., Goedecken, D., L., & Tong, C., H., (1997). Microwave assisted thawing of model frozen foods using feed-back temperature control and surface cooling. *Journal of Food Science*, 62(1), 150–154.
- Vogel, K.,D., (2010). Head only followed by cardiac arrest electrical stunning is an effective alternative to head only electrical stunning in pigs. *Meat Science*. 89, 1412-1418.
- Von Hippel. A.,R., (1954). *Dielectric Materials and Applications*. MIT Press, Cambridge, Massachusetts. ISBN-13: 978-1580531238
- Von Seggern, D.,D., Calkins., C.,R., Johnson, D.,D., Brickler, J.,E. & Gwartney, B.,L., (2005). Muscle profiling: characterizing the muscles of the beef chuck and round. *Meat Science*, 71, 39–51.
- Wagner, J., R., & Anon, M., C., (1985).Effect of freezing rate on the denaturation of myofibrillar proteins. *Journal of Food Technology*, 20, 735-744.
- Wang, S., Monzon., M., Gazit., Y., Tang, J., Mitcham, E.,J., & Armstrong, J.,W.,(2005). Temperature-dependent dielectric properties of selected subtropical and tropical fruit and associated insect pests. *Transactions of the ASAE* 48 (5), 1873–1881.
- Warner, R., D., Ferguson, D., M., Cottrell, J., J., & Knee, B., (2007). Acute stress induced by the use of electric prodders pre-slaughter causes tougher beef meat. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 47, 782–788.
- Warner, R., D., Greenwood, P., L., Pethick, D., W., & Ferguson, D., M., (2010). Genetic and environmental effects on meat quality. *Meat Science*, 86, 171–183.
- Warner, R., D., Kauffman, R., G., & Greaser, M., L., (1997). Muscle protein changes post mortem in relation to pork quality traits. *Meat Science*. 45, 339-352.
- Warner, R., D., Kearney, G., A., Thompson, J., M., & Polkinghorne, R., (2009). Rigor temperature influences objective and consumer quality traits of beef striploin. *International Congress of Meat Science and Technology, Copenhagen, Denmark*, 55, PE7.44.

- Warner, R., Cotrell, J., D'Souza, N., Kerr, M., Bond, J., (2002). The effect of time off water pre-slaughter on lamb meat quality , The 48th International Congress of Meat Science and Technology, pp. 368–369.
- Warner, R.,D., Bond, J.,J., Kerr, M.,G., (2000). Meat quality traits in lamb M. *Longissimus thoracis et lumborum*: The effect of pre-slaughter stress and electrical stimulation The 46th International Congress of Meat Science and Technology, pp. 154–155.
- Warner, R.,D., Ferguson, D.,M., McDonagh., M.,B., Channon., H.,A., Cottrell, J.,J., Dunshea, F.,R., (2005). Acute exercise stress and electrical stimulation influence the consumer perception of sheep meat eating quality and objective quality traits. *Aust. J. Exp. Agric.* 45, 553–560.
- Warner, R.,D., Greenwood, P.,L., Pethick, D.,W., Ferguson, D.,M., (2000). Genetic and environmental effects on meat quality, *Meat Science*, 86, 171-183.
- Warriss, P.,D., Brown, S.,N., & Adams, S.,J.,M., (1990). Variation in heam pigment concentration and color in meat from British pigs. *Meat Science*. 28:321- 329.
- Warriss, P., D., Bevis, E., A., & Ekins, P., J., (1989). The relationships between glycogen stores and muscle ultimate pH in commercially slaughtered pigs. *British Veterinary Journal*, 145, 378–383.
- Warriss, P.,D., (1984). Exsanguination of animals at slaughter and the residual blood content of meat. *Veterinary Record*, 115, 292-295.
- Warriss, P.,D., (1990). The handling of cattle pre-slaughter and its effects on carcass and meat quality. *Applied Animal Behavior Science* 28, 171-186.
- Warriss, P.,D., (1996). Insensibilización y sacrificio de animales. Informativo sobre carne y productos cárneos (UACH) 21, 47-58.
- Warriss, P.,D., (2000). *Meat Science: An Introductory Text*. Wallingford, Oxon, U.K. CABI Publishing. I.S.B.N.: 0 85199 424 5
- Warriss, P.,D., (2003). *Ciencia de la carne. Ed Acribia*, Tercera edición, S.A. I.S.B.N.: 978-84-200-1005-2, Zaragoza (España).pp.320.

- Wathen, B., Kuiper, M., Walker, V., & Jia, Z., C., (2004). New simulation model of multicomponent crystal growth and inhibition. *Chemistry-a European Journal*, 10, 1598-1605.
- Welfare Quality, (2009). *Welfare Quality assessment protocol for poultry (laying hens and poultry)*. En Welfare Quality Consortium, Lelystad. 110 pages. The Netherlands. ISBN/EAN 978-90-78240-06-8
- Wheeler, T.,L., & M., Koochmaraie. (1994). Pre rigor and post rigor changes in tenderness of ovine *longissimus* muscle. *Journal of Animal Science*. 72:1232-1238.
- Wilson, N., R., E., Dyett, R., Hughes & Jones, C., (1981). Meat and meat products, Factors affecting quality control. *Applied Science Publishers*, London. 1-18.
- Wilson, A., B., (1991). Chapter8: Microstructural methods for examining frozen foods. En *Food Freezing, Today and Tomorrow*. Editor, W.B. Bald, Springer Series in Applied Biology, ISBN 978-1-4471-3448-0
- Wimmers, K., & Murani, E.,& Ngu, N.,T.,& Schellander, K.,& Ponsuksili, S.,(2007). "Structural and functional genomics to elucidate the genetic background of microstructural and biophysical muscle properties in the pig" *Journal of Animal Breeding and Genetics*, vol. 124, p.27-34.
- Woltersdorf, W., & Troeger K. (1990). Técnicas para reducir el porcentaje de carnes PSE en cerdos. *Fleischwirtsch, Español*, 2, 9-15.
- Wulf , M.,D., & J.,W., Wise (1999). Measuring muscle color on beef carcasses using the L* a* b* color space. *Journal of Animal Science*, 77, 2418-2427.
- Xiangli, H., Rui Liu, Satoru, B., Zheng D., & Liu H. (2013). Effect of high voltage electrostatic field treatment on thawing characteristics and post-thawing quality of frozen pork tenderloin. *Meat Science*, 115, 245–250.
- Yang, D., S., C., Sax, M., Chakrabartty, A., & Hew, C., L., (1988). Crystal- Structure of an Antifreeze Polypeptide and its Mechanistic Implications. *Nature*, 333, 232-237.

- Zaritzky, N., (2006). Physical-chemical principles in freezing. In D.W. Sun (Ed.), *Handbook of frozen food packaging and processing*. Boca Raton, FL: Taylor & Francis.
- Zelent, B., & Vanderkooi, J., M., (2009). Infrared spectroscopy used to study ice formation: the effect of trehalose, maltose, and glucose on melting. *Analytical Biochemistry*, 390, 215-217.
- Zhang, L., Lyng, J., G., & Brunton, N., P., (2004). Effect of radio frequency cooking on the texture, colour and sensory properties of a large diameter communitied meat product. *Meat Science*, 68(2), 257–268.
- Zhao, Y., Fores A. & Olson D.G. (1998). High hydrostatic pressure effects on rapid thawing of frozen beef. *Journal of Food Science*. 63(2): 272–275.
- Zhu, S., M., Ramaswamy, H., S., & Le Bail, A., (2005). Ice-crystal formation in gelatin gel during pressure shift versus conventional freezing. *Journal of Food Engineering*, 66, 69-76.
- Zhu, S., Le Bail, A., Ramaswamy, H., S., & Chapleau, N., (2004). Characterization of ice crystals in pork muscle formed by pressureshift freezing as compared with classical freezing methods. *Journal of Food Science*, 69, 190-197.
- Zimerman, M., (2007). pH de la carne y factores que lo afectan. En: *Aspectos estratégicos para obtener carne ovina de calidad en el cono sur americano*. Capítulo 11. p. 141-152.

Sitios Web

Documento	Pagina Web	Consultado
Stratosphere: Southern Hemisphere Ozone hole size	http://www.cpc.ncep.noaa.gov/products/stratosphere/sbuv2to/ozone_hole.shtml	18/11/2013
QPorkchain,e-learning, Fundamentals of Water Holding Capacity (WHC) of Meat 2011	http://qpc.adm.slu.se/6_Fundamentals_of_WHC/	15/05/2012
Congelacion de los alimentos	Is Frozen Food Safe?	11/03/2014

