

Universidad Pública de Navarra

Nafarroako Unibertsitate Publikoa

ESCUELA TÉCNICA SUPERIOR
DE INGENIEROS AGRÓNOMOS

NEKAZARITZAKO INGENIARIEN
GOI MAILAKO ESKOLA TEKNIKOA

APLICACIÓN DE LA ESPECTROSCOPIA DE
INFRARROJO MEDIO PARA LA DETERMINACIÓN DE
LA TEXTURA EN MUESTRAS DE CARNE
PERTENECIENTES A LA INDICACIÓN GEOGRÁFICA
PROTEGIDA (IGP) TERNERA DE NAVARRA



presentado por

MARÍA LOZANO SAIZ

MÁSTER EN TECNOLOGÍA Y CALIDAD EN LAS INDUSTRIAS
AGROALIMENTARIAS

Febrero, 2015/ *2015ko Otsaila*

D. Jesús Echeverría Morrás, Catedrático de Química Inorgánica del Departamento de Química Aplicada de la Universidad Pública de Navarra y Dña. María José Beriain Apesteguía, Catedrática del Área de Nutrición y Bromatología del Departamento de Ciencias del Medio Natural de la Universidad Pública de Navarra.

CERTIFICAN QUE:

Dña. María Lozano Saiz ha realizado, bajo nuestra dirección, el trabajo final de máster titulado *“Aplicación de la espectroscopia de infrarrojo medio para la determinación de la textura en muestras de carne pertenecientes a la Indicación Geográfica Protegida (IGP) Ternera de Navarra”* para optar al título de Máster en Tecnología y Calidad en las Industrias Agroalimentarias.

Revisado el trabajo, consideramos que reúne las condiciones necesarias para su defensa por lo que autorizamos la presentación del mismo.

Pamplona, 4 de Febrero de 2015.

Fdo. Jesús Echeverría Morrás

Fdo. María José Beriain Apesteguía

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a las siguientes personas:

En primer lugar, a Jesús por seguir siendo mi tutor, ayudarme en todo momento y darme grandes consejos. Gracias por compartir tu sabiduría conmigo.

A mi codirectora María José, aunque realmente sigas siendo mi directora, por seguir confiando en mí después de dos años y creer que era capaz de llevar a cabo esta investigación. Gracias por la ayuda prestada.

Al equipo de “telecos”: a Miguel por mantener la ilusión en este proyecto y dejarme seguir usando su equipo; a Víctor, por la ayuda en la toma de datos en los momentos iniciales de la investigación; y en especial a Pablo, por la ayuda y por estar dispuesto a resolver mis problemas y dudas en todo momento.

A las chicas del laboratorio, Inma, Marta, y en especial a Edurne, por apoyarme cuando más lo necesitaba, darme ánimos y estar dispuesta a prestarme su ayuda en aquellos momentos en los que yo sola no podía con todo el trabajo.

A toda mi familia y en especial a mis padres, que me siguen apoyando incondicionalmente. Y a mi hermano, Diego, que aunque vivamos a muchos kilómetros de distancia siempre me da grandes consejos.

A mis “digestives girls” por las largas horas de trabajo juntas y los grandes momentos vividos durante este máster.

A todos mis amigos, a la gente con la que he coincidido durante estos años y a aquellos que ya no están por hacer posible que yo haya llegado hasta aquí.

MUCHAS GRACIAS A TODOS

Resumen

La necesidad de alcanzar altos niveles de calidad y seguridad durante la producción de alimentos requiere controles estrictos. La ternera es un parámetro clave dentro de los atributos sensoriales. Actualmente, se mide mediante análisis sensoriales o instrumentales. Estos métodos son complejos, destructivos y largos de realizar. Por ello, se investigan nuevas técnicas que no presenten estos inconvenientes. El objetivo de este trabajo es utilizar la espectroscopia FTIR-MIR como técnica alternativa de análisis de textura en carne, empleando muestras de la IGP Ternera de Navarra. Se realizaron análisis con espectroscopia FTIR-MIR y el test Lepetit. La ternera varió entre el día 4 y 6 de maduración, evolucionando hasta el día 11. Durante la validación, los modelos de predicción obtenidos poseen un R^2 inferior al 45 %. Mediante el empleo de ACP y análisis discriminante se clasifican correctamente las muestras en el punto inicial y final de maduración.

Palabras clave: Espectroscopia FTIR-MIR; Carne; IGP Ternera de Navarra; Textura; Modelos de predicción

Abstract

High standards in quality assurance and process control are required to fulfill the demand of high quality during food production. Tenderness is a key factor in the sensory attributes. At present, this characteristic is measured by sensorial and instrumental analysis. However, these methods are complex, destructive and time consuming. For that reason, searching for new methods is required. The main objective of this study was to use the FTIR-MIR spectroscopy as a new technique for the analysis of meat tenderness employing IGP Ternera de Navarra samples. They were analyzed by FTIR-MIR spectroscopy and Lepetit method. Tenderness changes between the 4th and 6th day of ageing, although it develops until the 11th day. During the validation process, the prediction models achieve a R^2 lower than 45 %. Using PCA and discriminant analysis, samples from the initial and final ageing day were correctly classified.

Keywords: FTIR-MIR spectroscopy; Meat; IGP Ternera de Navarra; Tenderness; Prediction models

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES	1
1. Indicación Geográfica Protegida (IGP) Ternera de Navarra.....	3
2. Características de la carne.....	5
2.1. Tejido muscular.....	5
2.2. Conversión del músculo en carne.....	9
2.3. Textura de la carne.....	14
2.3.1. Factores que influyen sobre la terneza de la carne.....	14
2.3.1.1. Factores intrínsecos.....	14
2.3.1.2. Factores extrínsecos.....	16
2.3.2. Métodos de mejora de la textura.....	17
2.3.2.1. Maduración.....	18
2.3.2.2. Estimulación eléctrica.....	19
2.3.2.3. Ciclos de congelación-descongelación.....	19
2.3.2.4. Técnicas de mejora de textura para carne procesada.....	20
3. Métodos de medida de la textura.....	21
3.1. Medidas instrumentales.....	21
3.2. Análisis sensorial.....	23
3.3. Métodos indirectos.....	24
3.4. Métodos alternativos y en desarrollo para la determinación de la textura.....	25
4. Espectroscopia de infrarrojo.....	26
4.1. Fundamentos.....	27
4.2. Instrumentación.....	28
4.2.1. Espectrofotómetros dispersivos de red.....	28
4.2.2. Instrumentos basados en la transformada de Fourier.....	30
4.3. Comparativa entre métodos FT-NIR y FT-MIR.....	33
5. Aplicaciones y perspectivas de futuro del empleo de espectroscopia MIR en la evaluación de la calidad de los alimentos.....	34
5.1. Determinación de la composición química de los alimentos.....	34

5.2. Detección de la presencia de bacterias en alimentos.....	36
5.3. Determinación de la autenticidad de los alimentos.	37
5.4. Determinación de las características de los alimentos en función del sistema de producción.....	38
5.5. Aplicaciones de la espectroscopia MIR en el análisis de muestras de carne. ...	39
CAPÍTULO II. OBJETIVOS.....	41
CAPÍTULO III. MATERIAL Y MÉTODOS.....	43
1. Diseño experimental.	44
2. Material animal.....	45
2.1. Recogida y conservación de las muestras.....	45
3. Análisis de las muestras.	47
3.1. Composición química de la carne.	47
3.1.1. Determinación de humedad.	48
3.1.2. Determinación del contenido en grasa.....	48
3.1.3. Determinación del contenido en proteína.	50
3.2. Determinación de la textura de las muestras.	51
3.3. Análisis de las muestras mediante espectroscopia FTIR-MIR.	53
4. Tratamiento estadístico de los datos.	54
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	56
1. Características de las canales y de la carne de los terneros.....	57
1.1. Características de los terneros y sus canales.	57
1.2. Características de la carne.....	59
1.2.1. Composición química.	59
1.2.2. Terneza de las muestras.	60
1.2.2.1. Evolución de la terneza de las muestras durante el proceso de maduración.	62
1.2.2.2. Análisis de la influencia de los factores animal y tiempo de maduración en la terneza de las muestras.....	64
2. Características espectrales de las muestras.	68
3. Estimación de la terneza de la carne a partir de los datos espectrales.	74

4. Empleo del Análisis de Componentes Principales (ACP) y análisis discriminante para la clasificación de las muestras en función del tiempo de maduración.....	77
4.1. Clasificación de las muestras del grupo A (4, 6, 11 y 18 días de maduración).	78
4.2. Clasificación de las muestras del grupo B (2, 9, 13 y 16 días de maduración)..	79
4.3. Clasificación de las muestras en el momento inicial y final de la maduración.	81
CAPÍTULO V. BIBLIOGRAFÍA	85

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Aplicación de espectroscopia MIR en productos cárnicos.	40
Tabla 2. Número de animales estudiados en cada punto de maduración (días transcurridos desde el sacrificio).	47
Tabla 3. Variables obtenidas en el análisis instrumental de la textura mediante el test de Lepetit.	52
Tabla 4. Media (χ), desviación típica (σ) y coeficiente de variación (CV) del peso vivo y edad al sacrificio de los terneros.	57
Tabla 5. Media (χ), desviación típica (σ) y coeficiente de variación (CV) de la composición química de las muestras.	60
Tabla 6. Media (χ), desviación típica (σ) y coeficiente de variación (CV) de los esfuerzos al 20, 80 y 100 % de compresión en los distintos días de maduración para las muestras del grupo A (4, 6, 11 y 18 días) y B (2, 9,13 y 16 días).....	62
Tabla 7. Significación de los principales efectos estudiados en el análisis de textura por compresión de las muestras del grupo A y B.....	65
Tabla 8. Evolución de las medias de las variables durante el período de maduración en las muestras del grupo A (4, 6, 11 y 18 días de maduración).....	66
Tabla 9. Evolución de las medias de las variables durante el período de maduración en las muestras del grupo B (2, 9, 13 y 16 días de maduración).	67
Tabla 10. Asociación de los números de onda con los grupos funcionales.	70
Tabla 11. Resultados de los modelos de predicción y validación optimizados para cada una de las variables analizadas.	75
Tabla 12. Resultados del análisis discriminante de las muestras del grupo A (4, 6, 11 y 18 días) empleando los números de onda entre 3200 y 2500 cm^{-1} y entre 2300 y 980 cm^{-1}	78
Tabla 13. Resultados del análisis discriminante de las muestras del grupo A (4, 6, 11 y 18 días) empleando los números de onda entre 1951 y 980 cm^{-1}	79
Tabla 14. Resultados del análisis discriminante de las muestras del grupo B (2, 9, 13 y 16 días) empleando los números de onda entre 3200 y 2500 cm^{-1} y entre 2300 y 980 cm^{-1}	80
Tabla 15. Resultados del análisis discriminante de las muestras del grupo B (2, 9, 13 y 16 días) empleando los números de onda entre 1951 y 980 cm^{-1}	80
Tabla 16. Resultados del análisis discriminante de las muestras de 4 y 18 días de maduración del grupo A empleando los números de onda entre 1951 y 980 cm^{-1}	81
Tabla 17. Resultados del análisis discriminante de las muestras de 2 y 16 días de maduración del grupo B empleando los números de onda entre 1951 y 980 cm^{-1}	83

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Sello identificativo de la carne perteneciente a la Indicación Geográfica Protegida Ternera de Navarra.....	3
Figura 2. Vaca y terneros de la raza Pirenaica.....	3
Figura 3. Estructura del tropocolágeno y de la formación del colágeno (Welsch & Sobotta, 2008).	6
Figura 4. Estructura del músculo estriado (García & de Torre, 1991).....	7
Figura 5. Organización estructural de una fibra muscular y una de sus miofibrillas (Alter, 2004).	9
Figura 6. Consecuencias del cese de la circulación sanguínea en el tejido muscular (Lawrie & Ledward, 2006)	10
Figura 7. Principales defectos que se producen por un inadecuado desarrollo del <i>rigor mortis</i>	14
Figura 8. Esquema de la sonda de corte Warner-Bratzler (McKenna & Kilcast, 2004)...	22
Figura 9. Esquema de la sonda penetrometría Lepetit (M. M. Campo, 2000).	23
Figura 10. Espectro electromagnético (Bruker).	26
Figura 11. Oscilaciones moleculares distintas de flexión (Higson & Balderas, 2007)....	28
Figura 12. disposición de los elementos en espectroscopia óptica de absorción (Willard, 1988).	29
Figura 13. Esquema interior de un espectrofotómetro basado en la transformada de Fourier (Bruker).	31
Figura 14. Interferograma de una fuente (derecha) y su espectro correspondiente (izquierda) (Bruker).	32
Figura 15. Dispositivo ATR (Skoog et al., 2008).....	33
Figura 16. Muestras envasadas en una bandeja de poliestireno expandido con sus correspondientes etiquetas identificativas.....	46
Figura 17. Muestras antes y después de separar los músculos no deseados para este estudio.....	46
Figura 18. Almacenamiento de las muestras durante la maduración.	47
Figura 19. Sistema para extracción de grasa.....	49
Figura 20. Texturómetro Texture Analyzer TA-XT2i (Stable Micro System, Reino Unido) (izquierda) y detalle de la sonda Lepetit empleada (derecha).	51
Figura 21. Equipo FTIR Vertex 80v.....	53
Figura 22. Accesorio ATR empleado.	54
Figura 23. Distribución porcentual del peso de los terneros.....	58

Figura 24. Distribución porcentual de la edad de los terneros en el momento del sacrificio.....	58
Figura 25. Gráfica de compresión característica obtenida con una muestra perteneciente al animal 1, transcurridos dos días desde el momento del sacrificio.....	61
Figura 26. Espectro FTIR medio de una muestra de carne del animal 2 en el día 13 de maduración con la asociación de los enlaces con las bandas de absorción.....	69
Figura 27. Espectros medios de los terneros del grupo A en los cuatro días de maduración analizados (4, 6, 11 y 18 días).	72
Figura 28. Espectros medios de los terneros del grupo B en los cuatro días de maduración analizados (2, 9, 13 y 16 días).	73
Figura 29. Puntuaciones de la función discriminante para las muestras del grupo A maduras durante 4 y 18 días.	82

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

La necesidad de alcanzar altos niveles de calidad y seguridad durante la producción de alimentos requiere controles estrictos, tanto durante todo el proceso de producción como durante el proceso de comercialización. Para llevar a cabo estos controles se necesitan técnicas de análisis que sean rápidas, fáciles de usar, no destructivas y además, posean un bajo coste (R. Karoui, Downey, & Blecker, 2010).

La Indicación Geográfica Protegida (IGP) Ternera de Navarra es una marca de reconocido prestigio debido a la elevada calidad de los productos que ofrece. Para mantener ese nivel, necesita controlar los atributos sensoriales de sus productos, entre los que se encuentran la apariencia, jugosidad, valor nutricional y textura. La textura es un atributo complejo formado por las características de ternera, elasticidad, masticabilidad, cohesividad y jugosidad, siendo la primera de ellas, el factor clave para alcanzar el grado de satisfacción deseado por los consumidores de productos cárnicos.

Actualmente, para evaluar la ternera de la carne se realizan análisis sensoriales mediante paneles de catadores o medidas instrumentales. Sin embargo, ambos análisis son métodos complejos, largos de realizar e implican la total destrucción de las muestras (Rahim, Ghazali, Sahlan, & Maidin, 2013). Por ello, se están investigando técnicas alternativas que no posean estos inconvenientes, entre las que se encuentra las técnicas de espectroscopia de infrarrojo medio (FTIR-MIR).

Este trabajo final de máster se encuentra dividido en cinco capítulos. El primero de ellos, antecedentes, realiza una introducción teórica al tema tratado. A su vez, este primer capítulo se estructura en cinco secciones. La primera de ellas, aborda las características que deben poseer el ganado y la carne obtenida a partir de él para que sea amparado por la IGP Ternera de Navarra. En el segundo apartado se describen las características del tejido muscular y cómo éste, tras el sacrificio del animal, se convierte en carne. En este apartado también se define el concepto de textura de la carne, los factores que influyen en ella y las técnicas que se pueden emplear para mejorarla. En el tercer apartado, se describen los tres tipos técnicas que se utilizan actualmente para determinar la textura de la carne, así como los métodos alternativos que se están investigando. En el cuarto apartado, se explican los conceptos básicos de la espectroscopia de infrarrojo medio (FTIR-MIR), que es la técnica empleada en este trabajo final de máster y con la que se quiere sustituir a las técnicas actuales de análisis de textura. En el cuarto y último apartado, se realiza una revisión bibliográfica de los estudios llevados a cabo con este tipo de espectroscopia en alimentos.

En el segundo y tercer capítulo de este trabajo se recogen los objetivos que se desean alcanzar, así como, el material y métodos empleados para ello. En el cuarto capítulo, se describen los resultados obtenidos mediante el análisis de las muestras. En ellos se recogen las características de ternera de las muestras de la IGP obtenidas mediante

medidas instrumentales; las características espectrales de las mismas; los resultados de la construcción de modelos de predicción que relacionan ambas medidas; y por último, el empleo de las medidas espectrales para la clasificación de las muestras en función del tiempo de maduración aplicado. Finalmente, el quinto capítulo recoge las conclusiones de este trabajo.

1. Indicación Geográfica Protegida (IGP) Ternera de Navarra.

La IGP Ternera de Navarra surgió en el año 1994 como Denominación de Calidad y obtuvo el reconocimiento de IGP en el año 2000 (Gómez & Iraizoz, 2003), por lo que recientemente ha celebrado su 20 aniversario. Esta IGP se rige por un Reglamento y Pliego de Condiciones propios (BON108/2000) donde se recogen los requisitos que deben cumplir los animales para que su carne pueda ser etiquetada con este sello de calidad. En la Figura 1 se muestra el sello identificativo de la carne perteneciente a esta IGP.

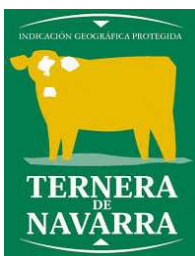


Figura 1. Sello identificativo de la carne perteneciente a la Indicación Geográfica Protegida Ternera de Navarra.

En esta marca de calidad solo se admite la carne procedente de terneros machos y hembras de las razas Pirenaica, Blonde de Aquitania, Pardo Alpina, Charolais, y los cruces entre sí. No obstante, pese a que se permite la producción de diferentes razas bovinas, el 90 % de la carne con este sello de calidad pertenece a la raza Pirenaica (Figura 2).



Figura 2. Vaca y terneros de la raza Pirenaica.

La producción, crianza y cebo del ganado amparado por esta IGP está permitida en el 95,97 % de la superficie total de la Comunidad Foral de Navarra, quedando excluidos los siguientes municipios: Valtierra, Arguedas, Castejón, Corella, Fitero, Cintruénigo, Tudela, Murchante, Cascante, Tulebras, Monteagudo, Barillas, Ablitas, Fontellas, Cabanillas, Ribaforada, Fustiñana, Buñuel y Cortes. Todos ellos pertenecientes a la comarca de la Ribera Baja.

La alimentación que debe seguir el ganado debe adaptarse a las normas tradicionales de aprovechamiento de los pastos en Navarra, siendo obligatorio el amamantamiento de los terneros como mínimo hasta los cuatro meses de edad. Después del destete, el cebo de los terneros se realizará en base a cereales, leguminosas y alimentos concentrado autorizados por el Consejo Regulador. En el caso de las vacas nodrizas, durante la lactancia podrán recibir, además del pasto natural, alimentación suplementaria compuesta por productos naturales o alimentos concentrados que hayan sido autorizados. En ambos casos, queda expresamente prohibido el empleo de productos que puedan interferir en el ritmo normal de crecimiento y desarrollo del animal, así como el de derivados animales reciclados.

La edad de sacrificio para los terneros machos se fija entre los 9 y 13 meses de edad, mientras que para las hembras esta edad se fija entre los 8 y 12 meses. En ambos casos, el transporte hasta el matadero debe ser lo menos estresante posible para no perjudicar la calidad de la carne, quedando prohibido el uso de tranquilizantes. Tras el sacrificio y la inspección *post-mortem*, la carne debe permanecer en todo momento a una temperatura interna igual o inferior a 7 °C. Además, se establece que independientemente de las características de la canal, el período mínimo de maduración debe ser de siete días desde el momento del sacrificio.

Las características de la carne amparada por esta IGP se establecen en el Reglamento de la misma. En cuanto a la conformación, sólo serán admitidas las categorías S-E-U-R de la normativa europea (RD225/2008), definiéndose estas categorías de la siguiente forma:

- ✓ Clase S: todos los perfiles extremadamente convexos con un desarrollo muscular excepcional con dobles músculos, tipo culón.
- ✓ Clase E: todos los perfiles convexos o súper convexos con desarrollo muscular excepcional.
- ✓ Clase U: perfiles convexos en su conjunto, fuerte desarrollo muscular.
- ✓ Clase R: perfiles rectilíneos en su conjunto, con buen desarrollo muscular.

El estado de engrasamiento estará entre las clase 2 y 3 de la normativa europea (RD225/2008), definiéndose estas clases de la siguiente forma:

- ✓ Clase 2: poco cubierto. Grasa de cobertura inapreciable. El músculo es visible en casi toda la canal. Una ligera película de grasa recubre la parte superior y las costillas. Por la cara interna de la cavidad torácica, los músculos intercostales se aprecian perfectamente.
- ✓ Clase 3: cubierto. Una ligera capa de grasa se extiende por la parte superior y las costillas ocultando los músculos, quedando los de la espalda y de la pierna sin recubrir. Por la cara interna de la cavidad torácica, los músculos intercostales son aún visible. No hay o hay poca grasa en las costillas.

El color de la carne debe situarse entre los siguientes valores: 2, o rosa; 3, o rojo claro; 4, o rojo. Además, el pH de la carne transcurridas 24 horas desde el sacrificio debe tener un valor inferior a 6.

2. Características de la carne.

Según el Código Alimentario Español (1967), la carne se define como el producto alimenticio resultante de la transformación experimentada por el tejido muscular del animal a través de una serie concatenada de procesos fisicoquímicos y bioquímicos, que se desarrollan como consecuencia del sacrificio del animal. La canal es el cuerpo de los animales de abasto, una vez sacrificados, sangrados y desprovistos de las vísceras torácicas, abdominales y pelvianas, con los riñones, la piel, las patas y la cabeza o sin ellos (Hernandez & Lopez, 2010). Las canales están formadas por el tejido óseo, muscular y adiposo. El tejido muscular, bien sólo o acompañado parcialmente por el tejido adiposo, da origen a la carne. El tejido adiposo contribuye a exaltar el aroma y sabor de la carne (García & de Torre, 1991).

2.1. Tejido muscular.

El tejido muscular es un tejido muy diferenciado y altamente especializado, tanto morfológica como bioquímicamente, que produce energía química para convertirla en movimiento mecánico y trabajo (García & de Torre, 1991). Por lo general, está constituido por elementos que se asocian en haces o grupos de haces, todos ellos revestidos de tejido conectivo y, en ciertos casos, con infiltraciones de tipo graso (Hernandez & Lopez, 2010).

Sin embargo, aunque todos los músculos poseen la misma estructura básica, no todas las fibras musculares son idénticas. Existen diferentes clasificaciones del tipo de fibras musculares en función del criterio aplicado. Entre las más comunes, se encuentran las realizadas en función de la velocidad de contracción, determinada por la actividad ATPásica de la miosina, del metabolismo energético, o de las diferencias bioquímicas e

histológicas. Este último criterio es el más utilizado en la literatura y permite clasificar las fibras musculares en fibras rojas βR , que presentan contracción lenta y metabolismo oxidativo; fibras blancas αW , que exhiben contracción rápida y metabolismo glucolítico; y fibras rojas αR , que tienen contracción rápida y metabolismo intermedio.

De acuerdo con las proporciones alcanzadas en el músculo por cada uno de estos tipos de fibras, se suele hacer referencia a tres tipos de músculos. Los músculos rojos que están compuesto principalmente por fibras βR y αR , siendo por lo tanto, tanto de contracción rápida como de contracción lenta. Poseen una gran cantidad de mitocondrias, mioglobina y lípidos. En estas células, la energía se obtiene mediante el metabolismo aerobio que degrada la glucosa por la vía oxidativa, con participación del ciclo de Krebs y generación de moléculas de ATP. Generalmente son más coloreados por su abundante irrigación sanguínea y tienen un pH más elevado que los músculos blancos, así como una mejor capacidad de retención de agua. Los músculos blancos se encuentran integrados por una elevada proporción de fibras αW , lo que determina su contracción rápida. Son pobres en mitocondrias, mioglobina y lípidos. El catabolismo de la glucosa se lleva a cabo en estas células por vía anaerobia mediante glicólisis anaerobia formándose lactato en el proceso. Su longitud es la mitad de las anteriores y tiene poco riego sanguíneo lo que determina su color más claro.

Otra manera de clasificar los músculos es según su enervación, pudiendo distinguir los músculos lisos de contracción involuntaria y los músculos estriados de contracción voluntaria. Estos últimos, al ser observados al microscopio óptico, presentan el aspecto que da origen a su nombre y constituyen lo que se conoce como carne. Generalmente, son los responsables del movimiento y se fijan al tejido óseo, mediante aponeurosis y tendones (García & de Torre, 1991).

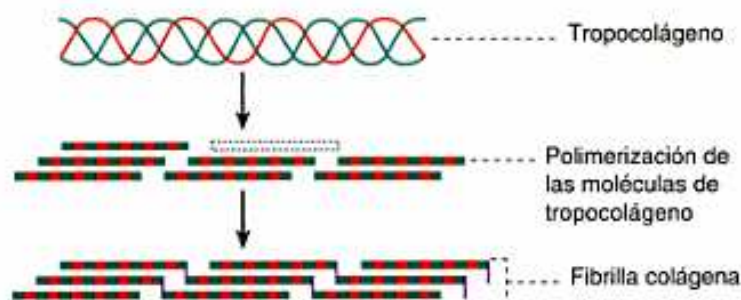


Figura 3. Estructura del tropocolágeno y de la formación del colágeno (Welsch & Sobotta, 2008).

Un componente importante del músculo estriado es el tejido conectivo porque es el encargado de envolver las diferentes estructuras que forman parte de él. El tejido conectivo está formado principalmente por colágeno (Figura 3). El colágeno es una molécula proteica cuya unidad fundamental es el tropocolágeno. El tropocolágeno está formado por tres cadenas polipeptídicas con una estructura en hélice formadas principalmente por los aminoácidos glicina, prolina e hidroxiprolina y unidas por enlaces muy fuertes. Las moléculas de tropocolágeno se asocian entre sí formando fibrillas orientadas todas en el mismo sentido, pero dislocadas 64 nm la una con relación a la otra, lo que explica su estructura cristalina, así como su rigidez y resistencia a la masticación. Además, cuanto mayor es la proporción de glicina, prolina e hidroxiprolina, más rígido y resistente es el colágeno (García & de Torre, 1991).

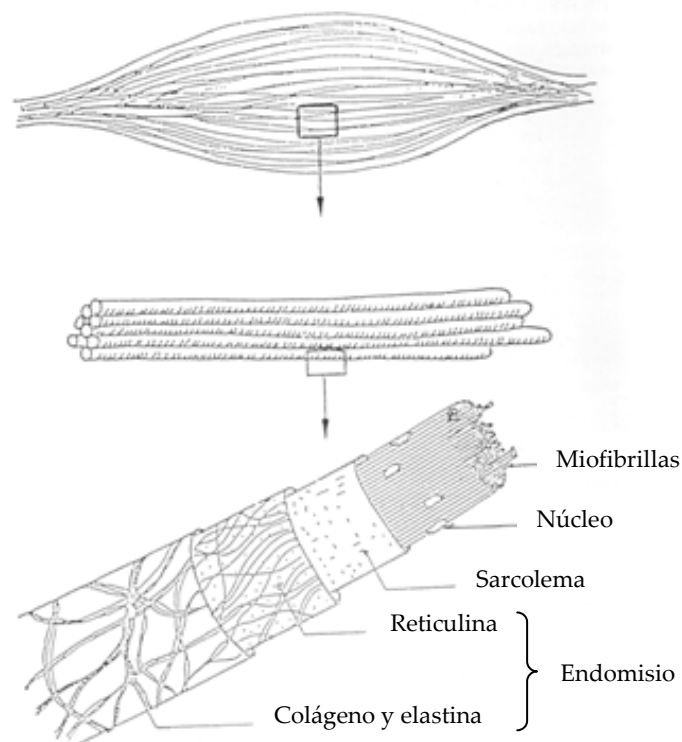


Figura 4. Estructura del músculo estriado (García & de Torre, 1991).

Tal y como se muestra en la Figura 4, la estructura del músculo estriado está definida por sucesivas capas de tejido conectivo (Warriss, 2010). La estructura del músculo desde el exterior hacia el interior del mismo es la siguiente. El epimisio, que es una capa relativamente gruesa de tejido conectivo, rodea al músculo entero. El músculo, a su vez, está subdividido en grupos de células o fibras que se encuentran rodeados cada uno de ellos por otra capa de tejido conectivo denominada perimisio. Y cada una de esas células musculares o fibras se encuentra a su vez rodeada por una fina capa de

tejido conectivo, el endomisio (Toldrá, 2010). Una fibra, a su vez, está formada por muchas miofibrillas paralelas, cada una de 1 μm diámetro aproximadamente. Las miofibrillas (polinucleadas, con ribosomas, complejos de Gogli, mitocondrias y lisosomas) están sumergidas en el sarcoplasma, que es el fluido intracelular. El sarcoplasma contiene glucógeno, ATP, fosfocreatina y enzimas glucolíticas. Todo ello constituye el combustible con el que el músculo opera (García & de Torre, 1991).

Las miofibrillas están compuestas principalmente por miosina y actina, junto con otras proteínas asociadas que se encuentran en menor cantidad. Todas estas proteínas en conjunto dan lugar a filamentos proteicos de diversa naturaleza, de los que básicamente se distinguen dos tipos principales: los gruesos, en los que predomina la miosina; y los delgados, principalmente formados por actina.

Estas miofibrillas se encuentran organizadas en bandas alternativas, presentando una estructura considerada como responsable del aspecto estriado tan característico del músculo esquelético. Cada filamento grueso, miosina, se encuentra rodeado por seis filamentos delgados, actina, formando una matriz hexagonal que, además, se acompaña de una estriaciones transversales motivadas por la alternancia regular de dos tipos de bandas (Figura 5). Las bandas oscuras anisótropas, denominadas bandas A que le aportan mayor oscuridad. Están formadas por filamentos gruesos cuyos extremos están más o menos solapados con los filamentos delgados. Su zona central, o zona H, está integrada exclusivamente por filamentos gruesos, al no existir en ella solapamientos con los filamentos delgados, por lo que resulta menos densa y aparece más clara. El tamaño de estas zonas H se considera un factor determinante de la capacidad del músculo para retener agua, al ser el espacio libre donde son retenidas dichas moléculas. Por otro lado se encuentran las bandas claras isótropas conocidas como bandas I, cuya escasa densidad les da la apariencia de menor oscuridad. Éstas presentan en su parte central una zona estrecha y muy densa denominada disco Z que es el lugar donde se juntan las bandas I (Hernandez & Lopez, 2010).

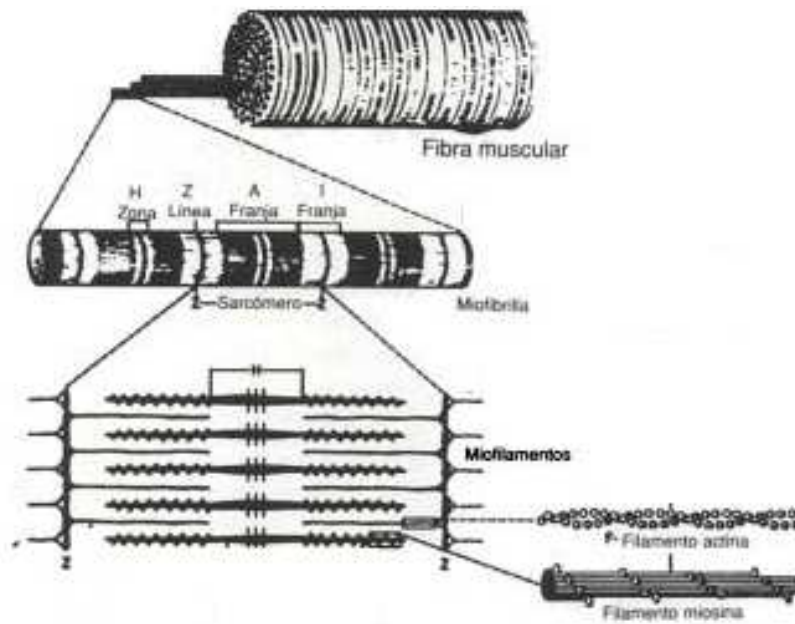


Figura 5. Organización estructural de una fibra muscular y una de sus miofibrillas (Alter, 2004).

2.2. Conversión del músculo en carne.

La conversión del tejido muscular en carne es un proceso complejo que desorganiza parcialmente el sistema contráctil muscular. En él participan principalmente dos tipos de mecanismos. En primer lugar, existen una serie de mecanismos fisicoquímicos que son controlados por la evolución del pH muscular, la temperatura del músculo y la presión osmótica de la masa muscular. Por otro lado, existen mecanismos bioquímicos de tipo enzimático capaces de hidrolizar enlaces peptídicos por medio de la actuación de las peptidasas.

En el momento del sacrificio del animal se produce el cese de la circulación sanguínea, lo que da lugar a cambios físicos en el tejido muscular que resultan relevantes porque afectan al color, textura, olor, y sabor de la carne obtenida. En este sentido, cabe hacer referencia principalmente a dos cambios que inciden sobre la textura de la carne: el desarrollo del fenómeno del *rigor mortis* y el acortamiento de los sarcómeros (Hernandez & Lopez, 2010). Sin embargo, durante un período de tiempo los diferentes tejidos del animal siguen funcionando con sus metabolismos característicos. Aunque el músculo no se contrae activamente, sigue empleando energía para mantener la temperatura y la integridad de las células frente a la tendencia natural a romperse (Lawrie & Ledward, 2006). En la Figura 6 se recogen los principales procesos que tienen lugar tras el cese de la circulación sanguínea.

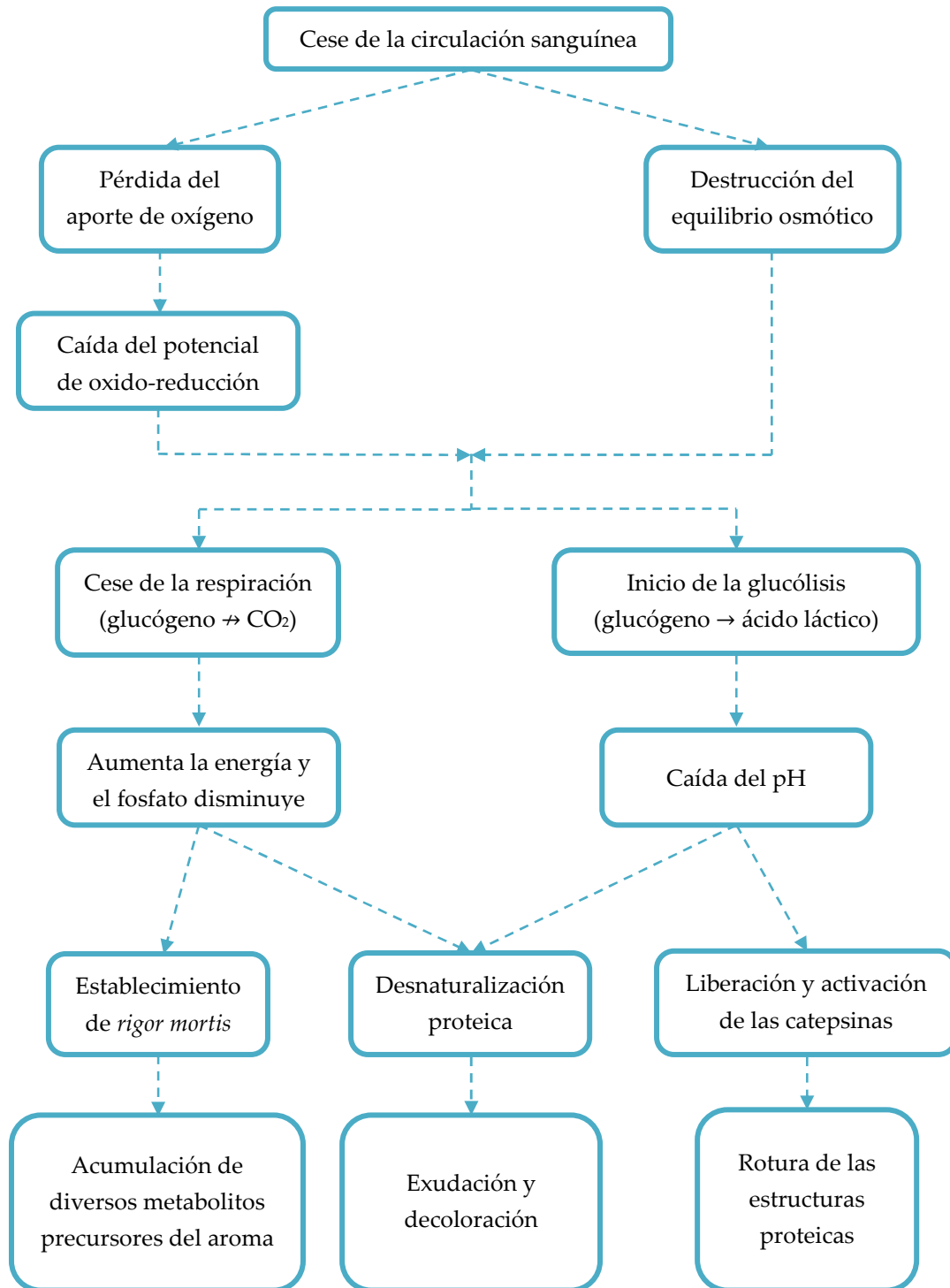


Figura 6. Consecuencias del cese de la circulación sanguínea en el tejido muscular (Lawrie & Ledward, 2006).

Debido a la interrupción de la circulación sanguínea, uno de los cambios inmediatos es el cese del aporte de oxígeno a los músculos, que produce una caída del potencial de oxido-reducción. Como consecuencia, el sistema enzimático del citocromo deja de

funcionar y no es posible resintetizar ATP. Sin embargo, el complejo ATPásico no contráctil de la miosina sigue funcionando, lo que da lugar a la formación de fosfato inorgánico que estimula la conversión del glucógeno en ácido láctico. El sistema de resíntesis de ATP a partir de la glucólisis anaerobia no es capaz de mantener el nivel necesario de esta sustancia, lo que produce la formación del complejo actiomiosina y el establecimiento del *rigor mortis* (Lawrie & Ledward, 2006). Su instauración conlleva la pérdida total de la extensibilidad de las fibras musculares, proporcionando al músculo una dureza considerable, tanto más acusada cuanto mayor sea el acortamiento de los sarcómeros (Hernandez & Lopez, 2010). A su vez, la pequeña disponibilidad de ATP también incrementa la dificultad para mantener la integridad estructural de las proteínas.

La reducción del pH debido a la acumulación de ácido láctico da lugar a procesos de desnaturalización. Normalmente estos procesos suelen ir acompañados por una pérdida de la capacidad de retención de agua. A su vez, la caída del pH produce que las proteínas de las miofibrillas se aproximen a su punto isoeléctrico. Ambos fenómenos dan lugar a procesos exudativos.

Así mismo, la desnaturalización de las proteínas sarcoplasmáticas también hace que éstas sean más susceptibles de ser atacadas por proteasas y catepsinas del músculo que, en condiciones *in vivo*, se encuentran inactivas debido a que se ubican en el interior de los lisosomas. Sin embargo, debido al debilitamiento de las membranas por la caída del pH, pasan a ser liberadas y activadas.

Por otro lado, la rotura de las proteínas a péptidos y aminoácidos, junto con la acumulación de diversos metabolitos procedentes principalmente de la glucólisis, da lugar a un medio rico para el crecimiento de bacterias. Sin embargo, este crecimiento se encuentra parcialmente inhibido por la caída del pH.

Otro aspecto importante de la pérdida de la circulación sanguínea es que se produce el cese del control hormonal en el metabolismo de los tejidos, lo que provoca un descenso de la temperatura y la solidificación de las grasas. Además, la tendencia de las grasas a la oxidación y enranciamiento se ve facilitada por la pérdida de la capacidad de la sangre para renovar el aporte de antioxidantes y por la acumulación de moléculas prooxidantes en los tejidos (Lawrie & Ledward, 2006).

No obstante, transcurrido el período de *rigor mortis*, el almacenamiento de la carne provoca una disminución de la dureza, rápida durante los primeros días y lenta a medida que continúa la maduración. Este debilitamiento es causado por el efecto de las enzimas proteolíticas activadas después de la muerte del animal (Garibay, Ramírez, &

Canales, 1993). Las principales enzimas implicadas en este proceso son las calpaínas, las catepsinas y el complejo proteinasa multicatalítico del proteosoma.

Las calpaínas se encuentran localizadas en la parte interior del sarcolema y son las encargadas de romper los complejos de actiomiosina (Hernandez & Lopez, 2010). Estas enzimas son activadas por el calcio, promoviendo el debilitamiento de las miofibrillas por la liberación de la alfa-actinina, así como por la degradación de las tropininas T e I y la proteína C, lo que provoca la desaparición de la línea Z de las miofibrillas. Se han identificado dos formas de calpaínas. La primera de ellas necesita concentraciones de calcio de entre 1 a 2 μM para alcanzar su máxima actividad, mientras que la otra requiere concentraciones de entre 50 a 100 μM . Debido a que los niveles de calcio en el músculo *post-mortem* no son tan elevados, solamente una de ellas suele encontrarse activa (Garibay et al., 1993).

Por otro lado, las catepsinas que se localizan en el interior de los lisosomas celulares, pueden actuar a diferentes niveles de pH y presentan siempre su óptimo en la zona ácida. Estas enzimas son liberadas durante el desarrollo del *rigor mortis* debido a la pérdida de funcionalidad de las bombas de iones de sus membranas.

Por último, el complejo proteinasa multicatalítico del proteosoma presenta su máxima actividad tanto durante la etapa de *rigor* como *post-rigor*, incluso cuando el pH aún es elevado. Este complejo, se encuentra en concentraciones elevadas en aquellos tipos de músculos que poseen metabolismos altamente oxidativos o mixto, es decir, tanto oxidativo como glucolítico (Hernandez & Lopez, 2010).

La acción de estas enzimas está influida por diversos factores. En primer lugar, debido a la acumulación de ácido láctico en el tejido muscular, el pH desciende rápidamente hasta valores finales de 5,5, lo que provoca la activación de las proteasas. A su vez, durante la glucólisis anaerobia, el potencial redox del músculo cae a niveles tales que provoca la estimulación de las proteasas con un centro activo de cisteína. La velocidad con la que desciende la temperatura de la canal, que depende de la temperatura ambiente y del tamaño de la misma, también afecta a la actividad enzimática. Si la canal es sometida a un enfriamiento rápido, la actividad enzimática es menor que si se somete a un enfriamiento lento, lo que provoca procesos de maduración más prolongados.

Existen diferentes procesos, todos ellos controlados por enzimas, que tienen lugar tras el establecimiento del *rigor mortis*. El primer cambio apreciable ocurre en la línea Z, que es degradada durante los primeros dos a tres días *post-mortem*, provocando un espaciamiento entre la línea Z y la banda I. Su velocidad de degradación varía de un tipo de fibra a otra. Las fibras blancas, cuyos discos Z son más estrechos, se degradan

más rápidamente que las fibras rojas, con discos Z dos veces más anchos que los de las fibras blancas. Como consecuencia de este debilitamiento, se presenta un mayor porcentaje de fracciones miofibrilares pequeñas, siendo el grado de fragmentación proporcional al nivel de maduración y a la suavidad de la carne.

Además, la disminución de la dureza durante la maduración está relacionada con la pérdida de la troponina T, lo que afecta a la unión de otros componentes como las troponinas I y C y la tropomiosina.

Por otro lado, también es conocido que parte de la dureza de la carne se debe a la presencia del tejido conectivo en las capas denominadas endomisio y perimisio. Esta dureza secundaria depende del contenido del colágeno que posea el músculo. Sin embargo, éste no contiene colagenasas en cantidades apreciables como para degradarlo aunque existen otras proteasas que pueden despolimerizarlo mediante la rotura de los enlaces existentes entre fibras adyacentes de colágeno. Esta rotura supone la desnaturalización de algunos monómeros de colágeno, lo que provoca su solubilización (Garibay et al., 1993).

Por último, si el proceso del *rigor* no tiene lugar en condiciones adecuadas, puede dar lugar a la aparición de defectos no deseados en la carne (Figura 7). Estos defectos principalmente son:

- ✓ Carnes ácidas. Presentan una evolución de pH considerado como normal, aunque alcanzan un pH final anormalmente bajo. Esto ocurre en animales que poseen un nivel de glucógeno inicial muy elevado produciendo una gran cantidad de ácido láctico, que da lugar a pH finales muy ácidos. Como resultado, las carnes presentan un aspecto grisáceo y esponjoso.
- ✓ Carnes exudativas o PSE (*Pale, Soft and Exudative*). Estas carnes presentan un carácter pálido, blando y exudativo. Es un defecto que aparece típicamente en el ganado porcino. En estas carnes el proceso de acidificación es intenso, ocurre en menos de una hora y se produce cuando el músculo aún no ha perdido el calor animal. La combinación de pH ácido y temperatura elevada entraña una desnaturalización pronunciada de las proteínas sarcoplasmáticas y miofibrilares, que altera las características fisicoquímicas de la carne resultante, como la pérdida del color y la disminución de la retención de agua.
- ✓ Carnes oscuras o DFD (*Dark, Firm and Dry*). Aparecen cuando se han agotado las reservas de glucógeno muscular en los animales vivos antes de su sacrificio. El excesivo consumo de glucógeno muscular debido al estrés motiva que se alcancen valores elevados de pH final, superiores al normal de las carnes y siempre por encima de 6,0. Su principal inconveniente radica en su difícil conservación en refrigeración porque se oscurecen de manera rápida y

presentan pronto olores desagradables. Además facilitan el desarrollo de los microorganismos presentes que son capaces de ocasionar un ataque bacteriano a los aminoácidos y a las proteínas de la carne (Hernandez & Lopez, 2010).

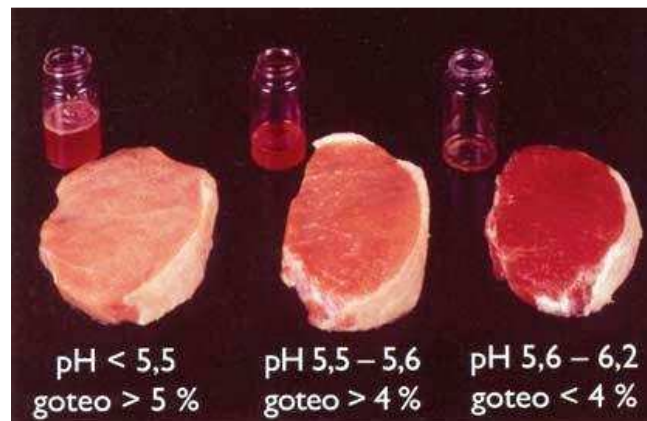


Figura 7. Principales defectos que se producen por un inadecuado desarrollo del *rigor mortis*.

2.3. Textura de la carne.

Los atributos sensoriales importantes de la carne son apariencia, jugosidad, sabor, valor nutricional y textura. La textura incluye las características de terneza, elasticidad, masticabilidad, cohesividad y jugosidad. Sin embargo, la terneza, que es la fuerza requerida para mantener una deformación o penetración en un producto, se ha identificado como el factor clave a la hora de alcanzar el grado de satisfacción deseado por parte de los consumidores de productos cárnicos (Rahim et al., 2013). Debido a su gran relevancia, al emplear el término textura se suele hacer referencia a la terneza de la carne, siendo común que ambos términos se intercambien (Rosenthal & Ribas, 2001).

2.3.1. Factores que influyen sobre la terneza de la carne.

La terneza de la carne depende de diversos factores. Éstos se pueden clasificar en intrínsecos, si son propios del animal, o extrínsecos, si están relacionados con el manejo y tratamiento de los mismos, así como el posterior tratamiento tecnológico de la carne.

2.3.1.1. Factores intrínsecos.

- ✓ *Especie y raza.* La especie es el factor principal que afecta a la terneza de la carne. En general, se suele asociar el mayor tamaño de ciertos animales como las terneras, vacas o toros con la mayor dureza de sus carnes en comparación con las de animales más pequeños, como las ovejas o los cerdos. Así, se ha asociado la mayor terneza de la carne procedente de la raza Aberdeen Angus con su

menor tamaño y por lo tanto, menor tamaño de sus fibras. Sin embargo, se ha comprobado que la carne procedente de razas de ternera enanas puede llegar a presentar puntuaciones menores de terneza. Por el contrario, la carne de animales con hipertrofia muscular puede llegar ser al menos igual de tierna que las de los animales de tamaño normal (Lawrie & Ledward, 2006).

Aunque no se ha encontrado una marcada diferencia en la terneza de la carne procedente de diferentes razas de vacuno o entre las razas con aptitud lechera o cárnica (Rosenthal & Ribas, 2001), razas con un mayor porcentaje de *Bos indicus* presentan un nivel de marmoleado menor y producen carne menos tierna que aquellas que poseen mayores porcentajes de *Bos taurus* (Thompson, 2002). Esto se ha comprobado mediante la realización de cruces empleando la raza Brahman, lo que da lugar a un aumento del porcentaje de *Bos indicus* y por lo tanto, un descenso de la terneza de la carne resultante.

Además, aunque no se han encontrado diferencias en el contenido total de tejido conectivo entre las diferentes razas, pueden existir otros factores tales como la naturaleza química del colágeno, que provoquen las diferencias existentes. Así mismo, la terneza es un factor hereditario en hasta un 60 % dentro de una raza. Por lo que, animales procedentes de padres diferentes pueden poseer diferencias en el nivel de terneza de sus carnes (Lawrie & Ledward, 2006).

- ✓ *Edad y sexo.* Según aumenta la edad del animal, la terneza de su carne disminuye, debido principalmente al incremento del contenido total de colágeno y el descenso del contenido del colágeno soluble (Hui, 2012). Además, se produce un descenso en el contenido en tejido conectivo. Esta aparente contradicción puede ser explicada por el hecho de que el tejido conectivo de los animales de menor edad presenta menor número de entrecruzamientos. Así mismo, la relación entre edad y textura, no solo se ve influenciada por los cambios cronológicos producidos en el músculo y en su tejido conectivo, sino que también están asociadas con el aumento de peso y grasa de la canal con la edad, lo que hace variar las condiciones de enfriamiento y reduce el efecto del acortamiento por frío (Lawrie & Ledward, 2006). Relacionado con esto último, el sexo del animal también influye en la terneza de la carne. Las hembras poseen mayor cantidad de grasa corporal que los machos y dentro de éstos, existen diferencias entre los castrados y los enteros, siendo mayor en los primeros (Hernandez & Lopez, 2010).
- ✓ *Músculo.* Existen diferencias texturales entre los diferentes músculos que forman parte de la canal del animal. Esto se debe a que cada uno de ellos presenta una proporción diferente de los diferentes tejidos conectivos (epimisio, perimisio y endomisio) y poseen diferentes tipos de colágeno, es decir, el grado

de entrecruzamiento de sus cadenas polipeptídicas varía. Aparte de estas diferencias, los músculos poseen diferente susceptibilidad al acortamiento antes o durante el establecimiento del *rigor mortis*, lo que acentúa las diferencias texturales en los mismos.

Además, el nivel de terneza varía entre las diferentes partes de un mismo músculo. Así, por ejemplo, la terneza de la carne disminuye sistemáticamente cuando se va del extremo proximal al distal del músculo *Semimembranosus* en ternera. La terneza del *Bíceps femoris* de estos animales se incrementa desde la inserción al origen. Y las porciones laterales del músculo *Longissimus dorsi* en cerdo son más tiernas que las porciones medias (Lawrie & Ledward, 2006).

2.3.1.2. Factores extrínsecos.

- ✓ *Alimentación y sistema de explotación.* El tipo de alimentación seguido influye en el nivel de engrasamiento alcanzado. El contenido de grasa muscular, también denominado como marmoleado, tiende a diluir el tejido conectivo en sus elementos. Además, aquellas canales más pesadas, por poseer mayor contenido en grasa, son menos susceptibles de sufrir el denominado acortamiento por frío debido a que su enfriamiento no es lo suficientemente rápido como para sufrirlo (Lawrie & Ledward, 2006). Todo ello, hace que el nivel de engrasamiento tenga un efecto significativo sobre la terneza de la carne. Existen estrategias nutricionales para mejorar la terneza general en un intento para incrementar la activación del sistema enzimático de las calpaínas *in vivo* antes del sacrificio. Así mismo, se ha puesto un especial interés en la manipulación de las tasas de crecimiento y en la conversión de las proteínas para mejorar la terneza. La conversión proteica varía según el genotipo y tanto la nutrición como las hormonas son claves para controlar el metabolismo muscular. El hecho de que la tasa de crecimiento y la cinética proteica puedan ser importantes en la determinación de la dureza, surge como consecuencia de la observación de que el crecimiento acelerado, asociado con altas tasas de conversión proteica, resulta en una menor proporción de proteínas maduras y de entrecruzamientos estables en el músculo (Maltin, Balcerzak, Tilley, & Delday, 2003).

Por otro lado, se ha visto que aunque los períodos de vida reducidos de ganancia o pérdida de peso parece que dan como resultado una carne menos tierna, los animales que se ha realimentado correctamente después de una pérdida de peso producen una carne que es tan tierna como la de los animales no estresado. Así, los efectos del estrés nutricional seguidos por un crecimiento

compensatorio muestran que este crecimiento compensatorio *per se* no tiene efecto adverso alguno sobre la calidad de la carne, incluyendo la terneza.

- ✓ *Condiciones antes y durante el sacrificio: estrés.* Someter a los animales a estrés antes del sacrificio tiene una influencia negativa en la calidad de la carne. El corte oscuro de la carne de vacuno y el DFD del cerdo se producen como consecuencia de un estrés pre-sacrificio. Este estrés se puede producir en el animal como consecuencia del transporte hasta el matadero o de su manejo inadecuado. Además, también se sabe que el ejercicio exhaustivo antes del sacrificio produce estos mismos defectos, debido a los altos valores de pH finales que se alcanzan. Hablando de modo generalizado, el estrés reduce drásticamente el glucógeno del músculo y del hígado, causando que la cantidad de ácido láctico resultante sea menor y el descenso del pH no se produzca adecuadamente.

Por otro lado, los métodos de sacrificio, excepto aquellos que provocan un estrés excesivo, parece que tienen poco efecto en la textura de la carne. Sin embargo, en pollos se ha visto que el aturdimiento eléctrico antes del sacrificio puede mejorar la terneza si los voltajes empleados no son elevados ni los períodos de aturdimiento prolongados. El estrés por calor antes del sacrificio también puede disminuir la terneza, así como las altas temperaturas o los tiempos de escaldado prolongados. Por otro parte, la disminución de la lucha en el momento del sacrificio se ha demostrado que mejora la terneza.

- ✓ *Influencia de los tratamientos post-mortem.* Los tratamientos *post-mortem* pueden presentar un efecto tanto beneficioso como perjudicial sobre las propiedades de textura de la carne, en función de la especie animal sobre los que se apliquen (Rosenthal & Ribas, 2001). En el siguiente apartado se describen algunas de las técnicas que comúnmente se emplean.

2.3.2. Métodos de mejora de la textura.

Como se ha explicado anteriormente, tras el sacrificio del animal se producen una serie de cambios mediante los cuales el músculo se transforma en carne. Durante este proceso, se pueden aplicar diferentes técnicas para intentar mejorar la textura de la carne resultante. Estas técnicas modifican los procesos bioquímicos que se encuentran activos en el músculo *post-mortem* o alterando física o químicamente su estructura miofibrilar o tejido conectivo (Kerry & Ledward, 2009). Según el modo de acción, las técnicas pueden ser clasificadas en tres categorías: físicas, químicas y enzimáticas.

En la primera categoría, formada por las intervenciones físicas, se encuentran aquellas técnicas que mediante la aplicación de una fuerza o un estímulo físico causan un cambio en la estructura de la carne. Algunas de las técnicas que forman parte de este

grupo son la estimulación eléctrica de la canal, la manipulación de las condiciones de maduración, la aplicación de ciclos de congelación-descongelación, los tratamientos de presión y el método de suspensión de la canal durante el enfriamiento. En la segunda categoría se agrupan las intervenciones químicas que incluyen la infusión, marinado o inyección de sales de calcio, sodio o fosfato y preparados comerciales con maltodextrina o almidón junto con vitamina D. Por último, en la tercera categoría también existen técnicas basadas en la infusión, marinado o inyección pero de soluciones de enzimas exógenas. Las más empleadas son las proteasa de origen herbáceo, microbiano o animal.

A continuación, se explican con mayor detalle algunas de las técnicas más empleadas para la mejora de la textura.

2.3.2.1. Maduración.

La maduración, también conocido como acondicionamiento, es el proceso de almacenamiento de la carne en refrigeración para beneficiarse del efecto de ablandamiento de las proteasas endógenas, principalmente de la enzima calpaína, que producen la rotura de la estructura de las proteínas del músculo.

El proceso de maduración puede llevarse a cabo de dos formas. En la primera de ellas, los trozos de carne son envasados al vacío y almacenados a temperaturas justo por encima del punto de congelación, entre -1 y 4 °C, dependiendo del tiempo de almacenamiento deseado y del mercado objetivo. De esta forma, se previene la actividad microbiana y se consigue el nivel de ablandamiento deseado. En la segunda de ellas, la canal al completo o trozos de la misma se almacena en refrigeración pero sin realizar envasado al vacío (Bekhit, Carne, Ha, & Franks, 2014).

El éxito del proceso de maduración depende de varios factores entre los que se encuentra la actividad de la calpaína, el pH del músculo y la temperatura de almacenamiento. Sin embargo, aunque la maduración es una técnica ampliamente utilizada en la industria cárnica, no es sencillo determinar sus condiciones óptimas. Así por ejemplo, Koohmaraie recomienda que para asegurar un correcto ablandamiento, los músculos *Longissimus* de ternera, cordero y cerdo deben ser almacenados durante 10-14 días, 7-10 días y 5 días, respectivamente (Koohmaraie, 1996). Además, es importante destacar que el efecto del proceso de maduración no es siempre igual y varía según el tipo de músculo empleado (Kerry & Ledward, 2009), debido a los diferentes niveles de enzimas endógenas que poseen, al estatus de contracción en el que se encuentran y a la variabilidad en el tejido conectivo presente en cada uno de ellos (Bekhit et al., 2014). Por lo tanto, el músculo es un factor a tener en cuenta a la

hora de seleccionar las condiciones empleadas durante la maduración (Kerry & Ledward, 2009).

Por último, es necesario tener en cuenta que tal y como destacaron Novakofski y Brewer (2006) el proceso de maduración no siempre produce un aumento de la ternura de la carne. Estos autores detectaron que aquellas muestras cuya ternura inicial ya era elevada, no se ablandaban más sino que normalmente se endurecían. Aunque no llegaron a comprobar la justificación, en el estudio se afirmaba que este fenómeno se debía a una alteración en el sistema de retención de agua o en la estructura muscular. Si el proceso de alteración era muy acusado, podía llegar a producirse un fenómeno de endurecimiento muy similar al que ocurre cuando se produce la sobrecocción de la carne (Novakofski & Brewer, 2006).

2.3.2.2. Estimulación eléctrica.

La estimulación eléctrica de las canales se aplica principalmente para prevenir la contracción muscular excesiva durante la implantación del *rigor mortis* como resultado de un rápido enfriamiento (acortamiento por frío). Este fenómeno ocurre cuando la temperatura del músculo desciende por debajo de los 10 °C mientras que el músculo aún contiene energía suficiente ($\text{pH} > 6$) para contraerse. La aplicación de energía en forma eléctrica provoca un aumento de la tasa de glucólisis *post-mortem* y por lo tanto, un descenso acelerado del pH.

Comercialmente, la estimulación eléctrica se realiza mediante la colocación de electrodos en diferentes partes de la canal aplicando corrientes eléctricas que pueden ser de alto (hasta 1.130 V) o bajo voltaje (< 150 V). La principal diferencia entre ambos métodos es el lugar de aplicación del estímulo. La estimulación directa del músculo se realiza mediante alto voltaje mientras que se emplea bajo voltaje cuando se aplica sobre el sistema nervioso.

La estimulación eléctrica provoca la rotura física de los sarcómeros dando lugar a fibras más frágiles y acelerando la proteólisis debido al incremento de la actividad de la proteasa calpaína. Su eficiencia depende de diversos factores entre lo que se encuentra la intensidad del proceso estimulante, la temperatura *post-mortem*, la cantidad total de energía eléctrica aplicada y el perfil pH-temperatura seguido por el músculo. No obstante, la caída repentina del pH puede tener un impacto negativo sobre sistemas enzimáticos y proteicos que controlan la capacidad de retención de agua o el color.

2.3.2.3. Ciclos de congelación-descongelación.

Exponer la carne a ciclos de congelación-descongelación puede mejorar la textura de la carne tanto mediante procesos físicos como bioquímicos. Su eficiencia depende de la

tasa de congelación, del momento *post-mortem* de aplicación, de las condiciones durante el proceso, de la especie animal y del tipo de músculo empleado.

La exposición de la carne a temperaturas inferiores a su punto de congelación (<-1,5 °C) causa la formación de cristales de hielo en la carne. Si el proceso de congelación es rápido, los cristales de hielo se forman tanto en los compartimientos extracelulares como intracelulares del músculo, evitando la migración del agua a través de la pared celular y por lo tanto, la célula mantiene su integridad. Sin embargo, cuando la tasa de congelación es lenta, la formación del hielo también es lenta y da lugar a grandes cristales que se encuentran localizados en la parte exterior de la célula, lo que causa el incremento de la concentración de solutos en el exterior. Esto producirá un gradiente osmótico a través de la pared de la célula y la migración del agua desde el interior de las células al exterior, produciendo la deshidratación y colapso de la pared celular. Además, la densidad del hielo es menor que la del agua y por lo tanto, el hielo ocupa más espacio molecular, lo que provoca una presión en la pared celular dando lugar a su fragmentación. Al haberse visto afectada la estructura de la célula mediante el proceso de descongelación, se produce la interacción de parte de los componentes celulares con los sustratos dando lugar a reacciones que pueden modificar la estructura del músculo. No obstante, esta técnica no es muy empleada debido a que produce la alteración del color de la carne y el incremento de la pérdida de agua (Bekhit et al., 2014).

2.3.2.4. Técnicas de mejora de textura para carne procesada.

Existen una serie de técnicas que no pueden ser aplicadas en carne que va a ser vendida sin procesar. Sin embargo, sirven para mejorar la textura de los productos procesados. Entre ellas destacan principalmente el empleo de agujas o cuchillas, que provocan la rotura de las fibras musculares y del tejido conectivo, y la inyección de marinados. Estos marinados contienen ingredientes no cárnicos que incrementan la palatabilidad de los productos. Las sustancias que suelen añadirse a los marinados son sales (ej. cloruro sódico), sustancias que son capaces de retener agua (ej. fosfato sódico), enzimas exógenas (ej. papaína, bromelaina o ficina) y/o antioxidantes (ej. romero). La acción de estas disoluciones se debe a la dilución de las proteínas miofibrilares y a la degradación de las proteínas de las miofibrillas o del tejido conectivo mediante la acción de enzimas exógenas o endógenas (Kerry & Ledward, 2009).

3. Métodos de medida de la textura.

La textura es un atributo complejo como demuestra la gran cantidad de características necesarias para describirla, así como el elevado número de factores que influyen en ella (Hui, 2012). Sin embargo, es necesario caracterizarla para poder comparar la terneza de diferentes productos disponibles en el mercado, determinar la efectividad de los tratamientos de ablandamiento empleados, encontrar diferencias entre músculos o entre grupos de animales y para determinar el mejor tratamiento para la mejora de la calidad de un determinado producto. Por ello, existen diferentes mecanismos para su evolución. Estos métodos se pueden clasificar en tres grupos: instrumentales, que son métodos objetivos de medida; sensoriales, en los que se emplean consumidores o paneles de catadores; e indirectos, en los que no se mide directamente la textura de la carne sino algún parámetro que tiene relación con ella (Pearson & Dutson, 1995).

3.1. Medidas instrumentales.

Dentro de las técnicas instrumentales existen diferentes métodos que evalúan diferentes parámetros de la textura. Así por ejemplo, los métodos de corte están basados en el hecho de que para comer carne es necesario cortar el alimento en trozos pequeños con los dientes frontales y luego triturarlos con los molares. Por ello, existen numerosos instrumentos que pretenden imitar este proceso. Entre ellos, se encuentra el test de corte de Warner-Bratzler (Warner, 1928), caracterizado por una placa de corte con un agujero triangular (Figura 8). Este método es el más extendido para evaluar la terneza de la carne debido a que es el método que mejores correlaciones ha mostrado con la evaluación por parte de paneles de catadores. Sin embargo, también existen otros métodos como el test de Allo-Kramer (Kramer, Aamlid, Guyer, & Rogers, 1951) que consiste en un dispositivo provisto con entre 10-13 agujas que son guiadas entre barras a través de una caja cuadrada que contiene la muestra. Este método fue originalmente empleado para medir la textura de muestras muy concretas, pero su diseño fue modificado para poder analizar muestras de ternera y cerdo. En estas medidas, la fuerza de corte es calculada como la máxima fuerza expresada en Newton o kilogramos, mientras que la energía de corte es obtenida como el área debajo de la curva de deformación desde el principio hasta el final del ensayo.

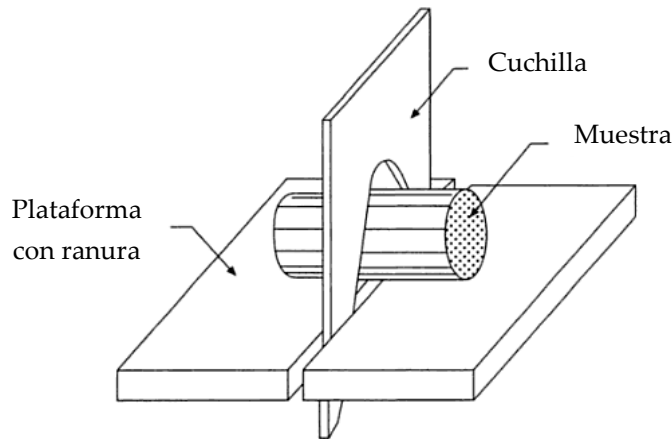


Figura 8. Esquema de la sonda de corte Warner-Bratzler (McKenna & Kilcast, 2004).

Por otro lado, las técnicas basadas en penetrometría simulan el proceso de masticación y son consideradas como una medida de la facilidad con la que se produce el primer mordisco en un alimento. Estos métodos usan un émbolo cilíndrico plano en su extremo que es aplicado verticalmente sobre una muestra de carne de 1 cm de grueso cortado de tal forma que el émbolo actúa de forma perpendicular a las fibras musculares. El émbolo es aplicado dos veces en cada punto de la muestra y se recogen los datos de trabajo necesario y las curvas de fuerza-deformación. Con ello, es posible determinar la dureza, cohesividad y gomosidad de la muestra evaluada. Lepetit desarrolló una modificación de este dispositivo de compresión para evitar la deformación lateral y medir las propiedades mecánicas de las fibras musculares (Lepetit, 1994) (Figura 9). En este método, se consideran los valores de fuerza que son necesarios aplicar para comprimir una muestra cuando la célula se ha desplazado el 20 % y el 80 % de la distancia total que recorre en el ensayo completo. Según algunos autores, el valor al 20 % de compresión está relacionado con la fuerza de las miofibrillas mientras que el valor al 80 % de compresión se relaciona con el contenido de colágeno y el número de entrecruzamientos que poseen sus moléculas (Sarriés & Beriain, 2006). También este ensayo permite conocer la fuerza que es necesaria aplicar para romper la estructura de la carne, lo que se corresponde con el valor aplicado al 100 % de compresión.

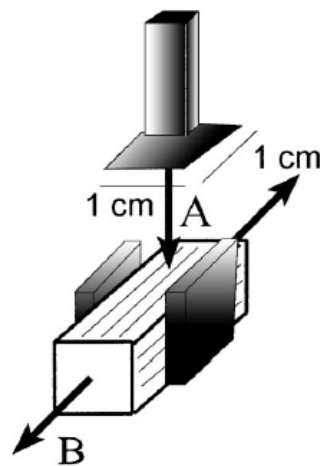


Figura 9. Esquema de la sonda penetrometría Lepetit (M. M. Campo, 2000).

Por último, los métodos de tensión han sido empleados para investigar la estructura de la carne de ternera y cerdo. Estos test pueden ser empleados tanto en muestras crudas como cocinadas y pueden ser realizados tanto en el sentido transversal como paralelo a la dirección de las fibras. La muestra normalmente es retenida entre pinzas neumáticas a una presión suficiente para mantenerlas sujetas sin llegar a dañarlas. Durante el ensayo, la muestra es estirada a diferentes velocidades hasta romperla completamente. Acabado el ensayo, se mide el ancho y el grosor de las muestras, así como el pico máximo alcanzado que es expresado en Pascales.

3.2. Análisis sensorial.

La evolución sensorial es un método científico empleado para evocar, medir, analizar o interpretar las respuestas generadas a los diferentes productos al ser percibidos a través de los sentidos (Stone, Bleibaum, & Thomas, 1993). Existen tres tipos principales de análisis sensoriales en función de si se centran en la existencia de diferencias generales entre productos (análisis discriminante), en la especificación de atributos (análisis descriptivos) o en la medida del gusto o disgusto de los consumidores ante un determinado producto (test hedónico o afectivo). Los diferentes tipos de test sensoriales requieren un nivel diferente de selección y entrenamiento de los miembros del panel. En este sentido, en función de sus habilidades, el panel puede ser entrenado o panel de consumidores. Existe una diferencia fundamental en la evolución sensorial de la carne cuando esta se realiza por un panel entrenado o de consumidores (Risvik, 1995). En el primer caso, la atención está centrada en la carne como un objeto de investigación científica, aportándole una descripción completa de las diferentes características de textura y jugosidad como propiedades de superficie, de compresión parcial, de primer mordisco, de masticación y sentimientos posteriores a la

masticación. Mientras que en el caso de los consumidores, estos reaccionan muy diferente, centrándose principalmente en como la carne les satisface personalmente.

La evolución sensorial, sin tener en cuenta el tipo de consumidores, requiere mucho tiempo y es un procedimiento caro. Sin embargo, el uso de humanos en la evolución sensorial es necesario debido a que ningún análisis de laboratorio o dispositivo mecánico ha sido capaz de describir las acciones de mordisco o masticación como lo hacen los humanos. Además, la ventaja de los métodos sensoriales frente a los instrumentales radica en la complejidad de la percepción humana, lo que permite el análisis, integración e interpretación de un gran número de sensaciones aisladas al mismo tiempo.

Sin embargo, es necesario tener en cuenta que el análisis sensorial es un proceso complejo debido a que éste se encuentra influenciado por la destrucción mecánica de la estructura original, las condiciones bioquímicas en la boca y la percepción psicológica de la textura y jugosidad (Hui, 2012).

3.3. Métodos indirectos.

Por último, existen una serie de métodos indirectos que permiten determinar el nivel de terneza de una carne a partir de otros factores que se encuentran relacionados con ésta. Por ello, debido a que la carne es un material fibroso, no es de extrañar que la descripción de sus fibras sea empleada para determinar su terneza. Así mismo, también ha sido examinada la posibilidad de emplear el diámetro de las fibras musculares, su nivel de acortamiento y su facilidad de rotura como predictores o indicadores de la ternera. Además, Voyle desarrolló un método de medida rápida de la longitud de los sarcómeros para poder predecir de forma rápida la terneza de la carne (Pearson & Dutson, 1995; Voyle, 1971).

Aunque la evolución sensorial es el único método fiable para determinar la jugosidad de la carne, la capacidad de retención de agua ha sido empleado como un indicador en carne cruda. Existen tres métodos diferentes para medirla: sin aplicar fuerza, aplicando una fuerza mecánica y por métodos de acción capilar. La pérdida por goteo es el método más empleado, en la que la gravedad es la única fuerza aplicada. Este método es muy sensible pero requiere mucho tiempo para llevarlo a cabo. Otros métodos que se emplean requieren el uso de algún tipo de presión para promover la pérdida de los fluidos. Así, en el método de presión con papel de filtro, la presión es creada mediante la aplicación de un peso vertical sobre una muestra colocada entre dos papeles de filtro previamente pesados (Grau & Hamm, 1953). El agua que se pierde es absorbida por el papel de filtro y ésta es medida bien por pesado directo del papel de filtro o, indirectamente, mediante la medida del área del anillo generada por el fluido. Estos

métodos tienen como ventajas que requieren pequeñas cantidades de muestras, son sencillos y rápidos. Sin embargo, presentan como desventajas que el proceso de medida del área generada por la carne y el líquido es un procedimiento tedioso y no permanente (Hui, 2012).

Además, se ha evaluado la posibilidad de emplear cambios químicos como medida indirecta de la textura de la carne. Por ejemplo, se ha utilizado la descripción del tejido conectivo (colágeno) en términos de solubilidad, entrecruzamientos y extractabilidad (Seideman, 1986). Además, los cambios producidos en los componentes miofibrilares durante la maduración han sido estudiados mediante electroforesis. Sin embargo, muchas de estas medidas químicas son lentas y requieren un mayor entrenamiento y equipamiento que la mayoría de las medidas físicas instrumentales. Por ello, estas técnicas no han sido tan ampliamente utilizadas (Pearson & Dutson, 1995).

3.4. Métodos alternativos y en desarrollo para la determinación de la textura.

Existen técnicas alternativas en desarrollo que están siendo estudiadas para mejorar el proceso de evaluación de la textura de la carne. Así por ejemplo, se ha estudiado el empleo de la eletrotomografía para medir la tasa de masticación y la actividad de los músculos empleados en ella, lo que está influido por las propiedades físicas de los alimentos. Esta técnica es relativamente poco invasiva ya que solo necesita la colocación de unos electrodos en puntos de los músculos más importantes de la mandíbula.

Además, en los últimos años se ha propuesto el uso de numerosas técnicas de análisis de imagen para evaluar de forma objetiva la terneza de la carne de ternera con resultados muy variables. Sin embargo, sigue existiendo un gran interés en el desarrollo de tecnologías como el análisis de imagen mediante ultrasonido, la captura de imágenes mediante luz visible o ultravioleta mediante el empleo de sistemas de visión artificial, el uso de imágenes hiperespectrales que incluyen rangos del espectro entre el visible y el infrarrojo y el empleo de la resonancia magnética nuclear. Actualmente, la mayoría de los estudios se centran en alcanzar el grado de confianza necesario para utilizar estas técnicas de forma robusta, precisa y exacta (Hui, 2012).

Por último, otra técnica estudiada como alternativa a las actuales es la espectroscopia de infrarrojo cercano (NIR). Esta técnica es sensible, rápida, no invasiva, no destructiva y con una mínima preparación de muestras, permitiendo además determinar de forma simultánea diferentes parámetros de la carne. Numerosos estudios han mostrado la capacidad de los espectros NIR para predecir la terneza y la capacidad de retención de agua, sin embargo otros presentan resultados contradictorios, con valores de

predicción bastante bajos (Bowling et al., 2009; Forrest et al., 2000; Hildrum et al., 1995; Prieto, 2009; Swatland, 1995).

4. Espectroscopia de infrarrojo.

Como se muestra en la Figura 10, la región del infrarrojo del espectro abarca la radiación con números de onda comprendidos entre 12.800 y 10 cm^{-1} , que corresponden a longitudes de onda de 0,78 a 1.000 μm . Tanto desde el punto de vista de las aplicaciones como de la instrumentación, es conveniente dividir el espectro infrarrojo en tres regiones denominadas infrarrojo cercano (12.800-4.000 cm^{-1}), medio (4.000-400 cm^{-1}) y lejano (400-10 cm^{-1}).

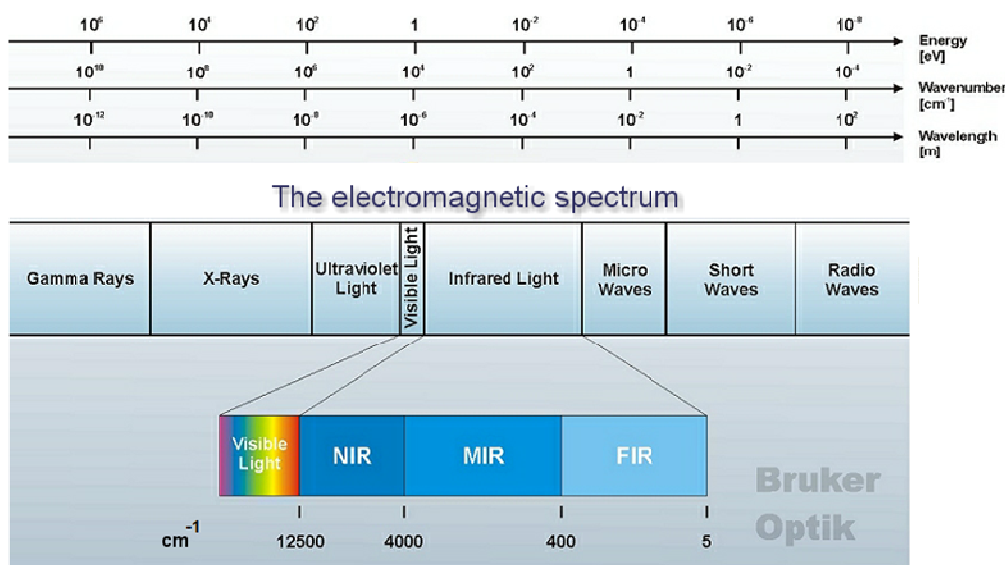


Figura 10. Espectro electromagnético (Bruker).

Las técnicas y las aplicaciones de los métodos basados en cada una de las tres regiones del espectro infrarrojo difieren considerablemente. Así, las medidas en la región del infrarrojo cercano se realizan con fotómetros y espectrofotómetros similares, en cuanto a su diseño y componentes, a los instrumentos utilizados en la espectroscopia ultravioleta y visible. Las aplicaciones más importantes de esta región espectral se encuentran en el análisis cuantitativo de materiales industriales y agrícolas y en los procesos de control.

Por otro lado, los instrumentos para la región del infrarrojo medio o fundamental eran en su mayoría de tipo dispersivo, contando con la presencia de redes de difracción. Sin embargo, hace unos años tuvo lugar un cambio espectacular en la instrumentación del

infrarrojo medio, de tal manera que, ahora la mayoría de los instrumentos se basan en la transformada de Fourier. La aparición de este tipo de espectrómetros relativamente baratos ha aumentado notablemente el número y tipo de aplicaciones. La razón de este incremento radica en el aumento de la relación señal/ruido, y de los límites de detección. Antes de la aparición de estos instrumentos, la región espectral del infrarrojo medio se utilizaba en su mayor parte para el análisis orgánico cualitativo y la determinación estructural, teniendo como base los espectros de absorción. Ahora, como contraste, la espectrometría en el infrarrojo medio se está comenzando a utilizar además en el análisis cuantitativo de muestras complejas, mediante espectrometría de absorción y emisión.

El uso de la región del espectro del infrarrojo lejano, aunque potencialmente bastante útil, ha estado limitado en el pasado como consecuencia de las dificultades experimentales que presenta. Las pocas fuentes de este tipo de radiación que se encuentran disponibles son notoriamente débiles y, además, se ven atenuadas por la necesidad de utilizar filtros de selección de órdenes espectrales para evitar que la radiación de mayores órdenes que emerge de la red de dispersión alcance el detector. Los espectrómetros de transformada de Fourier, con un rendimiento muy superior, alivian en gran parte este problema y hacen a la región espectral del infrarrojo lejano mucho más accesible.

4.1. Fundamentos.

Los espectros de las diferentes especies moleculares en el infrarrojo son el resultado de los cambios energéticos producidos en las transiciones de las moléculas de unos estados de energía vibracionales y rotacionales a otros, entre los cuales existen pequeñas diferencias de energía. Estas transiciones producen un cambio neto en el momento dipolar de la molécula afectada provocando que el campo eléctrico alterno de la radiación pueda interactuar con la molécula y provocar cambios en la amplitud de alguno de sus movimientos. Por ello, las especies homonucleares (ejemplos: O₂, N₂ y Cl₂) que no pueden sufrir un cambio neto durante la vibración o rotación, no son capaces de absorber en el infrarrojo.

Las frecuencias en que se llevan a cabo esas oscilaciones moleculares están determinadas en gran medida por la naturaleza de los enlaces individuales en conjunto dentro de una molécula y por los tipos de grupos funcionales que se asocien directamente con la oscilación.

Las dos categorías básicas de vibraciones que se pueden distinguir son las vibraciones de tensión y de flexión. Una vibración de tensión supone un cambio continuo en la distancia interatómica a lo largo del eje del enlace entre dos átomos, pudiendo

producirse una extensión o contracción de la misma. Las vibraciones de flexión se caracterizan por un cambio en el ángulo entre dos enlaces, pudiendo ser de cuatro tipos: balanceo, tijereteo, aleteo y torsión (Figura 11).

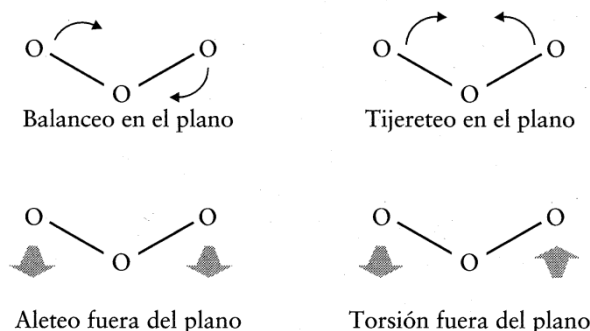


Figura 11. Oscilaciones moleculares distintas de flexión (Higson & Balderas, 2007).

En una molécula con más de dos átomos, son posibles todos los tipos de vibraciones, pudiendo además producirse una interacción o acoplamiento de las vibraciones si éstas involucran enlaces con un mismo átomo central. Como resultado de este acoplamiento, se produce un cambio en las características de las vibraciones implicadas (Skoog, Crouch, Holler, & Anzures, 2008). Con frecuencia, en la práctica, se observan menos picos que los que cabría esperar, y esto puede explicarse por los siguientes factores:

1. Cuando la simetría de la molécula es tal que no hay cambio de dipolo debido a una o más oscilaciones moleculares posibles.
2. Si una molécula puede tener dos o más vibraciones distintas que tengan energía casi idéntica, los picos de absorción de infrarrojo de esos procesos se pueden fundir, a veces, y parecer como uno solo.
3. Si una vibración molecular produce una absorción extremadamente pequeña, en algunos casos será demasiado débil para poder detectarla (Higson & Balderas, 2007).

4.2. Instrumentación.

Para las medidas de absorción en el infrarrojo existen dos tipos de instrumentos disponibles comercialmente: los espectrofotómetros dispersivos de red y los instrumentos basados en la transformada de Fourier.

4.2.1. Espectrofotómetros dispersivos de red.

Los espectrofotómetros dispersivos de red contienen cinco componentes básicos: (i) una fuente de energía radiante estable; (ii) un selector de longitud de onda; (iii) un portamuestras; (iv) un detector de radiación o transductor que convierte la energía

radiante en una señal utilizable, por lo general eléctrica; y (v) un dispositivo para el procesamiento de la señal y de la lectura. La disposición de estos elementos básicos varía según el tipo de espectroscopia, siendo la utilizada para absorción en el infrarrojo la que aparece en la Figura 12.

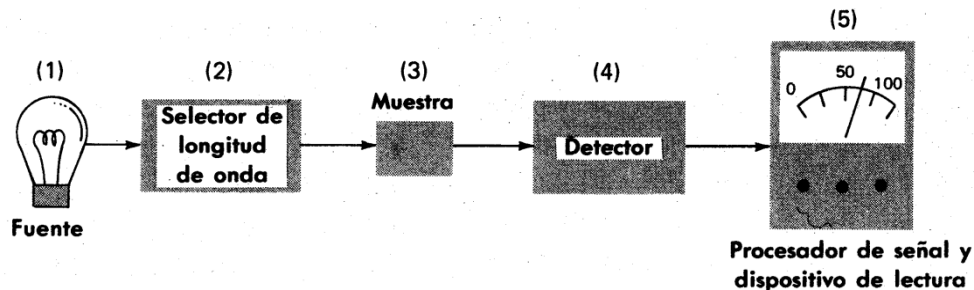


Figura 12. disposición de los elementos en espectroscopia óptica de absorción (Willard, 1988).

Las fuentes de energía radiante utilizadas deben producir un haz de radiación cuya potencia sea suficiente para facilitar la detección y medida. Además, la señal producida por las mismas debe ser estable. Comúnmente, las fuentes de infrarrojo son sólidos inertes calentados eléctricamente hasta alcanzar temperaturas entre 1.500 y 2.200 K. Como resultado de esto, se produce una radiación continua que se aproxima a la de un cuerpo negro. Los principales tipos de fuentes son el emisor de Nernst, la fuente Global y la fuente de filamentos incandescentes. El emisor de Nernst está constituido por óxidos de tierras raras que se encuentran en un cilindro de diámetro entre 1 a 2 mm y una longitud aproximada de 20 mm. En los extremos del cilindro se sellan unos cables de platino para permitir la conexión eléctrica, formando un conjunto que equivale a un elemento de calentamiento resistente. Cuando la corriente pasa por este dispositivo se alcanzan temperaturas comprendidas entre 1.200 y 2.200 K. La fuente Global está formada por una barra de carburo de silicio, generalmente de 5 cm de longitud y 0,5 cm de diámetro, que también se calienta eléctricamente. La fuente de filamento incandescente está formada por una fuente de intensidad algo menor aunque de vida útil más prolongada en comparación con las anteriores. Consiste en una espiral muy apretada de alambre de nicromo, calentada por el paso de una corriente eléctrica.

Para la selección de la longitud de onda en la región infrarroja se utilizan rejillas de difracción que consisten en una serie de surcos paralelos y poco espaciados abiertos sobre un vidrio u otro material transparente. Este sistema sustituye a los prismas dado que es posible obtener una resolución intrínsecamente mejor debido a que existe menos pérdida de energía radiante. No obstante, estos dispositivos producen una mayor cantidad de radiación dispersa y producen la aparición de radiación de otros órdenes espectrales.

En cuanto a los detectores de radiación, los primeros instrumentos para medir la absorción utilizaban métodos de detección visuales o fotográficos. En la actualidad, estos detectores se han sustituido casi por completo por transductores que convierten la energía radiante en una señal eléctrica. Para ser útil, el detector debe responder a la energía radiante de un amplio intervalo de longitudes de onda. Además, debe ser sensible a bajos niveles de potencia radiante, responder rápidamente a la radiación, producir una señal eléctrica que pueda amplificarse fácilmente y tener un nivel de ruido relativamente bajo para obtener una alta estabilidad. La señal producida debe ser directamente proporcional a la potencia del haz que incide en él. Los principales detectores utilizados son:

- ✓ Detectores térmicos. Con este dispositivo se mide el incremento de temperatura que resulta cuando un pequeño cuerpo negro absorbe la radiación. Sin embargo, estos detectores presentan una serie de problemas ya que la medida se complica por el ruido térmico del medio circundante, siendo necesario el uso de vacío.
- ✓ Detectores piroeléctricos. Elementos constituidos por láminas cristalinas de un material piroeléctrico a los que cuando se les aplica un campo eléctrico tiene lugar una polarización eléctrica. Ésta, se mantiene dependiente de la temperatura aunque se elimine el campo eléctrico que la ha producido.
- ✓ Detectores fotoconductores. Elementos que constan de una delgada película de un material semiconductor, por ejemplo, telururo de cadmio o mercurio, sulfuro de plomo o antimoniuro de indio, depositada sobre la superficie de un vidrio no conductor. Este vidrio, se encuentra sellado en una cámara a vacío para proteger al semiconductor de la atmósfera. En estos materiales, la absorción de radiación impulsa electrones de valencia no conductores a estados conductores de mayor energía, disminuyendo así la resistencia eléctrica del semiconductor.

Por último, por lo general, el procesador de señal es un dispositivo electrónico que amplifica la señal eléctrica generada en un detector. Además, puede modificar la señal transformándola, cambiando su fase o filtrándola.

4.2.2. Instrumentos basados en la transformada de Fourier.

Hasta los años 80, los instrumentos más utilizados fueron los espectrofotómetros dispersivos. En la actualidad, sin embargo, han sido desplazados por los espectrómetros de transformada de Fourier debido a su rapidez, fiabilidad y comodidad. Además, estos instrumentos presentan una relación señal/ruido que supera la de los instrumentos dispersivos de buena calidad en más de un orden de

magnitud, presentando también, alta resolución, elevada exactitud y reproducibilidad en la determinación de las frecuencias.

La mayoría de los instrumentos de infrarrojo que usan la transformada de Fourier se basan en el interferómetro de Michelson. Estos equipos presentan entre otros elementos, un espejo fijo, uno móvil y un divisor de haz (Figura 13) (Skoog et al., 2008). La radiación emitida por la fuente es colimada por un espejo y dirigida hacia un divisor de haz, dando lugar a dos haces. Cada uno de ellos se refleja en los espejos fijo y móvil, respectivamente, volviendo nuevamente al divisor de haz. Tras ello, los haces se vuelven a recombinar y son dirigidos hacia la muestra y el detector. Si los dos haces se encuentran en fase, la longitud de la trayectoria recorrida por ambos es exactamente igual y se produce una interferencia constructiva. Si esa longitud es distinta, los dos rayos se encuentran desfasados produciéndose una interferencia destructiva.

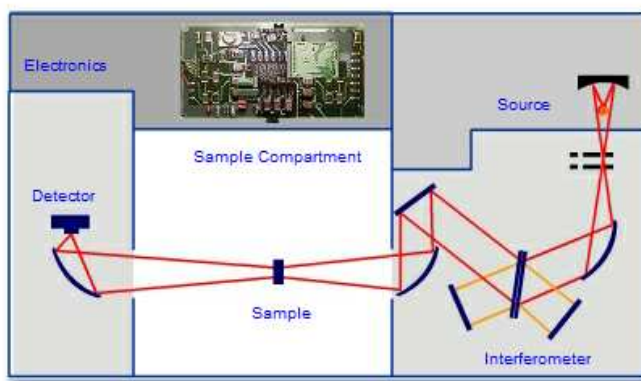


Figura 13. Esquema interior de un espectrofotómetro basado en la transformada de Fourier (Bruker).

Como resultado de la interacción del haz con la muestra, se obtiene un interferograma, en el que se puede observar la intensidad del haz recogida por el detector en función de la longitud recorrida por el espejo móvil. Aplicando sobre él la operación matemática denominada como transformada de Fourier, se obtiene el espectro característico de las muestras analizadas (Higson & Balderas, 2007). En la Figura 14 se puede observar un ejemplo de un interferograma de una fuente y su espectro correspondiente.

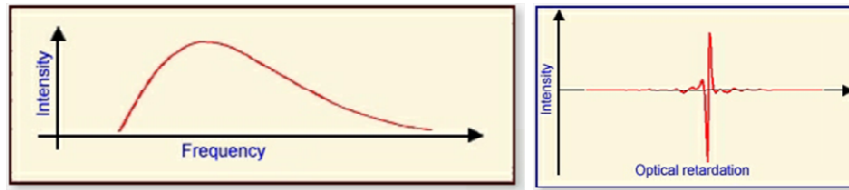


Figura 14. Interferograma de una fuente (derecha) y su espectro correspondiente (izquierda) (Bruker).

Normalmente, los divisores de haz utilizados en este tipo de equipos son películas delgadas de germanio o silicio, depositadas sobre bromuro de yodo o cesio, cloruro de sodio o bromuro de potasio. En el caso de los detectores, los de naturaleza térmica no se suelen adaptar fácilmente a este tipo de instrumentos debido a su tiempo de respuesta lento. Por ello, se suelen emplear los detectores piroeléctricos de sulfato de triglicina. En caso de necesitar mejores sensibilidades o tiempos de respuesta más rápidos, se emplean detectores fotoconductores de telururo de cadmio/mercurio o de antimonio de indio enfriados con nitrógeno líquido (Skoog et al., 2008).

En este tipo de instrumentos se utiliza principalmente la técnica de reflexión interna total atenuada (ATR o *Attenuated Total Reflectance*). El ATR permite obtener espectros por medio de la reflexión de la radiación infrarroja cuando un haz de radiación pasa de un medio más denso, el cristal del espectrofotómetro, a uno menos denso, la muestra, es decir, con distinto índice de refracción.

El haz de radiación que penetra en la muestra se denomina onda evanescente. La profundidad de penetración de esta onda evanescente depende de la longitud de onda de la radiación incidente, del índice de refracción de los dos materiales y del ángulo de incidencia. Al aumentar este último, la radiación reflejada también se incrementa hasta un punto llamado ángulo crítico. Una vez superado este ángulo la reflexión es total. La absorbancia es independiente del espesor de la muestra ya que la onda evanescente penetra en ella sólo unos pocos micrómetros (Higson & Balderas, 2007).

Ajustando adecuadamente el ángulo incidente, la radiación experimenta múltiples reflexiones internas antes de pasar del cristal al detector. De este modo, cuando la muestra absorbe radiación infrarroja, se produce una absorción y una atenuación que se verán observadas en las longitudes de onda correspondientes a las bandas de absorción de la muestra (Skoog et al., 2008).

Durante el análisis, la muestra se coloca sobre la cara de un material cristalino transparente con un alto índice de refracción, siendo los más utilizados los de germanio, seleniuro de zinc y una mezcla de yoduro de talio y bromuro de talio (Figura 15). Cada uno de estos cristales está asociado a un ángulo crítico, pudiendo variar la profundidad de penetración de la onda evanescente en la muestra.

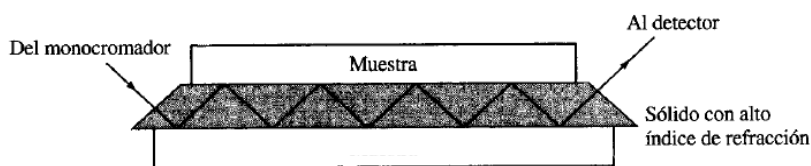


Figura 15. Dispositivo ATR (Skoog et al., 2008).

Alguna de las ventajas de esta técnica es la facilidad de preparación de las muestras y su versatilidad, ya que permite medir líquidos, sólidos, polvos y suspensiones. Pero tiene como inconveniente que es necesario un buen contacto entre la muestra y la superficie del cristal para que no se produzcan interferencias durante la realización de la medida (Higson & Balderas, 2007).

4.3. Comparativa entre métodos FT-NIR y FT-MIR.

Los componentes con los que funcionan los equipos de FT-NIR y FT-MIR son esencialmente iguales. Donde se presentan las grandes diferencias son en los números de onda en los que trabajan y en la energía del haz utilizado, haciendo que las moléculas respondan de forma distinta en uno u otro caso.

Los espectros de infrarrojo medio consisten en una señal clara y fuerte en la mayor parte de los casos. Sin embargo, los espectros de infrarrojo cercano son más complejos, poseen una señal más débil y con un mayor número de solapamientos que comprenden armónicos y combinaciones de absorciones. No obstante, los espectros NIR tienen una baja absorción debido al agua lo que hace posible el análisis de alimentos con un alto contenido de humedad. Además, el infrarrojo cercano está menos influenciado por la presencia de dióxido de carbono atmosférico, haciendo posible trabajar con los instrumentos NIR sin tener que crear un ambiente libre de humedad y de dióxido de carbono.

Por otro lado, las bandas del infrarrojo medio son entre 10 y 100 veces más intensas que sus correspondientes bandas en el infrarrojo cercano, permitiendo así el análisis directo de muestras con alta absorción y fuerte dispersión del haz, sin necesidad de diluir o realizar un complejo tratamiento previo de las muestras. No obstante, las bandas en el infrarrojo medio son fundamentales, por lo que, el espectro es más sensible, lo que hace que sea posible su aplicación para la detección de diferencias en la composición entre muestras tomando como base la vibración de los grupos químicos a un determinado número de onda. Además, las frecuencias e intensidades de las bandas de absorción pueden aportar información de los grupos funcionales más relevantes (Sun, 2009).

5. Aplicaciones y perspectivas de futuro del empleo de espectroscopia MIR en la evaluación de la calidad de los alimentos.

Desde el inicio de la espectroscopia infrarroja, la zona del infrarrojo medio (MIR) ha atraído un gran interés debido a su capacidad para determinar la estructura de las moléculas. Los avances en la instrumentación combinados con el potente desarrollo del análisis de datos multivariante hacen que esta tecnología sea ideal para el análisis de grandes volúmenes de muestras mediante un proceso de escaneo rápido que permite la detección de componentes constituyentes de los alimentos.

La espectroscopia MIR es el método elegido para la caracterización estructural de las moléculas. Sus aplicaciones en el análisis de alimentos son diversas pero su uso es relativamente reciente y no tan usual como el del infrarrojo cercano (NIR). Su desarrollo se inició aproximadamente hace dos décadas. Algunas de las áreas de investigación incluyen el estudio de las interacciones de los componentes de los alimentos, la cuantificación de nutrientes y otros componentes específicos de los alimentos, la caracterización estructural de las moléculas de los mismos, la determinación de la calidad de las materias primas y aditivos, así como la detección de adulteraciones y autenticación de alimentos (Sun, 2009).

La espectroscopia MIR se ha aplicado a diversos alimentos que incluyen: miel, aceites y grasas alimentarias, tomates, patatas, albaricoques, productos lácteos, pescado o carne (Al-Jowder, Defernez, Kemsley, & Wilson, 1999; Al-Jowder, Kemsley, & Wilson, 2002; Etzion, Linker, Cogan, & Shmulevich, 2004; Guillen, 2000; Hernández-Martínez, 2013; Liu, Chen, Dong, Ming, & Zhao, 2012; Meza-Márquez, 2010; Rohman, 2011; Ruiz, Reich, Bureau, Renard, & Audergon, 2008; Ścibisz et al., 2011; Shiroma & Rodríguez-Solona, 2009; Sivakesava & Irudayaraj, 2002; Tewari & Irudayaraj, 2004; D. Wu, Feng, He, & He, 2008; Yang & Irudayaraj, 2001; Yang, Irudayaraj, & Paradkar, 2005).

5.1. Determinación de la composición química de los alimentos.

En los últimos años, se ha estudiado la posibilidad de aplicar esta técnica para obtener de forma rápida y sencilla la composición química de los alimentos, especialmente, de aquellos parámetros relacionados con la calidad de los mismos. Así, ya en 2001, Ripoche y Guillard utilizaron la técnica para conocer el contenido en ácidos grasos de unas muestras de tejido graso, así como, para intentar identificar cada uno de los ácidos grasos presentes (Ripoche & Guillard, 2001). En este trabajo, los autores estiman el contenido en los distintos ácidos grasos con un coeficiente de regresión cuadrático de 0,96 para los ácidos grasos saturados y de 0,98 tanto para los monoinsaturados como para los polinsaturados. En 2004, Etzion *et al.* usaron esta técnica para conocer el contenido en proteína de unas muestras de leche, parámetro que sirve para conocer la

calidad nutritiva de la misma (Etzion et al., 2004). La estimación del contenido en proteína estaba influenciada por la presencia de otros componentes de la leche como el agua, la grasa o la lactosa y por lo tanto, era necesario conocer el contenido en estos elementos para poder obtener una estimación más precisa.

A partir de 2008, el número de estudios realizados en este ámbito ha aumentado considerablemente. Ruiz *et al.* aplicaron esta técnica para poder establecer una relación entre el color de la piel de unas muestras de albaricoque con su contenido en carotenoides, obteniendo así un método rápido de análisis de este elemento (Ruiz et al., 2008). Sin embargo, los resultados obtenidos por estos autores no fueron satisfactorios, ya que aunque los coeficientes de regresión cuadráticos eran elevados en la calibración del método (entre 0,68 y 0,95), estos alcanzaban valores bajos (entre 0,10 y 0,44) durante la validación del mismo, por lo que el error cometido era alto. Wu *et al.* analizaron el contenido en grasa y proteína de unas muestras de leche deshidratada, siendo 0,956 en ambos casos el coeficiente de regresión cuadrático de las rectas entre los valores reales y estimados (D. Wu et al., 2008). En 2009, este mismo autor intentó determinar la composición en elementos minerales de unas muestras de leche deshidratada (Di Wu, He, Shi, & Feng, 2009). Su principal objetivo era conocer el contenido en hierro y zinc, ya que estos minerales son esenciales en la nutrición humana. Sin embargo, estos autores no fueron capaces de señalar a qué número de onda aparece el pico producido por cada uno de estos elementos. Aun así, tras el tratamiento estadístico de los espectros, estos autores consiguen obtener unos coeficientes de regresión cercanos a 0,9, siendo los resultados mejores que los obtenidos con el análisis mediante espectroscopia en el infrarrojo cercano (NIR). De forma similar, en este mismo año, Soyeurt *et al.* evaluaron la posibilidad de utilizar la espectroscopia MIR para determinar el contenido en Ca, K, Mg, Na y P de la leche de vaca, obteniendo únicamente resultados satisfactorios en los modelos de predicción del Ca y P (0,87 y 0,85, respectivamente) (Soyeurt, 2009). Así mismo, en 2009, Shiroma y Rodríguez-Saona utilizaron esta técnica para conocer la humedad y el contenido en grasa que poseían unas muestras de patatas fritas y así conocer su calidad (Shiroma & Rodríguez-Solona, 2009). Mediante esta técnica, estos autores también consiguieron determinar de forma rápida el grado de oxidación debido al uso de aceites de fritura parcialmente hidrogenados por la vibración del enlace C-H.

Por último, los estudios más recientes son del año 2011. Scibisz *et al.* consiguieron medir mediante esta técnica la composición en sólidos solubles, la acidez total, el contenido de ácido cítrico y la concentración de los principales azúcares de una serie de variedades de tomates, para así poder determinar su calidad y su estado de madurez (Scibisz et al., 2011). Estos autores concluyeron que esta técnica era excelente para la estimación del contenido en sólidos solubles y la materia seca, siendo algo peor

para la determinación de la acidez y el contenido en glucosa. Sin embargo, también explicaron que la espectroscopia MIR no servía para la predicción del contenido en ácido málico de los tomates, dado que este componente se encuentra en muy baja concentración. Y Shen *et al.* utilizaron la técnica para determinar la calidad de un producto tradicional chino, el vino de arroz, mediante el análisis del contenido en azúcares y el grado de acidez del mismo (Shen, Ying, Li, Zheng, & Hu, 2011). También intentaron mediante un análisis de componentes principales clasificar las muestras por su diferente proceso de producción y origen, aunque los resultados obtenidos no fueron muy satisfactorios. Por ello, estos autores concluyen que es necesario realizar más estudios que incorporen más muestras de diferentes variedades y orígenes.

5.2. Detección de la presencia de bacterias en alimentos.

En 1984, Naumann demostró que la espectroscopia MIR era capaz de detectar, identificar y caracterizar bacterias ya que éstas presentan un espectro característico pudiendo llegar a ser único para cada tipo de cepa (Naumann, 1984). La especificidad se atribuye a que el espectro refleja toda la composición bioquímica de los microorganismos, con bandas asociadas a sus principales constituyentes entre los que se encuentran los lípidos, las proteínas, los ácidos nucleicos y los polisacáridos. Mariey *et al.* y, más recientemente, Burgula *et al.* han recopilado las aplicaciones de la espectroscopia FT-MIR para la detección de bacterias (Burgula *et al.*, 2007; Mariey, Signolle, Amiel, & Travert, 2001).

Sin embargo, para la detección de alteraciones de la carne por parte de microorganismos su aplicación es aún bastante reducida. En 2001, Ellis y Goodacre afirmaron que esta técnica sería más rápida y menos costosa que las actuales, entre las que destacan los análisis microscópicos basados en tinciones, la bioluminiscencia relacionada con las reacciones de ATP producidas por parte de las bacterias, la medida de fenómenos eléctricos producidos durante el crecimiento de las mismas, las detecciones basadas en los procesos inmunológicos o procedimientos relacionados con el análisis de ácidos nucleicos (Ellis & Goodacre, 2001).

Ellis *et al.* aplicaron esta técnica para la medida de los cambios bioquímicos producidos en carne de pollo para intentar mejorar tanto la precisión como la rapidez de detección de la posible alteración por parte de los microorganismos (Ellis, Broadhurst, Kell, Rowland, & Goodacre, 2002). El estudio lo llevaron a cabo con pechuga de pollo, que dejaron a temperatura ambiente para su alteración durante 24 horas, realizando medidas cada hora directamente sobre la superficie de la carne. De forma paralela, para autentificar los resultados, llevaron a cabo análisis clásicos mediante siembras. De esta forma, determinaron que los picos observados entre 1500 y 700 cm^{-1} estaban relacionados con la alteración, aunque no pudieron asociar un único punto a dicho

proceso. Además, fijaron el umbral para separar entre carne fresca y alterada en 10^7 bacterias/g. Concluyendo finalmente, que el método FT-MIR podía ser de ayuda en el proceso de determinación de puntos críticos de control en las industrias. Dos años más tarde, estos mismos autores estudiaron el potencial de esta técnica para el análisis de alteración de carne de vacuno (Ellis, Broadhurst, & Goodacre, 2004). Sin embargo, los resultados obtenidos no fueron tan buenos, lo que asociaron con el menor nivel de alteración alcanzado en la carne de vacuno en comparación con la de pollo.

En 2009, Ammor *et al.* monitorizaron la alteración de carne de vacuno envasada de forma convencional y mediante envases activos a cuatro diferentes temperaturas (Ammor, Argyri, & Nychas, 2009). Estos autores aseguran que consiguieron clasificar de forma correcta el 100 % de las muestras, además de poder diferenciar el tipo de envases en los que las muestras habían sido conservadas.

Por último, Sahar estudió el uso de la espectroscopia MIR como técnica para monitorizar la alteración microbiana en pechugas de pollo almacenadas en aerobiosis a dos temperaturas diferentes, 5 y 15 °C respectivamente (Sahar, 2014). Este autor, además, consiguió clasificar correctamente el 100 % de las muestras en función del tiempo de almacenamiento y estableció modelos de predicción de recuentos de bacterias viables con valores de R^2 de entre 87 y 99 %.

5.3. Determinación de la autenticidad de los alimentos.

La determinación del origen geográfico de los alimentos puede llevarse a cabo mediante diferentes técnicas entre las que se pueden encontrar la espectroscopia de masas, las técnicas de separación (cromatografía y electroforesis), las técnicas espectroscópicas (espectroscopia de resonancia magnética nuclear, espectroscopia de fluorescencia, espectroscopia atómica o espectroscopia de infrarrojo) y otras técnicas de tipo sensorial (Luykx & Van Ruth, 2008).

Diversos estudios han utilizado la espectroscopia MIR para diferenciar según el origen geográfico muestras de vino, queso, aceite de oliva o miel (Romdhane Karoui, Bosset, Mazerolles, Kulmyrzaev, & Dufour, 2005; Oussama, Elabadi, Platikanov, Kzaiber, & Tauler, 2012; Picque, Cattenoz, Corrieu, & Berger, 2005; Ruoff *et al.*, 2006; Tapp, Defernez, & Kemsley, 2003).

En el caso del aceite de oliva, se ha conseguido diferenciar aceites procedentes de diferentes países europeos, siendo además, productos de diferentes variedades, lo que probablemente, haya ayudado a dicho logro. Además, se han conseguido obtener espectros prácticamente idénticos cuando se analizaban réplicas de una misma

muestra, aunque los análisis se realizasen con unos días de diferencias, lo que aseguraría la reproductibilidad del método (Tapp et al., 2003).

De forma similar, Oussama *et al.* estudiaron la posibilidad de cuantificar la adulteración del aceite oliva virgen extra con aceite de soja y girasol mediante el empleo de la espectroscopia MIR (Oussama et al., 2012). Los modelos utilizados explicaban el 99,9 % de la varianza y predecían con una probabilidad del 100 % ambos tipos de adulteraciones en una validación externa. Además, los modelos de regresión eran capaces de predecir la concentración del aceite de girasol y de soja adulterante cuando este variaba entre el 1 y 24 %, con un error de predicción relativo en el proceso de validación externa del 3 %.

Por otro lado, tal como explican Ruoff *et al.* en su trabajo, también es posible el uso de la espectroscopia MIR para identificar el origen geográfico de distintas muestras de miel (Ruoff et al., 2006). Sin embargo, como concluyen estos autores, las diferencias geográficas encontradas con este método se pueden atribuir principalmente a las variaciones en el origen botánico de las flores.

5.4. Determinación de las características de los alimentos en función del sistema de producción.

Aunque en este aspecto la espectroscopia MIR no está muy evolucionada, existen dos ejemplos de su posible aplicación. El primero de ellos fue estudiado por Cozzolino *et al.* en el que pretendían el uso de este método para intentar diferenciar muestras de vino según su producción hubiese sido de tipo ecológica o industrial (Cozzolino, Holdstock, Damberg, Cynkar, & Smith, 2009). En este estudio, consiguen mediante un análisis estadístico de componentes principales diferenciar la mayor parte de las muestras, lo que concluyen que se debe no solo a un componente del vino sino a la compleja mezcla de todos ellos.

En el otro ejemplo, Arce *et al.* consiguen diferenciar muestras de grasas subcutáneas procedentes de cerdos que habían sido alimentados de forma diferente (Arce et al., 2009). Por un lado, unos cerdos se habían producido de forma extensiva alimentándose únicamente de alimentos naturales, lo que es conocido como sistema de montanera. El resto de cerdos habían recibido una alimentación a base de formulados comerciales, diferenciándose dos grupos: los que había recibido alimentación estándar y los que habían sido alimentados con formulaciones especiales ricas en ácido oleico. Ambos ejemplos, permitirían tener un sistema de análisis rápido y detectar de forma precisa el sistema de producción evitando así los fraudes.

5.5. Aplicaciones de la espectroscopia MIR en el análisis de muestras de carne.

Como se puede observar en esta breve revisión bibliográfica de aplicaciones y perspectiva futuras de la técnica, su uso en el análisis de muestras de carne es aún muy reducido, quedando casi limitado a la determinación de alteraciones de origen microbiano. También se han llevado a cabo estudios para intentar detectar fraudes por la adulteración de carne con muestras de otras especies de menor calidad o precio, con proteínas de origen vegetal o con grasas de otras especies (Al-Jowder et al., 1999; Al-Jowder, Kemsley, & Wilson, 1997; Al-Jowder et al., 2002; Alamprese, Casale, Sinelli, Lanteri, & Casiraghi, 2013; Meza-Márquez, 2010; Rohman, 2011).

Por ejemplo, Al Jowder *et al.* diferencian entre carne cruda picada de pollo, cerdo y pavo mediante el uso del análisis de componentes principales (Al-Jowder et al., 1997). Adicionalmente, en cada una de las especies, intentan diferenciar entre carne fresca y carne que ha sufrido un proceso de congelación y descongelación. También, Downey *et al.* dijeron que habían sido capaces de discriminar entre carne picada de pollo, pavo, cerdo, ternera y cordero basándose en el uso de espectroscopia MIR junto al visible y al NIR (Downey, McElhinney, & Fearn, 2000). Más tarde, Al Jowder *et al.* consiguieron diferenciar entre músculo y diferentes tejidos viscerales (riñón, hígado, etc.) y detectar la adulteración por parte de estos mismos tejidos tanto en carne cruda como cocinada de ternera (Al-Jowder et al., 1999; Al-Jowder et al., 2002). Y en 1999, McElhinney *et al.* utilizaron la espectroscopia MIR y vis-NIR para determinar el porcentaje de cordero de unas mezclas de carne picada de cordero y ternera (McElhinney, Downey, & O'Donnell, 1999).

El gran desarrollo de estos estudios se ha debido principalmente a la mayor concienciación actual sobre la importancia de cumplir la normativa en cuanto a etiquetado y por las objeciones de origen religioso que existen al consumo de determinadas especies animales. Por otro lado, han sido pocos los estudios llevados a cabo mediante FT-MIR para determinar parámetros químicos de productos cárnicos. Solo Qiao *et al.* estudiaron el potencial de este método en la determinación del contenido en aminoácido de las dietas de los animales (Qiao & Van Kempen, 2004). Por ello, el campo de estudio en el ámbito de la carne es aún muy amplio, siendo muy numerosos los estudios que se pueden llevar a cabo. En la Tabla 1 se recopilan las aplicaciones de la espectroscopia MIR al análisis de productos cárnicos.

Tabla 1. Aplicación de espectroscopia MIR en productos cárnicos.

Parámetro	Tratamiento previo de la muestra	Forma de medida	Rango de números de onda (cm⁻¹)	Referencia bibliográfica
Diferenciación entre carne picada de cerdo, pollo y pavo. Y entre carne fresca y descongelada.	Picado de las muestras	Reflectancia	4000-800	(Al-Jowder et al., 1997)
Diferenciación entre músculo y tejido visceral.	Ninguno	Reflectancia	4000-800	(Al-Jowder et al., 1999)
Determinación del contenido de cordero en carne picada de ternera y cordero.	Picado de las muestras	Reflectancia	4000-640	(McElhinney et al., 1999)
Diferencias entre carne picada cruda de cerdo, pollo, pavo, ternera y cordero.	Picado de las muestras	Reflectancia	4000-640	(Downey et al., 2000)
Crecimiento bacteriano en carne de pollo.	Ninguno	Reflectancia	4000-600	(Ellis et al., 2002)
Diferencias entre carne cruda de ternera y ternera con un contenido del 20 % de adulterantes (tejido visceral).	Ninguno	Reflectancia	4000-800	(Al-Jowder et al., 2002)
Crecimiento bacteriano en carne de ternera.	Ninguno	Reflectancia	4000-600	(Ellis et al., 2004)
Composición en aminoácidos de las dietas animales.	Ninguno	Reflectancia	4000-650	(Qiao & Van Kempen, 2004)
Ternera almacenada al aire, en atmósfera modificada y en envases activos.	Ninguno	Reflectancia	4000-400	(Ammor et al., 2009)
Detección de adulteraciones de carne picada de ternera con carne de caballo, restos de grasa o proteína vegetal.	Ninguno	Reflectancia	4000-650	(Meza-Márquez, 2010)
Detección de adulteración con grasa de cerdo de "Meatball" (comida tradicional indonesia).	Extracción previa de la grasa de las muestras	Reflectancia	4000-650	(Rohman, 2011)
Determinación adulteración en carne picada de ternera con pavo.	Picado y homogeneización	Reflectancia	4000-700	(Alamprese et al., 2013)
Crecimiento bacteriano en pechugas de pollo.	Ninguno	Reflectancia	4000-700	(Sahar, 2014)

CAPÍTULO II. OBJETIVOS

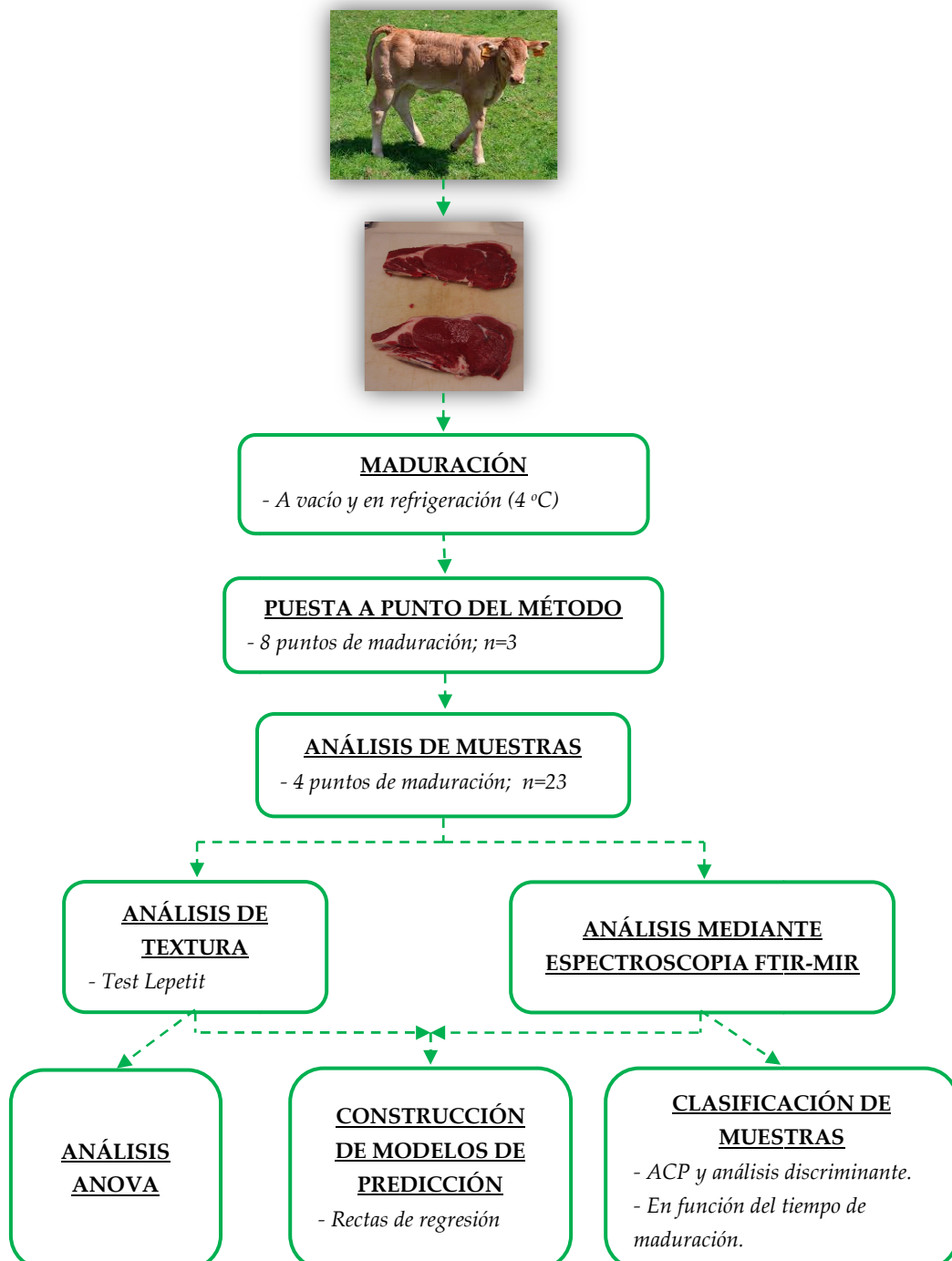
El objetivo principal que se pretende alcanzar con el presente trabajo final de máster es aplicar la espectroscopia de infrarrojo medio basada en la Transformada de Fourier (FTIR-MIR) como técnica de análisis de la textura de la carne en muestras de terneros. Este objetivo general incluye los siguientes objetivos específicos:

1. Determinar la evolución de la textura de la carne de ternero de la IGP Ternera de Navarra durante el proceso de maduración, empleando estas medidas como valores de referencia para la construcción de los modelos de predicción.
2. Caracterizar los espectros de absorción infrarrojos de las muestras de carne en distintos tiempos de maduración, identificar las bandas o números de onda más representativas en los espectros y asignar las bandas con la vibración de los enlaces que producen su aparición.
3. Aplicar el Análisis de Componentes Principales (ACP) junto con el análisis discriminante a los datos espectrales como métodos para clasificar las muestras en función del período de maduración.

CAPÍTULO III. MATERIAL Y MÉTODOS

El capítulo de material y métodos se divide en cuatro secciones. En la primera de ellas se describe el diseño experimental empleado en este trabajo. En la segunda sección se señala el tipo de muestras empleadas, su recogida y conservación. La tercera parte incluye la descripción de los análisis de composición química, textura instrumental y espectroscopia FTIR-MIR empleados. En el cuarto y último capítulo se detalla el tratamiento estadístico aplicado a los datos.

1. Diseño experimental.



En el esquema anterior se muestra el diseño experimental seguido en este trabajo final de máster. A partir de terneros de la IGP Ternera de Navarra, se obtuvieron muestras del músculo *Longissimus dorsi* y se les sometió a un proceso de maduración a vacío y en refrigeración, manteniendo la temperatura constante a 4 °C. En una primera etapa, se realizó una puesta a punto del método, utilizando muestras pertenecientes a 3 terneros distintos y con 8 puntos de maduración diferentes. Tras ello, se decidió reducir el número de días de maduración empleados a 4 y se analizaron muestras de 23 terneros. La textura fue analizada mediante el test de Lepetit y con los datos obtenidos, se realizaron análisis de la varianza. Las muestras también fueron analizadas mediante espectroscopia de infrarrojo medio (FTIR-MIR) y los espectros fueron clasificados en función del tiempo de maduración mediante el empleo del análisis de componentes principales (ACP) junto con el análisis discriminante. Los datos obtenidos de los dos métodos analíticos fueron empleados para la construcción de modelos de predicción de la textura de la carne.

2. Material animal.

Para la realización de este trabajo final de máster se utilizaron muestras de 26 terneros machos pertenecientes a la Indicación Geográfica Protegida (IGP) Ternera de Navarra. Según la normativa vigente (BON108/2000), los terneros tendrán una edad comprendida entre 9 y 13 meses. Las canales estarán clasificadas en algunas de las categorías SEUR y el estado de engrasamiento estará comprendido entre las clases 2 y 3. El color de la carne debe ser rojo, entre los valores 2 (rosa) y 4 (rojo). Transcurrido 24 horas, el pH de las muestras no puede ser superior a 6.

Tras el sacrificio de los terneros, sus canales se mantuvieron enteras y en refrigeración hasta que, transcurridas 48 horas del sacrificio del animal, se procedió a su despiece. Durante este tiempo, no se les aplicó ningún tratamiento que pudiese influir en la terneza final de la carne.

2.1. Recogida y conservación de las muestras.

Las muestras fueron adquiridas en el matadero La Protectora S.A. de Pamplona (Navarra) cuando habían transcurrido entre 48 y 72 horas desde el sacrificio de los animales. De cada uno de ellos se recogieron dos filetes del músculo *Longissimus dorsi* de la zona entre la sexta y la octava vértebra lumbar. Desde la sala de despiece del matadero se proporcionaron los dos filetes de cada animal envasados en una bandeja de poliestileno expandido y recubiertos con un plástico protector, tal y como muestra la Figura 16. Además, en cada bandeja se encontraban las etiquetas identificativas que

informaban de las características del animal al que pertenecían las muestras. Las muestras fueron trasladadas hasta la Universidad Pública de Navarra en recipientes refrigerados para no romper la cadena de frío.



Figura 16. Muestras envasadas en una bandeja de poliestireno expandido con sus correspondientes etiquetas identificativas.

Una vez en las instalaciones de la universidad, se procesaron. En un primer paso, se separó el músculo *Longissimus dorsi* del resto de músculos presentes en el filete, que no eran interesantes para el estudio que se iba a llevar a cabo (Figura 17). Tras ello, cada músculo se dividió en 4 trozos, de modo que de cada animal se disponía de 8 muestras diferentes, 4 para el análisis de su textura y 4 para la realización de las medidas mediante espectroscopia de infrarrojo medio (FTIR-MIR). Una vez troceados, cada muestra fue envasada en una bolsa a vacío mediante una envasadora A-400 (Ghizzoni, Italia) y se procedió a su maduración. Para ello, se colocaron las muestras en una cámara frigorífica a 4 °C (Figura 18).

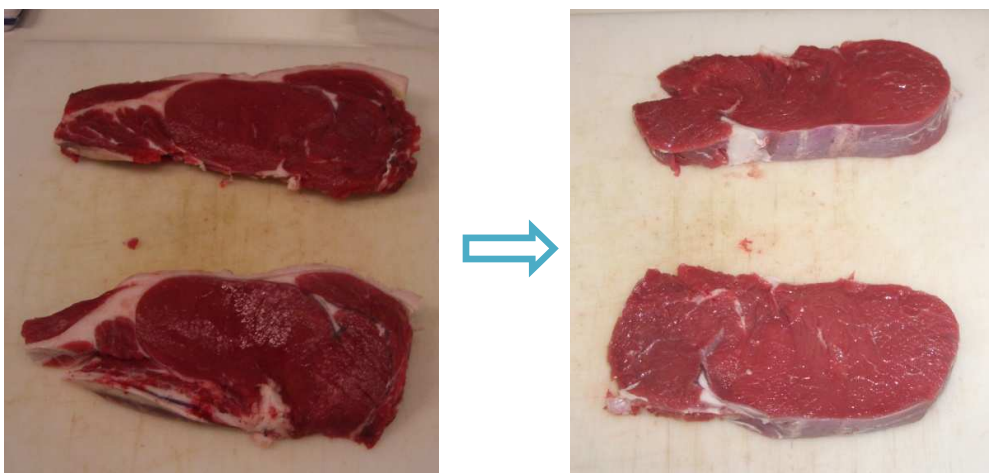


Figura 17. Muestras antes y después de separar los músculos no deseados para este estudio.



Figura 18. Almacenamiento de las muestras durante la maduración.

Para aumentar el rango de valores de textura obtenidos y poder disponer de un modelo de predicción más robusto, se utilizaron distintos puntos de maduración. En la Tabla 2 se recogen los puntos utilizados, es decir, los días transcurridos desde el sacrificio hasta su congelación, y el número de animales en cada uno de ellos. Transcurrido el tiempo de maduración establecido para cada muestra, se procedió a su congelación a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su posterior análisis.

Tabla 2. Número de animales estudiados en cada punto de maduración (días transcurridos desde el sacrificio).

Punto de maduración (días)	Número de animales
2	9
4	20
6	20
9	9
11	20
13	9
16	9
18	20

3. Análisis de las muestras.

3.1. Composición química de la carne.

Para la determinación de la composición química de las muestras se utilizaron los músculos adyacentes al estudiado.

3.1.1. Determinación de humedad.

El análisis de humedad de las muestras se realizó siguiendo la norma ISO R-1442 y los Métodos de Análisis de Productos Cárnicos (BOE20/1/1982). En primer lugar, las cápsulas de porcelana, que contenían una varilla de vidrio y una cantidad de arena igual a 3-4 veces el peso de la muestra se secaron en una estufa a $102 \pm 2^\circ \text{C}$ durante 30 minutos. Transcurrido este tiempo, se sacaron las cápsulas de la estufa y se introdujeron en el desecador, hasta que alcanzaron la temperatura ambiente. En ese momento, se pesó el conjunto (cápsula, arena, varilla) con una precisión de 0,1 mg (P_0). Tras ello, se colocaron en las cápsulas aproximadamente 5 g de muestra y se pesaron nuevamente teniendo en cuenta la misma precisión (P_1). A continuación, se añadieron a las cápsulas 5 ml de etanol al 95 % y se removió la mezcla con la varilla de vidrio. Después, se colocaron las cápsulas en un baño de agua a una temperatura entre $60-80^\circ \text{C}$, hasta la evaporación del etanol. Luego, se secaron las muestras durante 4 h en la estufa a $102 \pm 2^\circ \text{C}$. Una vez secadas las muestras, se retiraron las cápsulas de la estufa y se colocaron en el desecador, hasta temperatura ambiente. Por último, se pesaron de nuevo el conjunto con una precisión de 0,1 mg, repitiendo la operación el número de veces que fuese necesario hasta que se alcance peso constante (P_2).

El porcentaje de humedad se calcula con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ humedad} = \frac{(P_1 - P_2) \times 100}{(P_1 - P_0)}$$

Siendo:

- P_0 = peso, en gramos, de la cápsula, la varilla y la arena.
- P_1 = peso, en gramos, de la cápsula, la varilla, la arena y la muestra antes de secado.
- P_2 = peso, en gramos, de la cápsula, la varilla, la arena y la muestra después del secado.

Para cada una de las muestras, el proceso se realizó por duplicado.

3.1.2. Determinación del contenido en grasa.

El análisis del contenido en grasa de la muestra se realizó según la norma ISO-1443 y los Métodos de Análisis de Productos Cárnicos (BOE20/1/1982). Antes de iniciar el procedimiento, fue necesario secar los matraces durante unas horas en la estufa para eliminar todo el agua que pudiesen contener y así poder conocer su peso seco (P_0).

El primero paso del procedimiento consistió en pesar 2,5 gramos de muestra (P_2), con una aproximación de 1 mg, e introducir la muestra en uno de los matraces. Tras ello, se

añadieron 100 ml de ácido clorhídrico 3 M y unos trozos de piedra pómez. A continuación, se cubrió la boca del matraz con un vidrio de reloj y se mantuvo en ebullición suave durante 1 hora en una placa calefactora. Tras su enfriamiento, se filtró sobre un doble filtro evitando cualquier paso de materia grasa al filtrado. A continuación, se lavó el residuo con agua fría hasta la desaparición de la reacción ácida, verificando que en el filtrado no existiese materia grasa. Ese filtro, que contenía el residuo, se colocó sobre un vidrio de reloj y se desecó durante hora y media en una estufa a 95-98° C.

Tras ello, se realizó una extracción Soxhlet que consistió en introducir el papel de filtro con el residuo en un cartucho de extracción. Para realizar esta operación, era necesario colocar sobre el matraz de destilación el cuerpo del Soxhlet y añadir éter etílico hasta que éste sifonase, echando un poco más en previsión de que se pudiese evaporar. A continuación, se colocó el cartucho en el cuerpo del Soxhlet, se introdujo el matraz dentro del baño de agua caliente (aproximadamente a 80° C) y se montó el sistema de refrigeración (Figura 19). Una vez colocados los sistemas de extracción en línea se abrió el grifo del agua para que ésta circulase y refrigerase el conjunto. Después de seis horas de extracción se eliminó el disolvente del matraz con un rotovapor. Para asegurarse que todo el disolvente fuera eliminado, se introdujo el matraz en una estufa, donde se mantuvo al menos durante hora y media a 75° C. Una vez enfriado el matraz en el desecador y alcanzado la temperatura ambiente, se pesó, repitiendo la pesada hasta que se hiciese constante (P_1).



Figura 19. Sistema para extracción de grasa.

El porcentaje de grasa se calcula con la siguiente fórmula:

$$\% \text{grasa} = \frac{P_1 - P_0}{P_2} \times 100$$

Siendo:

- P₀= peso, en gramos, del matraz.
- P₁= peso, en gramos, del matraz con la grasa.
- P₂= peso, en gramos, de la muestra.

Para cada una de las muestras, el proceso se realizó por duplicado.

3.1.3. Determinación del contenido en proteína.

La determinación del contenido en proteína de la muestra se llevó a cabo según la norma ISO-937 y los Métodos de Análisis de Productos Cárnicos (BOE20/1/1982). El procedimiento consistió en pesar entre 1 y 3 gramos de las muestras y colocarlos en un matraz Kjeldahl, junto con unos granos de piedra pómez, 15 gramos de sulfato potásico, 0,5 gramos de sulfato de cobre y una punta de espátula de selenio en polvo. Tras lo cual se agregaron 25 ml de ácido sulfúrico, se mezclaron la muestra y los reactivos mediante rotación y se colocó el matraz en una batería calefactora, poniéndose un embudo adecuado en la boca. Al principio se calentó suavemente y cuando el conjunto adquirió una cierta decoloración, se aumentó la intensidad de calefacción, agitando de vez en cuando con suavidad por rotación. Una vez que el líquido quedó transparente o con una coloración azul verdosa, se prolongó la ebullición al menos hora y media. Transcurrido ese tiempo, se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y se añadió con precaución 100 ml de agua destilada al matraz, disolviendo por rotación suave el sulfato potásico cristalizado.

Por otro lado, se añadieron 25 ml de ácido bórico al 4 % y unas gotas de indicador a un matraz erlenmeyer de 250 ml y se introdujo la alargadera del aparato de destilación hasta el fondo del erlenmeyer. De forma similar, se ajustó el matraz con la muestra al aparato. Cuando ambos estuvieron correctamente colocados, se agregaron 100 ml de agua destilada y 100 ml de disolución de hidróxido sódico al 40 % desde el depósito superior del equipo. Tras ello, se calentó el conjunto hasta alcanzar la ebullición. Una vez alcanzado este punto, se continuó con el proceso hasta que se consiguió recoger 150 ml de destilado o hasta el momento en que la ebullición se produjo a golpes. Tras ello, se retiró el erlenmeyer, se lavó la alargadera y el interior del refrigerante, recogiendo sobre el destilado las aguas del lavado. A continuación, se procedió a valorarlo con ácido clorhídrico 0,1 M hasta que volvió a tener la coloración original,

violeta. También se efectuó una prueba en blanco, utilizando 5 ml de agua destilada en vez de la muestra, realizando todo el procedimiento de forma idéntica.

El porcentaje de proteína se calcula con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de } N \text{ total} = \frac{0,14 \times f \times (V_1 - V_2)}{P}$$

$$\% \text{ de proteína total} = 6,25 \times \% \text{ de } N \text{ total}$$

Siendo:

- f= factor de ácido clorhídrico
- V₁= volumen en ml de ácido clorhídrico gastado en la valoración.
- V₂= volumen en ml de ácido clorhídrico gastado en el ensayo en blanco.
- P= peso en gramos de la muestra.

Para cada una de las muestras, el proceso se realizó por duplicado.

3.2. Determinación de la textura de las muestras.

El día previo al análisis de la textura, las muestras fueron descongeladas en un frigorífico a 4 °C durante 24 horas. La textura fue determinada mediante el empleo de un texturómetro Texture Analyzer TA-XT2i (Stable Micro System, Reino Unido) siguiendo el método de compresión de Lepetit (Lepetit, 1994), mediante una sonda adaptada a dicho método (Figura 20). Esta sonda, dispone de un émbolo, que es el encargado de comprimir la muestra, y un soporte de 1 cm de ancho por 1 cm de alto que la alberga.



Figura 20. Texturómetro Texture Analyzer TA-XT2i (Stable Micro System, Reino Unido) (izquierda) y detalle de la sonda Lepetit empleada (derecha).

Para llevar a cabo éste método fue necesario trocear las muestras en pequeños paralelepípedos de aproximadamente 1 cm x 1 cm (alto x ancho), siendo su corte longitudinal paralelo al sentido de las fibras de la muestra. Al realizar los cortes fue necesario evitar las zonas de nervios y tendones que podrían alterar los resultados de los análisis. Tras obtener los paralelepípedos, las muestras fueron almacenadas en refrigeración a 4 °C durante una hora. Transcurrido ese tiempo, las muestras ya estaban listas para su análisis. El número de repeticiones realizadas por cada muestra fue 8.

Con este análisis se obtienen dos tipos de variables. Por un lado, el esfuerzo que es la fuerza realizada por unidad de superficie de contacto de la muestra cuando se han aplicado los distintos porcentajes de compresión. El valor obtenido al 20 % de compresión está relacionado con la resistencia miofibrilar de la carne, mientras que el valor al 80 % de compresión nos informa de la resistencia ejercida por el colágeno presente en la carne (Sarriés & Beriain, 2006). El valor final, al 100 % de compresión, es la máxima fuerza que resisten las fibras antes de romperse totalmente. Por otro lado, el área debajo de la curva entre los diferentes valores de compresión se corresponde con el trabajo realizado en ese recorrido, y el área completa es el trabajo total realizado. En la Tabla 3 se resumen las variables obtenidas.

Tabla 3. Variables obtenidas en el análisis instrumental de la textura mediante el test de Lepetit.

Esfuerzo (kg/cm²)	Compresión (%)
1	20
2	40
3	60
4	80
5	100
Área (kg.cm)	Intervalo de compresión (%)
1-2	0-20
2-3	20-40
3-4	40-60
4-5	60-80
5-6	80-100
1-6	0-100

3.3. Análisis de las muestras mediante espectroscopia FTIR-MIR.

De igual forma que con el análisis de la textura, 24 horas antes de realizar los análisis mediante espectroscopia FTIR-MIR, las muestras fueron descongeladas en un frigorífico a 4° C.

El mismo día de cada análisis las muestras ya descongeladas fueron extraídas de las bolsas de vacío y troceadas. Esto era imprescindible debido a la ubicación del equipo de espectroscopia FTIR-MIR utilizado. Éste se encuentra situado en una sala limpia del Centro de I+D en Electrónica y Comunicaciones Jerónimo de Ayanz (Universidad Pública de Navarra). En esta sala se controla la temperatura, que de forma constante se mantiene a 22° C, y la concentración de partículas presentes en el aire. Por ello, era necesario reducir al mínimo el número de cuerpos externos introducidos, lo que requería el troceado previo de las muestras que se conservaban en papel de aluminio, manteniendo la numeración utilizada en las bolsas de vacío.

El instrumento de medida utilizado en este trabajo fue un espectrómetro FTIR Vertex 80v (Bruker, Alemania) (Figura 21). Este equipo permite trabajar realizando vacío en el sistema óptico lo que reduce las interferencias que el vapor de agua o el dióxido de carbono pudieran producir en las medidas.

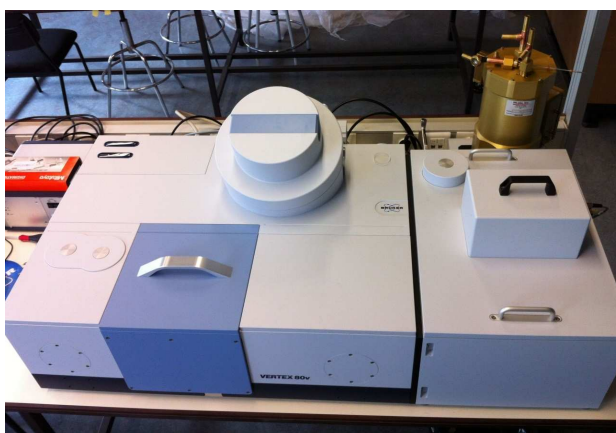


Figura 21. Equipo FTIR Vertex 80v.

Para la asegurar la repetibilidad del método de medida durante todo el trabajo, se procedió al establecimiento de un experimento base común a todas las medidas. El rango de número de onda utilizado se fijó entre 4.000 y 400 cm^{-1} , utilizando una fuente Global (ancho de banda, 50-6.000 cm^{-1}), un divisor de haz de KBr (400-10.000 cm^{-1}) y un detector DLaTGS (250-10.000 cm^{-1}). El número de escaneos se estableció en 32 con una resolución de 4 cm^{-1} . Además, todas las medidas fueron realizadas con el equipo a 25°C, reduciendo así las posibles interferencias producidas por los cambio de

temperatura en el mismo. Las medidas se realizaron con un accesorio A225/QPlatinum-ATR (Bruker, Alemania) compuesto por un cristal de diamante (Figura 22).



Figura 22. Accesorio ATR empleado.

El proceso de medida seguido siempre fue el mismo. En primer lugar, se tomó un espectro de referencia con el dispositivo ATR vacío. Esta referencia se tomaba antes de cada medida porque se observó que si se realizaba más de una medida con la misma referencia, los espectros obtenidos no eran limpios, es decir, presentaban mayor cantidad de ruido. Tras obtener cada referencia, se midió el espectro de cada una de las muestras para lo que fue necesario colocar un trozo de la misma sobre el cristal, asegurándose que ésta lo tapaba totalmente y que existía un buen contacto entre la muestra y el cristal. Para conseguirlo, se presionaba ligeramente la muestra con el émbolo presente en el accesorio ATR. Entre el análisis de una muestra y la siguiente referencia, el cristal del ATR se limpiaba con 2-Propanol (99,5 %, Panreac) y paños apropiados para la limpieza de material de óptica, evitando así su daño. En total se realizaron 6 repeticiones por muestra analizada.

4. Tratamiento estadístico de los datos.

En primer lugar, con los datos de textura se realizaron análisis de la varianza (ANOVA) para establecer relaciones y diferencias entre los datos obtenidos, y para encontrar una relación entre ellos y los factores que pudiesen afectar a la terneza de la carne. Para ello, se empleó SPSS v.20 (IBM Statistics).

En cuanto a los datos obtenidos mediante espectroscopia FTIR-MIR, se realizaron dos tipos de análisis. En primer lugar, se relacionó los datos de textura con los espectros. Para ello, se realizaron modelos de regresión mediante el programa OPUS Quant v.7 (Bruker, Alemania). Por otro lado, se intentó clasificar los espectros en función del tiempo de maduración aplicado. Para lo cual, en primer lugar, se realizó un análisis PCA (*Principal Component Analysis* o Análisis de Componentes Principales) para reducir el número de variables utilizadas. Posteriormente se empleó un análisis discriminante para su clasificación. Para realizar estos análisis se utilizó el programa SPSS v.20 (IBM Statistics).

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El apartado de resultados y discusión se ha dividido en cuatro partes. La primera de ellas resume las características de la canal y de la carne de los terneros empleados durante este trabajo. Así mismo, recoge las características de terneza de las muestras y su evolución durante el proceso de maduración. En la segunda parte se resumen las características de los espectros de infrarrojo de las muestras y la asignación de las bandas con la vibración de los enlaces que producen su aparición. En el tercer apartado se recogen los resultados obtenidos en la construcción de los modelos de estimación de la terneza de la carne a partir de las intensidades de absorción. En el cuarto, y último apartado, se clasifican las muestras según el período de maduración a partir exclusivamente de la información espectral.

1. Características de las canales y de la carne de los terneros.

1.1. Características de los terneros y sus canales.

Para la realización de este trabajo final de máster se utilizaron muestras procedentes de 26 terneros machos pertenecientes a la Indicación Geográfica Protegida (IGP) Ternera de Navarra. En este apartado, se va a realizar un pequeño estudio sobre las características medias de todos ellos. La información disponible para ello procede del sistema de trazabilidad que sigue el matadero (La Protectora S.A., Pamplona) y de la clasificación de las canales que es necesario llevar a cabo en todos los terneros con un peso vivo al sacrificio superior a 300 kg. Esta clasificación se realiza según Real Decreto 225/2008, de 15 de Febrero, por el que se aplica el modelo comunitario de clasificación de las canales de vacuno pesado y se regula el registro de los precios de mercado. Según esta información, todas las muestras procedían de canales que fueron clasificadas en la categoría A, lo que indica que eran machos jóvenes sin castrar de menos de dos años. En la Tabla 4 se observa que el peso vivo medio al sacrificio fue de 338 kg, siendo el peso máximo 397,5 kg y el mínimo 278,0 kg.

Tabla 4. Media (\bar{x}), desviación típica (σ) y coeficiente de variación (CV) del peso vivo y edad al sacrificio de los terneros.

	$\bar{x} \pm \sigma$	CV (%)
Peso vivo sacrificio (kg)	338 \pm 31	9,36
Edad sacrificio (días)	378 \pm 35	9,24

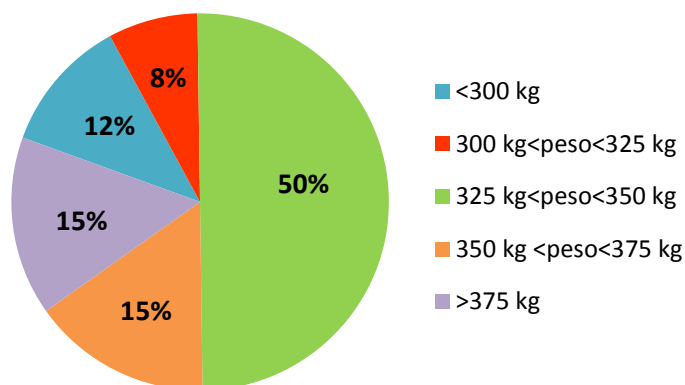


Figura 23. Distribución porcentual del peso de los terneros.

En la Figura 23 se indica el porcentaje de animales en cada una de las cinco categorías de pesos establecidas. El 50 % de las muestras analizadas poseían un peso vivo al sacrificio entre 325 y 350 kg. Por encima de 350 kg se encontraba el 30 % de las muestras. La mitad de estas (15 %) poseían un peso vivo al sacrificio entre 350 y 375 kg y la otra mitad (15 %), un peso superior a 375 kg. Además, el 12 % de los terneros analizados poseían un peso vivo al sacrificio menor de 300 kg y el 8 % restante, presentaba un peso de entre 300 y 325 kg.

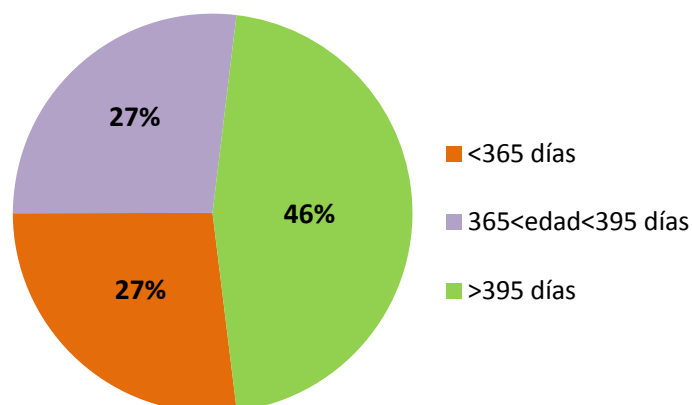


Figura 24. Distribución porcentual de la edad de los terneros en el momento del sacrificio.

Así mismo, en la Tabla 4 se muestra que la edad media al sacrificio fue de 378 días, siendo 315 días la edad del ternero más joven y 424 días la del más mayor. En la Figura 24, se observa el porcentaje de animales en cada una de las tres franjas de edad

establecidas. El 46 % de las muestras analizadas tenía una edad superior a los 395 días, es decir 13 meses, en el momento del sacrificio. Un 27 % presentaba una edad comprendida entre los 12 y 13 meses (entre 365 y 395 días) y el 27 % restante tenían una edad inferior a los 12 meses (365 días) en el momento del sacrificio. En el grupo de terneros menores de 1 año, según el RD 225/2008, es necesario indicar si pertenecen a la categoría V o Z en función de la edad, utilizándose V si son menores de 8 meses y Z para los que poseen una edad comprendida entre 8 y 12 meses. Los terneros analizados pertenecientes a este grupo fueron clasificados en la categoría Z.

Según la normativa vigente (RD225/2008), también es necesario clasificar las canales en función de su conformación, que es una característica referida al desarrollo de los perfiles de la canal y en particular, de las partes esenciales de la misma (cadera, lomo y paletilla). La clasificación se realiza en función de las letras SEUROP, siendo la S la que se emplea para las canales de mejor calidad y la P para las de peor. Además, también es posible realizar subclases dentro de un mismo nivel siendo (+) para superior, (-) inferior y nada para un nivel central. El 92 % de las muestras que se estudiaron en este trabajo, fueron clasificadas como U, lo que indica una conformación muy buena, es decir, las canales presentan perfiles convexos en conjunto con un fuerte desarrollo muscular. Dentro de estas muestras, el 70,8 % fueron clasificadas como de nivel superior, el 16,7 % de nivel central y el 12,5 % de nivel inferior. El 8 % restante de las canales fueron clasificadas como E (-), excelente inferior, es decir, todos los perfiles eran de convexos a superconvexos con un desarrollo muscular excepcional.

Igualmente, es necesario clasificar las canales en función del nivel de engrasamiento, es decir, teniendo en cuenta la importancia de la grasa en el exterior de la canal y en la cara interna de la cavidad torácica. La clasificación es numérica siendo 1 no graso y 5 muy graso. Así mismo, al igual que en el caso de la conformación, también es posible realizar subclases dentro de un mismo nivel siendo (+) para superior, (-) inferior y nada para un nivel central. En los animales estudiados, todos presentaban un nivel de engrasamiento 2, poco cubierto, es decir, las canales presentan una ligera cobertura de grasa y los músculos eran casi siempre aparentes. Sin embargo, el 12,5 % de ellas era de un nivel superior (2+), un 37,5 % de nivel central (2) y el 50 % restante de nivel inferior (2-).

1.2. Características de la carne.

1.2.1. Composición química.

Se analizó el contenido en humedad, proteína y grasa de las muestras empleando los métodos oficiales de análisis de productos cárnicos (BOE20/1/1982). En la Tabla 5 se recogen los resultados medios obtenidos para todas las muestras analizadas.

Tabla 5. Media (\bar{x}), desviación típica (σ) y coeficiente de variación (CV) de la composición química de las muestras.

	$\bar{x} \pm \sigma$	CV (%)
Humedad (%)	74,26 \pm 1,09	1,47
Proteína (%)	21,90 \pm 0,63	2,86
Lípidos (%)	2,62 \pm 0,91	34,97

El contenido medio de humedad de las muestras es 74,26 %, presentando un coeficiente de variación de 1,47 %. Así mismo, el contenido en proteína de las muestras analizadas es 21,90 %, con un coeficiente de variación de 2,86 %. Estas dos variables presentan coeficientes de variación bajos, inferiores todos ellos al 3 %, por lo que todos los animales tienen un contenido en humedad y proteína semejantes. Sin embargo, el contenido medio en lípidos de las muestras es 2,62 %, siendo su coeficiente de variación de 34,97 %. A la vista de estos resultados obtenidos, se puede concluir que estas muestras son poco grasas pero la variabilidad existente entre los diferentes animales estudiados es elevada. Estos resultados concuerdan con los obtenidos en un estudio anterior llevado a cabo por Lozano (2013), donde se estudió la composición química de carne perteneciente a diferentes especies animales. Según este estudio, las diferencias existentes entre terneros eran muy pequeñas en cuanto al contenido en humedad (1,29 %) y proteína (5,28 %), encontrándose grandes variaciones en el contenido en lípidos (55,78 %). Varios factores pueden modificar el contenido lipídico de las muestras: sexo, edad de sacrificio, alimentación y sistema de producción usado (Lozano, 2013). Dado que las muestras eran todos terneros machos, el efecto del sexo no tenía influencia en esta variabilidad encontrada. El resto de factores, al pertenecer las muestras a la IGP Ternera de Navarra, se encuentran más controlados. No obstante, como ya se ha comentado anteriormente, sí que existe variabilidad entre la edad de sacrificio de los animales de este estudio (Tabla 4). Aunque la alimentación y el sistema de producción usado se encuentran controlados por la normativa de la IGP, estos pueden variar de unas a otras al pertenecer los terneros a distintas explotaciones.

1.2.2. Terneza de las muestras.

Para determinar la terneza de las muestras se utilizó el método de compresión de Lepetit (Lepetit, 1994). Este método proporciona el valor del esfuerzo necesario a diferentes porcentajes de compresión y el área bajo la curva resultante de dicha compresión. En la Figura 25 se muestra la gráfica de compresión de una de las muestras analizadas durante este trabajo. En esta figura se aprecia como varía la fuerza necesaria para comprimir una muestra en función de la distancia recorrida por la sonda, siendo el valor máximo alcanzado el punto en el que la estructura de la muestra

se desorganiza. Este valor máximo no se alcanza cuando la sonda se ha desplazado 1 cm, ancho teórico de la muestra, debido a que las muestras no siempre median exactamente ese espesor. Además, pese a que en el momento final del ensayo la muestra se comprime totalmente, sigue teniendo un pequeño espesor residual dado que no se rompe.

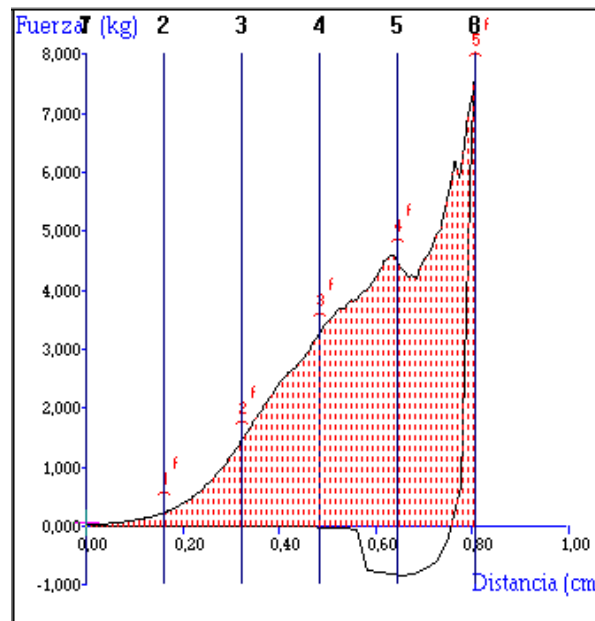


Figura 25. Gráfica de compresión característica obtenida con una muestra perteneciente al animal 1, transcurridos dos días desde el momento del sacrificio.

En la primera parte del ensayo, la fuerza necesaria para comprimir la muestra es muy pequeña, correspondiéndose el valor alcanzado en el punto 2 con el esfuerzo al 20 % de la compresión, que está asociado con la dureza de las miofibrillas (Sarriés & Beriain, 2006). A partir de ese punto, la fuerza necesaria sigue aumentando hasta que aproximadamente la sonda ha recorrido 0,6 cm, lo que se corresponde con el esfuerzo en el punto 5 o lo que es lo mismo, el esfuerzo aplicado al 80 % de la compresión total. Según algunos autores, este valor se asocia con el contenido de colágeno presente en la muestra y el número de entrecruzamientos que existen entre las moléculas del mismo (Sarriés & Beriain, 2006). A partir de este momento, la fuerza necesaria disminuye ligeramente para luego seguir aumentando hasta alcanzar el valor máximo, correspondiente con el esfuerzo al 100 % de compresión. Además, el área bajo la curva informa sobre el trabajo que es necesario aplicar para comprimir la muestra, que inicialmente toma valores muy pequeños, pero que aumenta con la distancia recorrida por la sonda.

Como se comentó en el capítulo de material y métodos no todas las muestras fueron maduras durante el mismo número de días, para analizar sus características de terneza fue necesario dividir las en dos grupos. El primero de ellos (grupo A), agrupa las muestras con períodos de maduración de 4, 6, 11 y 18 días y se encuentra formado por 20 terneros diferentes. El segundo (grupo B) engloba a 9 terneros diferentes cuyas muestras fueron maduras durante 2, 9, 13 y 16 días.

1.2.2.1. Evolución de la terneza de las muestras durante el proceso de maduración.

Para analizar el comportamiento de la textura de la carne durante la maduración, de todas las variables proporcionadas por el texturómetro, se seleccionaron el esfuerzo al 20 y al 80 % de la compresión total y el esfuerzo total de compresión (esfuerzo 100 %). En la Tabla 6 se recogen los valores medios, la desviación típica y el coeficiente de variación de estas variables para los dos grupos de muestras durante los cuatro días de maduración establecidos para cada uno de ellos.

Tabla 6. Media (\bar{x}), desviación típica (σ) y coeficiente de variación (CV) de los esfuerzos al 20, 80 y 100 % de compresión en los distintos días de maduración para las muestras del grupo A (4, 6, 11 y 18 días) y B (2, 9, 13 y 16 días).

Maduración (días)	Esfuerzo 20 %		Esfuerzo 80 %		Esfuerzo 100 %	
	$\bar{x} \pm \sigma$ (kg/cm ²)	CV (%)	$\bar{x} \pm \sigma$ (kg/cm ²)	CV (%)	$\bar{x} \pm \sigma$ (kg/cm ²)	CV (%)
<i>Grupo A (4, 6, 11 y 18 días)</i>						
4	0,41±0,16	38,18	3,45±1,04	30,26	9,42±2,56	27,20
6	0,37±0,14	37,43	3,30±1,10	33,21	8,55±2,79	32,67
11	0,33±0,10	27,36	3,29±1,00	30,42	8,71±3,45	39,59
18	0,31±0,08	26,45	3,61±1,09	30,10	8,36±2,66	31,83
<i>Grupo B (2, 9, 13 y 16 días)</i>						
2	0,36±0,14	39,66	2,96±0,93	31,51	5,72±2,25	39,28
9	0,36±0,15	42,06	3,33±0,93	27,91	9,43±1,96	20,82
13	0,32±0,11	33,33	3,18±0,78	24,65	9,20±2,03	22,08
16	0,33±0,10	31,61	3,41±0,99	29,07	9,65±2,15	22,29

El valor medio del esfuerzo al 20 % de compresión del grupo A y B de muestras, así como el del 100 % de compresión del grupo A, disminuye según aumenta el período de maduración transcurrido. Esto puede ser causado porque la maduración es un proceso que se realiza para intentar facilitar la actuación de las proteasas endógenas, principalmente de la enzima calpaína, que actúan sobre las proteínas del músculo degradando sus enlaces y produciendo el ablandamiento de la carne (Bekhit et al.,

2014). Por ello, dado que se destruye su estructura, la fuerza necesaria para comprimir una muestra disminuye.

Sin embargo, el resto de variables analizadas no siguen esta tendencia. Si no se considera el valor del esfuerzo al 100 % de compresión del grupo B de muestras, que presenta un valor inicial anómalo, el valor del esfuerzo en el resto de casos aumenta según transcurre la maduración y por lo tanto, es más difícil comprimir la muestra. Esto se debe a que algunas de las muestras analizadas en vez de ablandarse durante la maduración se endurecen. Este fenómeno ya fue recogido en un estudio realizado por Novakofsky y Brewer (2006). Estos autores detectaron que, de forma general, durante el proceso de maduración, aquellas muestras que poseían una alta terneza inicial no se ablandaban más, sino que normalmente se endurecían. Para justificar este fenómeno explicaron que durante la maduración se produce una alteración en el sistema de retención de agua o en la estructura muscular. Si este proceso de alteración es muy acusado puede producirse un fenómeno de endurecimiento, muy similar al que ocurre cuando se produce la sobrecocción de la carne. Así mismo, estos autores afirmaban que este fenómeno se debía a la degradación de la estructura de las proteínas y a la alteración de la actividad enzimática. Además, aseguraban que la alteración tanto de la membrana lipídica como proteica podía alterar la distribución del agua presente en la carne o cambiar la manera en que dicha agua se encuentra unida o inmovilizada (Novakofski & Brewer, 2006). Este fenómeno explicaría porque algunas de las muestras analizadas se endurecen durante el proceso de maduración provocando que los valores medios para todas las muestras también sigan esta tendencia. No obstante, las causas que producen este fenómeno no han sido comprobadas ni establecidas hasta el momento, trabajándose únicamente con hipótesis.

Si se comparan los valores medios obtenidos para cada una de las variables con los alcanzados en un estudio anterior llevado a cabo por Campo *et al.* (2000), se observa que son semejantes excepto para los valores del esfuerzo al 20 % de compresión, siendo el valor inicial, en el día 3 de maduración, de 0,61 kg/cm² y el valor final, en el día 21 de maduración, 0,42 kg/cm². Las diferencias existentes entre los datos pueden deberse a que, en el anterior estudio (M. Campo *et al.*, 2000), en el análisis de textura se emplean terneros de diferentes razas, no sólo de la Pirenaica, y además, los días de maduración no coinciden con los utilizados en este trabajo.

Por otro lado, en la Tabla 6 destacan los elevados coeficientes de variación que presentan las variables, siendo el mínimo 24,65 % en el esfuerzo al 80 % de compresión para el día 13 de maduración, y el máximo 42,06 % para el esfuerzo al 20 % de compresión en el día 9 de maduración, ambos para el grupo B de muestras. Esta alta variabilidad puede deberse tanto a las muestras, como al proceso de medida. En

primer lugar, es necesario tener en cuenta que dado que el análisis instrumental de la textura es una técnica destructiva, no es posible realizar el seguimiento de la maduración en el mismo trozo carne. Aunque los trozos de carne pertenecían al mismo filete existen diferencias entre el nivel de terniza de las diferentes partes de un mismo músculo. Además, la presencia de grasa intramuscular o pequeñas fibras de colágeno no detectadas durante la preparación de las muestras pueden influir en la medidas realizadas (Lawrie & Ledward, 2006). Por último, existe una variabilidad intrínseca en el proceso de medida debido a que es necesario preparar las muestras realizando su corte longitudinal paralelo al sentido de las fibras de la muestra, lo que en algunos casos fue complejo debido a la elevada heterogeneidad de las mismas. No obstante, ésta sigue siendo la técnica de referencia para determinar la textura en carne cruda debido a su semejanza con el proceso de masticación y con la facilidad con la que se produce el primer mordisco en la carne (Hui, 2012).

Además, la elevada variabilidad obtenida no concuerda con la clasificación realizada mediante la conformación y el estado de engrasamiento de las canales. En esta clasificación, las canales eran homogéneas y de elevada calidad. Sin embargo, los valores de textura obtenidos son variables, lo que indica que existen diferencias entre las muestras, no pudiéndose concluir que la calidad de todas ellas sea tan elevada como se había supuesto a la vista de los resultados alcanzados en la clasificación de las canales.

1.2.2.2. Análisis de la influencia de los factores animal y tiempo de maduración en la terniza de las muestras.

El objetivo de este apartado es intentar ver si la terniza de la carne varía en función del animal analizado y del tiempo de maduración aplicado a cada una de las muestras. Para observar esa posible influencia se aplicó un análisis de la varianza (ANOVA) para cada uno de los factores analizados así como su intersección. Al igual que en el apartado anterior, fue necesario dividir las muestras en dos grupos en función de los períodos de maduración aplicados (grupo A y B). En la Tabla 7 se muestra la significación de los diferentes factores para cada una de las variables analizadas.

Tabla 7. Significación de los principales efectos estudiados en el análisis de textura por compresión de las muestras del grupo A y B.

		Animal	Tiempo de maduración	Animal*Tiempo de maduración
<i>Grupo A (4, 6, 11 y 18 días)</i>				
Esfuerzo (kg/cm²)	20 %	**	**	**
	40 %	**	**	**
	60 %	**	**	**
	80 %	**	*	**
	100 %	**	**	**
Área (kg.cm)	1-2	**	**	**
	2-3	**	**	**
	3-4	**	**	**
	4-5	**	*	**
	5-6	**	**	**
	1-6	**	**	**
<i>Grupo B (2, 9, 13 y 16 días)</i>				
Esfuerzo (kg/cm²)	20 %	**	n.s.	*
	40 %	**	**	**
	60 %	**	*	**
	80 %	**	n.s.	**
	100 %	n.s.	**	**
Área (kg.cm)	1-2	**	n.s.	**
	2-3	**	*	**
	3-4	**	*	**
	4-5	**	n.s.	**
	5-6	**	*	**
	1-6	**	n.s.	**

n.s.= no significativo; *= p<0.001; **= p<0.05

En el caso de las muestras del grupo A, los factores animal y tiempo de maduración, así como su intersección, tienen un valor significativo para todas las variables analizadas. Es decir, todos los factores provocan que los resultados cambien. De forma semejante, en la muestra del grupo B, la intersección de ambos factores tiene un efecto significativo ($p < 0,001$) en todas las variables menos en el esfuerzo necesario al 20 % de compresión, donde $p < 0,05$. Así mismo, para este grupo de muestras, el factor animal tiene un efecto significativo ($p < 0,001$) sobre todas las variables excepto para el esfuerzo al 100 % de la compresión. Esto implica que los valores medios de este

esfuerzo, para cada uno de los terneros analizados, no son significativamente diferentes entre sí. Es decir, el esfuerzo tiene el mismo valor independientemente del animal analizado. Por otro lado, el tiempo de maduración no influye en el esfuerzo necesario ni al 20 ni al 80 % de la compresión. Así mismo, tampoco tiene un efecto significativo sobre el área que hay bajo la curva entre el principio y el 20 % de la compresión (área 1-2), ni entre el 60 ni el 80 % de la misma (área 4-5) ni en el área total (área 1-6). Es decir, que el valor de esas variables no es significativamente diferente en función del tiempo de maduración que han sufrido las muestras.

Dado que uno de los factores más importantes es la influencia que el período de maduración tiene sobre la textura de las muestras analizadas, se va a estudiar con mayor detalle este fenómeno. Para ello, se va a analizar como varían las medias de las variables en función del tiempo de maduración aplicado.

En la Tabla 8 se recoge la evolución de las medias para las muestras del grupo A. En esta tabla se observa que las medias de las variables siguen una tendencia descendente a lo largo del proceso de maduración, exceptuando el valor del esfuerzo al 60 y 80 % de compresión. Además, si no se tiene en cuenta esas dos variables, existe una diferencia significativa entre el valor medio en el punto inicial y final del proceso de maduración. Por ello, se puede decir que durante la maduración se produce un cambio en la estructura de la carne y por lo tanto, su terneza varía.

Tabla 8. Evolución de las medias de las variables durante el período de maduración en las muestras del grupo A (4, 6, 11 y 18 días de maduración).

Variables	Tiempo de maduración				EEM
	4	6	11	18	
<i>Esfuerzo (kg/cm²)</i>					
20 %	0,406a	0,366b	0,329c	0,310c	0,005
40 %	1,080a	0,957b	0,892b	0,940b	0,013
60 %	2,060ab	1,970b	1,932b	2,213a	0,029
80 %	3,446ab	3,299ab	3,287b	3,611a	0,047
100 %	9,418a	8,553b	8,714ab	8,361b	0,129
<i>Área (kg.cm)</i>					
1-2	0,262a	0,229b	0,181c	0,157c	0,004
2-3	0,983a	0,794b	0,636c	0,586c	0,013
3-4	2,200a	1,807b	1,519c	1,629bc	0,032
4-5	3,676a	3,699a	2,771b	2,984b	0,073
5-6	7,701a	6,409b	5,638c	5,482c	0,104
1-6	14,799a	12,405b	10,732c	10,827c	0,186

EEM: error estándar de la media.

Por otro lado, se realizó el mismo análisis para las muestras del grupo B, estudiando únicamente aquellas variables en las que el tiempo de maduración tenía un efecto significativo. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 9. Al igual que ocurría con las muestras del grupo A, la evolución de las medias sigue una tendencia descendente excepto para el esfuerzo máximo de compresión y el área en el intervalo final de compresión. Además, si no se tiene en cuenta el valor del esfuerzo al 60 % de compresión, es posible observar diferencias entre los valores medios en el punto inicial y final de la maduración. Esto confirma que existe un cambio en la estructura de la carne entre el inicio y final de la maduración y que puede ser observado tanto cuando se comparan muestras maduras durante 4 y 18 días como entre 2 y 16 días.

Tabla 9. Evolución de las medias de las variables durante el período de maduración en las muestras del grupo B (2, 9, 13 y 16 días de maduración).

Variables	Tiempo de maduración				EEM
	2	9	13	16	
	<i>Esfuerzo (kg/cm²)</i>				
40 %	1,083a	0,919b	0,777c	0,860bc	0,020
60 %	2,069a	1,935a	1,700b	1,985a	0,038
100 %	5,716b	9,432a	9,200a	9,650a	0,142
	<i>Área (kg.cm)</i>				
2-3	0,828a	0,664b	0,695b	0,649b	0,018
3-4	2,059a	1,527b	1,607b	1,605b	0,050
5-6	5,153b	6,151a	6,797a	6,953a	0,293

EEM: error estándar de la media.

Para detectar el punto de mayor cambio en la terneza de las muestras se estudió el compartimento de las medias en los días intermedios de maduración. En el caso de los valores de las muestras del grupo B, se puede concluir que ese cambio se produce entre el día 2 y 9 de maduración, ya que las medias entre esos dos días son diferentes entre sí en todos los casos. Para intentar precisar un poco más esta afirmación, se estudió la evolución de las medias del grupo A entre el día 4 y 6 de maduración, que son valores intermedios a ese rango inicial ya establecido. Al igual que antes, se puede observar que existe un cambio en el comportamiento entre el día 4 y 6, siendo aún más acusado las diferencias si se comparan los valores entre el día 4 y 11 de maduración. Por ello, se podría concluir que los terneros analizados, pertenecientes principalmente a la raza Pirenaica, presentan un cambio en la terneza entre el día 4 y 6, pero ésta sigue evolucionando al menos hasta el día 11 de maduración.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos en un estudio reciente llevado a cabo por Ripoll *et al.* (2014). En él, estos autores estudiaron la evolución de la terneza en

muestras de terneros de la raza Pirenaica para los días 1, 9 y 16 de maduración. Al analizar los resultados, observaron que aquellos terneros que habían sido criados en su totalidad en extensivo presentaban diferencias significativas en la terneza entre los días 1, 9 y 16 de maduración. Sin embargo, para aquellos terneros que habían sido criados en extensivo pero cuya fase de finalización se había llevado a cabo en intensivo, presentaban diferencias en su valor de textura entre el día 1 y 9 de la maduración, mientras que entre los días 9 y 16 no había diferencias significativas. De forma semejante, Campo (2000) observó que tras la primera semana de maduración de las muestras de ternera ningún valor era significativamente diferente del resto. Esto demostraba que los cambios en la estructura miofibrilar se producían principalmente en ese periodo, siendo muy pequeño el porcentaje de ablandamiento que se produce tras el mismo (M. Campo et al., 2000).

2. Características espectrales de las muestras.

En la Figura 26 se muestra el espectro IR medio de una de las muestras analizadas con los enlaces que provocan la aparición de los picos más destacados y en la Tabla 10 se resume la asignación de las bandas más relevantes de los espectros. El espectro de las muestras puede dividirse en dos zonas. La primera de ellas, entre aproximadamente 3750 cm^{-1} y 2750 cm^{-1} , se corresponde con modos de vibración de enlaces que contienen átomos de hidrogeno como C-H, O-H y N-H. La segunda zona, se extiende desde aproximadamente 1900 cm^{-1} hasta 400 cm^{-1} y se atribuye a distintos modos de flexión y torsión de los enlaces (Al-Jowder et al., 1999; R. Karoui et al., 2010).

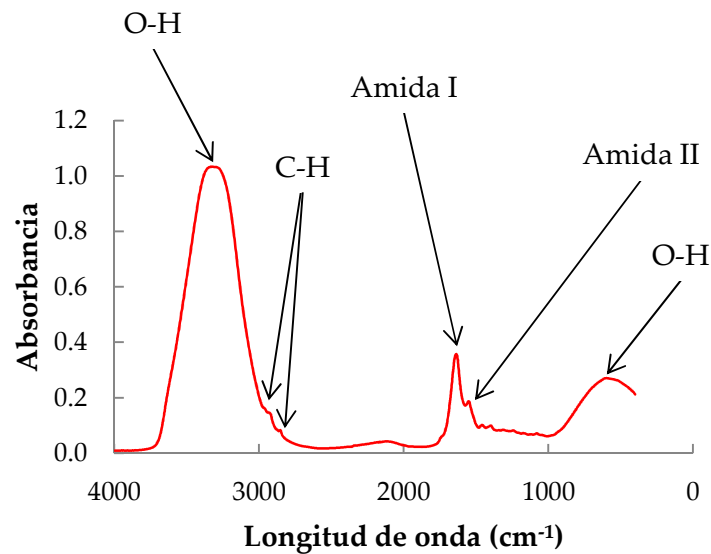


Figura 26. Espectro FTIR medio de una muestra de carne del animal 2 en el día 13 de maduración con la asociación de los enlaces con las bandas de absorción.

De todos los picos de absorción que presenta el espectro, destaca principalmente la banda ancha de elevada intensidad de absorción que aparece entre 3800 y 3200 cm^{-1} y que se asocia con la vibración de los enlaces hidroxilo O-H del agua. Esta banda de elevada intensidad de absorción oculta la presencia de picos asociados con el enlace N-H (Carbonaro, 2010; Hernández-Martínez, 2013) y provoca que las intensidades de absorción del resto de ellos sean pequeñas en comparación. Así mismo, la vibración de este enlace provoca la aparición de otra banda ancha entre 980 y 400 cm^{-1} (Pretsch, Bühlmann, & Affolter, 2000).

Tras estas dos bandas, los dos picos que mayor intensidad de absorción presentan aparecen aproximadamente a 1657 y 1542 cm^{-1} , respectivamente. El primero de ellos, se encuentra asociado con la vibración N-H de los grupos aminos de las proteínas y los modos de vibración de extensión del doble enlace C=C de los alquenos. El segundo, se relaciona con las denominadas amidas II, en el que se mezcla la vibración de flexión del enlace N-H con la extensión del enlace C-N.

Tabla 10. Asociación de los números de onda con los grupos funcionales.

Número de onda (cm ⁻¹)	Grupo funcional	Referencia bibliográfica
3800-3200	Vibración del O-H del agua	(Pretsch et al., 2000)
3006	CH vibración de extensión del doble enlace <i>cis</i> =CH; ácidos grasos insaturados	(Arce, 2009; Guillen, 2000; Rohman, 2011; Shiroma & Rodriguez-Solona, 2009)
2925	C-H vibración de extensión asimétrica de CH ₂ and CH ₃ ; grupos alifáticos	(Arce, 2009; Hernández-Martínez, 2013; Ordoudi, de los Mozos Pascual, & Tsimidou, 2014; Rohman, 2011; Shiroma & Rodriguez-Solona, 2009)
2854	C-H vibración de extensión de CH ₂ y CH ₃ ; grupos alifáticos	(Arce, 2009; Hernández-Martínez, 2013; Ordoudi et al., 2014; Rohman, 2011; Shiroma & Rodriguez-Solona, 2009)
1657	N-H vibración de extensión; proteínas C=C vibración de extensión; alquenos (<i>cis</i>) Bandas de proteína amida I (C=O vibración de extensión)	(Shiroma & Rodriguez-Solona, 2009) (Rohman, 2011; Shiroma & Rodriguez-Solona, 2009) (Carbonaro, 2010; Hernández-Martínez, 2013; Meza-Márquez, 2010; Papadopoulou, 2011; Di Wu et al., 2009)
1542	Amida II (N-H vibración de flexión mezclado con C-N vibración de extensión)	(Alamprese et al., 2013; Hernández-Martínez, 2013; Meza-Márquez, 2010; Papadopoulou, 2011)
1465	C-H vibración de flexión (tijereteo)	(Alamprese et al., 2013; Arce, 2009; Hernández-Martínez, 2013; Meza-Márquez, 2010; Papadopoulou, 2011; Rohman, 2011)
1396	COO ⁻ vibración de extensión de los ácidos grasos y de las cadenas laterales de los aminoácidos.	(Hernández-Martínez, 2013; Meza-Márquez, Gallardo-Velazquez, Osorio-Revilla, & Dorantes-Alvarez, 2012)
1377	Balaceo simétrico de los grupos CH ₃	(Rohman, 2011)
1239	CN vibración de extensión; NH vibración de flexión	(Carbonaro, 2010; Hernández-Martínez, 2013; Papadopoulou, 2011)
1162	C-O vibración de extensión y C-H vibración de flexión	(Arce, 2009; Hernández-Martínez, 2013; Meza-Márquez, 2010)
1117	-CH vibración de flexión y -CH vibraciones de deformación de los ácidos grasos	(Rohman, 2011)
980-400	Vibración del O-H del agua	(Pretsch et al., 2000)

El resto de picos presentes en los espectros tienen menor intensidad, no siendo por ello menos importantes. Según la bibliografía, alrededor de 3000 cm^{-1} deberían encontrarse tres picos asociados con los distintos modos de vibración del enlace C-H. El primero de ellos, en torno a 3006 cm^{-1} , está relacionado con la vibración C-H del doble enlace C=CH en posición *cis* de los ácidos grasos insaturados. A continuación, aparecerían los otros dos picos restantes (alrededor de 2925 y 2854 cm^{-1} , respectivamente) que se atribuyen a las vibraciones de tensión asimétrica y simétrica de los enlaces CH de los grupos metilo (CH_3) y metileno (CH_2) de las cadenas carbonadas de los ácidos grasos.

En la segunda zona del espectro, entre 1900 y 400 cm^{-1} , sería importante destacar las siguientes bandas. El pico que aparece aproximadamente en 1465 cm^{-1} se asocia con una vibración de flexión denominada tijereteo perteneciente a los enlaces CH. La banda alrededor de 1396 cm^{-1} se asocia con la vibración del grupo carboxilo (COO) presente en los ácidos grasos y en las cadenas laterales de los aminoácidos. El pico que aparece en 1377 cm^{-1} se produce debido a la vibración de balanceo simétrico de los grupos CH_3 . La banda situada aproximadamente en 1239 cm^{-1} se asocia, por un lado, con la vibración de extensión del enlace C-N; y, por otro lado, con la vibración de flexión de los enlaces N-H. De igual forma, el pico presente alrededor de 1162 cm^{-1} puede asociarse con la vibración de extensión del enlace C-O y con la vibración de flexión de los enlaces C-H. Aproximadamente en 1117 cm^{-1} , aparece un pico relacionado con la vibración de flexión y deformación del grupo CH presente en los ácidos grasos.

En las Figuras 27 y 28 se muestran los espectros medios de absorción infrarroja en el intervalo $4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$ de cada uno de los grupos de terneros en los cuatro puntos de maduración analizados. Como se puede observar todos los espectros son semejantes y apenas se aprecian diferencias en las intensidades de absorción que se produce a determinadas longitudes de onda. Por ello, no es posible determinar si la absorbancia de los espectros varía durante la maduración.

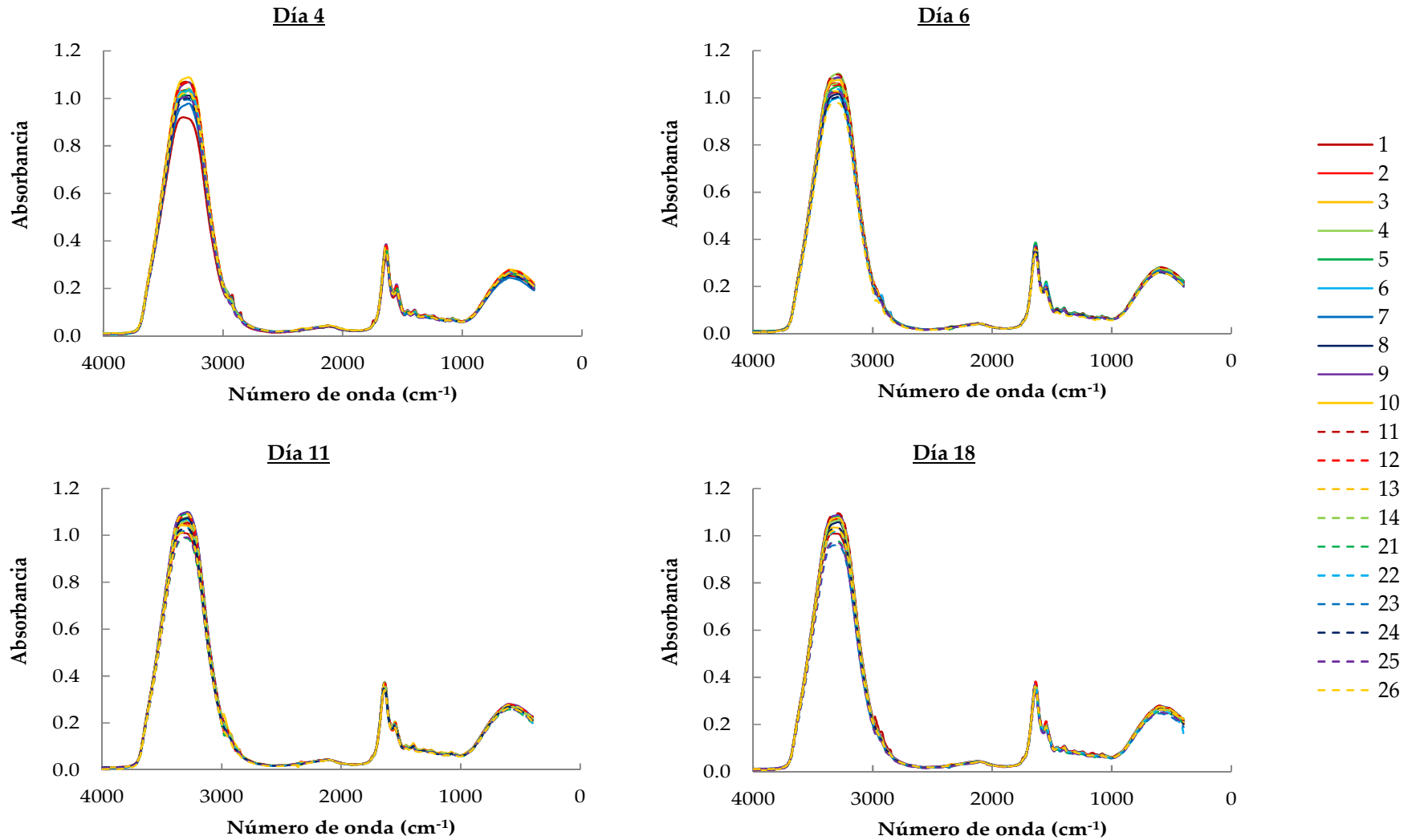


Figura 27. Espectros medios de los terneros del grupo A en los cuatro días de maduración analizados (4, 6, 11 y 18 días).

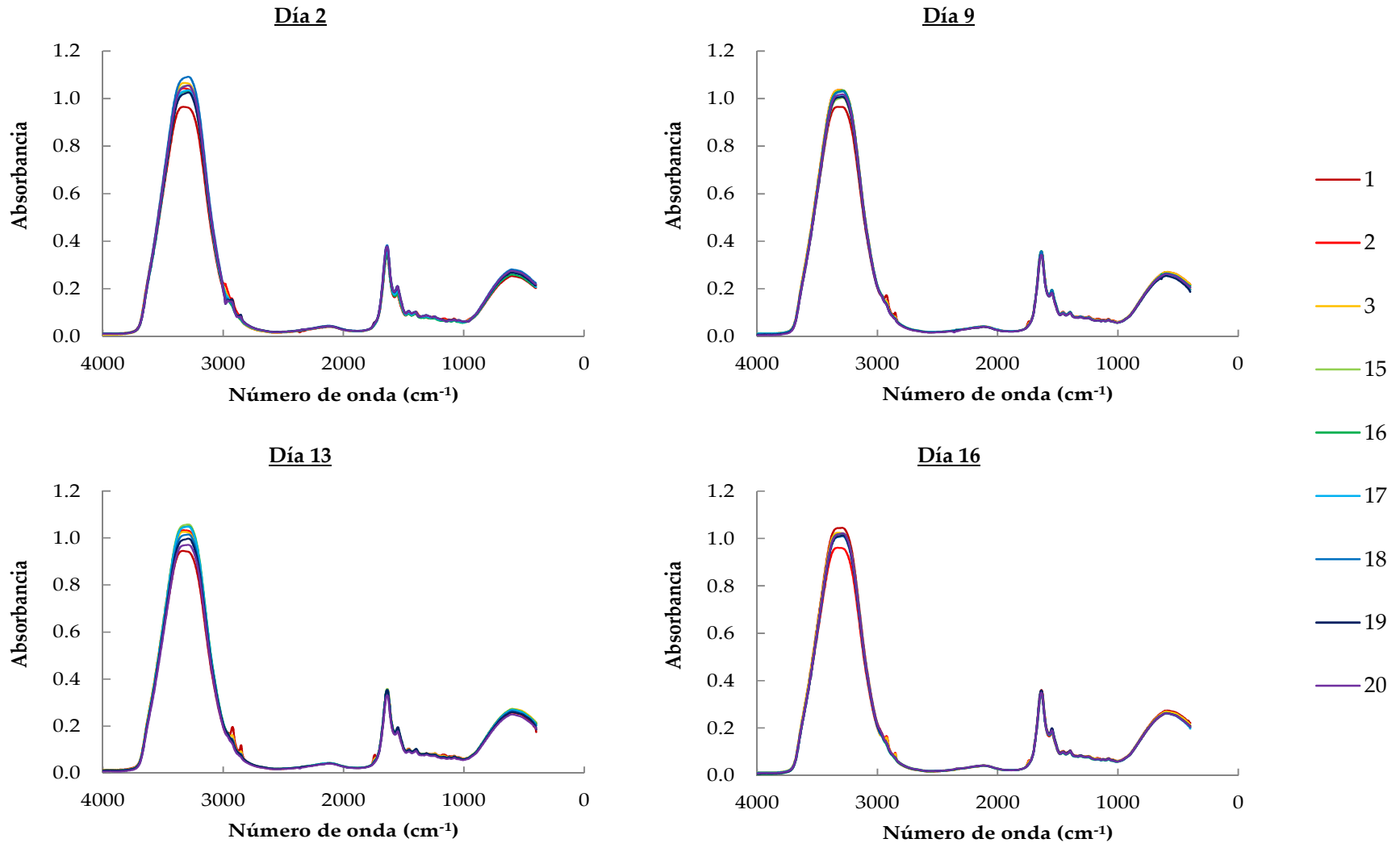


Figura 28. Espectros medios de los terneros del grupo B en los cuatro días de maduración analizados (2, 9, 13 y 16 días).

3. Estimación de la ternera de la carne a partir de los datos espectrales.

Debido a que el principal objetivo de este trabajo era estudiar la posibilidad de utilizar la espectroscopia FTIR-MIR como técnica para el análisis de la textura de la carne, se construyeron una serie de modelos de predicción a partir de los espectros, utilizando como valores de referencia los obtenidos mediante el método de compresión de Lepetit (Lepetit, 1994).

Para la construcción de estos modelos se analizaron en total 116 muestras, pertenecientes a diferentes terneros y en distintos puntos de maduración. Además, debido a la elevada heterogeneidad de la carne, en cada muestra se realizaron 6 medidas en diferentes puntos de la misma. Por lo que, los modelos de predicción fueron construidos con un total de 696 espectros.

En la construcción de estos modelos, debido a la elevada complejidad de los espectros se utilizó un programa específico de quimiometría, OPUS-Quant (Bruker, Alemania). Este programa construye los modelos de predicción mediante el método de regresión de mínimos cuadrados parciales o PLS (*Partial Least Square Regression*) y los valida mediante validación cruzada (*leave-one-out method*), dejando cada vez 4 espectros fuera del proceso.

Debido a que los espectros de las muestras analizadas presentaban picos de absorción en longitudes de ondas características de la vibración de los enlaces del agua y este compuesto no era interesante para los análisis realizados, se eliminaron los valores de esas longitudes de onda para que no influyesen en el resultado final. También se eliminaron del análisis aquellas longitudes de onda características del CO₂ porque este compuesto tampoco era relevante para el estudio. Por todo ello, únicamente se trabajó con los valores de absorbancia entre 3200 y 2500 cm⁻¹ y entre 2300 y 980 cm⁻¹. Una vez fijadas las longitudes de ondas que eran interesantes para el estudio, el programa, mediante un proceso de optimización interno, buscaba para cada variable analizada el tratamiento estadístico de pre-procesado de los espectros más adecuado y aquellas longitudes de onda que aportaban mayor información. Además, el programa señalaba los espectros que eran considerados como anómalos, por ser muy diferentes al resto, y que mediante su eliminación se mejoraban los modelos de regresión construidos.

En la Tabla 11 se muestra el coeficiente de determinación (R^2_c y R^2_v), el error cuadrático medio (RMSEE y RMSECV), la desviación residual (RPD) para el modelo de calibración y de predicción, el número de factores empleados (rango), el tratamiento estadístico de pre-procesado aplicado y el número de espectros anómalos eliminados para cada una de las variables analizadas.

Tabla 11. Resultados de los modelos de predicción y validación optimizados para cada una de las variables analizadas.

Variable	Calibración			Validación				Rango	Tratamiento estadístico	Outliers (espectros)
	R ² _c (%)	RMSEE	RPD	R ² _v (%)	RMSECV	RPD				
Esfuerzo (kg/cm²)	20 %	55,65	0,055	1,50	41,02	0,063	1,30	11	Primera derivada (1950-980 cm ⁻¹)	33
	100 %	33,60	1,790	1,23	20,56	1,940	1,12	10	Sin pre-procesado (3200-3000; 1850-1540; 1150-980 cm ⁻¹)	21
	80 %	33,17	0,598	1,22	18,24	0,658	1,11	8	Eliminación del desnivel constante (3000-2500; 1850-980 cm ⁻¹)	18
	40 %	14,44	0,195	1,08	10,04	0,199	1,05	3	Primera derivada y corrección de dispersión multiplicativa (1540-980 cm ⁻¹)	25
	60 %	14,98	0,425	1,08	7,44	0,442	1,04	5	Sin pre-procesado (3200-3000; 2300-1540; 1150-980 cm ⁻¹)	14
Área (kg.cm)	5-6	31,69	1,640	1,21	38,41	1,560	1,27	5	Eliminación del desnivel constante (3200-3000; 1950-980 cm ⁻¹)	8
	4-5	26,22	0,870	1,16	36,02	0,813	1,25	5	Eliminación del desnivel constante (3200-3000; 2300-1950; 1850-1540; 1150-980 cm ⁻¹)	10
	3-4	41,50	0,411	1,31	35,34	0,430	1,24	5	Corrección de dispersión multiplicativa (3200-2500; 2300-980 cm ⁻¹)	40
	2-3	51,27	0,150	1,43	35,18	0,171	1,24	13	Corrección de dispersión multiplicativa (3200-3000; 1950-980 cm ⁻¹)	28
	1-6	25,55	3,340	1,16	32,99	3,180	1,22	4	Sin pre-procesado (3200-3000; 1850-980 cm ⁻¹)	0
	1-2	36,14	0,041	1,25	24,00	0,044	1,15	10	Eliminación del desnivel constante (3200-3000; 1540-980 cm ⁻¹)	43

R²_c= coeficiente de determinación de calibración; R²_v= coeficiente de determinación de validación; RMSEE= error cuadrático medio de calibración; RMSECV= error cuadrático medio de validación; RPD= desviación residual

Como se puede apreciar en la tabla, los valores del coeficiente de determinación obtenidos para los modelos de predicción variaron entre el 41,02 % para el esfuerzo al 20 % de compresión y 7,44 % en el caso del esfuerzo al 60 % de la misma. Esto hace que los modelos obtenidos sean poco precisos y, por lo tanto, el error que se comete al estimar la ternera de la carne sea elevado.

Dado que no se han llevado a cabo estudios similares con espectroscopia de infrarrojo medio, no es posible comparar estos resultados con los obtenidos en anteriores trabajos. Sin embargo, sí que se han realizado estudios mediante infrarrojo cercano (NIR), que pese a no ser la misma técnica su fundamento es similar. De este modo, Ripoll *et al.* (2008) llevaron a cabo un estudio en el que pretendían predecir la calidad química, instrumental y sensorial en muestras de ternera. Para ello, emplearon un total de 190 muestras pertenecientes a diferentes razas, entre las que se encontraba la raza Pirenaica. Al igual que en este trabajo, la ternera de la carne fue analizada mediante el método de Lepetit. En este caso, estos autores encontraron valores de coeficiente de determinación de 32,9 % para el caso del esfuerzo al 20 % de compresión y de 38,6 % en el caso del esfuerzo al 80 % de compresión. Si se compara estos resultados con los obtenidos en este trabajo, se observa que son similares, siendo mejores los obtenidos en este estudio para el esfuerzo al 20 % de compresión pero inferiores en el caso del esfuerzo al 80 % de la misma (Ripoll, Albertí, Panea, Olleta, & Sañudo, 2008).

Así mismo, Prieto *et al.* (2009) realizaron un estudio en el que evaluaban las características de ternera en carne de ternera. El coeficiente de determinación del modelo construido era del 37 %. Por ello, concluyeron que esta técnica podía ser interesante como indicador temprano de la ternera de la carne, pero no podía sustituir a las medidas de textura instrumentales (Prieto, 2009).

En otro estudio Rahim *et al.* (2013) aplicaron la espectroscopia NIR para construir un modelo que permitiese determinar la textura en carne de gallina con diferentes sistemas de cría y alimentación. Los autores construyeron un modelo diferente para cada uno de los sistemas de alimentación analizados. Y concluyeron que en el caso de las gallinas alimentadas ecológicamente podían predecir la ternera de la carne con una certeza de entre el 85 y 95 %, en función del tratamiento de pre-procesado espectral aplicado. Sin embargo, en el caso de las muestras de gallina criadas en intensivo y de las camperas, los modelos de predicción presentaban un coeficiente de determinación de entre el 42 y 68 % y entre el 42 y el 44 %, respectivamente (Rahim et al., 2013).

Por último, Craigie *et al.* (2012) emplearon la espectroscopia de infrarrojo cercano para evaluar distintos parámetros de calidad en carne de cordero, entre los que se encontraba la textura. Estos autores emplearon como método de referencia el ensayo de Warner-Bratzler. Los valores obtenidos del coeficiente de determinación para el

caso de la textura fueron muy bajos, no llegando a señalar que valor obtuvieron (Craigie et al., 2012).

Como se puede observar, los resultados obtenidos en este trabajo son similares a los alcanzados en estudios previos. Según señaló Prieto *et al.* (2009) en su estudio, una de las causas de la escasa precisión de los modelos podía ser la elevada variabilidad de los datos de referencia (Prieto, 2009). Como ya se ha comentado anteriormente, los resultados de textura presentaban coeficientes de variación elevados, superiores en muchos casos al 30 %. Esto puede deberse a que como las medidas instrumentales son destructivas, no es posible seguir la evolución de la maduración en la misma muestra y debido a la heterogeneidad de la carne puede que el proceso de maduración no se produzca igual en todas ellas. También es necesario tener en cuenta la variabilidad intrínseca de las medidas texturales, dado que no siempre es posible encontrar de forma correcta el sentido de las fibras.

Además, es necesario destacar que como el análisis de textura es destructivo, tampoco fue posible realizar las medidas mediante espectroscopia FTIR-MIR en los mismos trozos de carne. Esto también aporta una variabilidad que debe ser tenida en cuenta a la hora de analizar los resultados de los modelos de predicción construidos.

4. Empleo del Análisis de Componentes Principales (ACP) y análisis discriminante para la clasificación de las muestras en función del tiempo de maduración.

En este último apartado del trabajo final de máster se estudia la posibilidad de clasificar las muestras en función del periodo de maduración experimentado a partir de los datos espectrales. Como ya se ha señalado anteriormente, debido a los diferentes periodos de maduración aplicados, también fue necesario dividir las muestras en dos grupos, A y B, para su análisis. El tratamiento estadístico aplicado a ambos grupos fue el mismo. En todos ellos, las variables utilizadas para la clasificación fueron las intensidades de absorción a las diferentes longitudes de onda, que variaron en cada uno de los análisis aplicados. Sin embargo, en todos ellos, el número de variables empleadas fue elevado por lo que, en primer lugar se realizó un análisis de componentes principales (ACP), reduciendo así las variables a un número pequeño de componentes. En segundo lugar, sobre esos componentes se aplicó un análisis discriminante que permitió la clasificación de las muestras. En él, se empleó el método de inclusión por pasos y la validación se realizó mediante el método de validación cruzada (*leave-one-out method*). A continuación, se presentan los resultados obtenidos para cada grupo de muestras.

4.1. Clasificación de las muestras del grupo A (4, 6, 11 y 18 días de maduración).

En un primer lugar, se realizó la clasificación empleando los mismos números de onda usadas durante la construcción de los modelos de predicción, es decir, entre 3200 y 2500 cm^{-1} y entre 2300 y 980 cm^{-1} . De esta forma, se eliminaban los picos característicos del agua y del dióxido de carbono (CO_2), cuya información no era relevante. Al aplicar el análisis ACP, se pudo reducir las variables a 10 componentes principales que explicaban el 99,291 % de la variabilidad inicial. En la Tabla 12 se muestran los resultados obtenidos mediante el análisis discriminante.

Tabla 12. Resultados del análisis discriminante de las muestras del grupo A (4, 6, 11 y 18 días) empleando los números de onda entre 3200 y 2500 cm^{-1} y entre 2300 y 980 cm^{-1} .

	Tiempo de maduración				Número de espectros	
	4	6	11	18		
Original (%)	4	36,7	22,5	19,2	21,7	120
	6	21,7	32,5	26,7	19,2	120
	11	11,7	25,0	36,7	26,7	120
	18	9,2	15,8	20,8	54,2	120
Validación cruzada (%)	4	35,8	23,3	19,2	21,7	120
	6	21,7	30,8	28,3	19,2	120
	11	11,7	25,8	35,8	26,7	120
	18	9,2	15,8	20,8	54,2	120

En esta tabla se muestran los porcentajes de clasificación para el modelo de calibración, datos originales, y para el modelo de validación. Cada una de las filas nos informa, para un mismo período de maduración, del porcentaje de espectros que han sido clasificados en cada uno de los grupos de maduración establecidos. Las diagonales de las tablas nos indican el porcentaje de espectros clasificados correctamente en el grupo de muestras que le corresponden según el periodo de maduración a la que las muestras habían sido sometidas.

El porcentaje de clasificación correcto de las muestras es inferior al 40 % en todos los casos excepto para aquellas con mayor período de maduración, donde se clasifican correctamente el 54,2 % de las mismas. En el resto de períodos de maduración, el porcentaje varía entre el 30,8 y el 35,8 % de las muestras.

Al observar los números de onda que mayor información aportaban en el ACP, se detectó que éstas pertenecían a la zona comprendida entre 1951 y 980 cm^{-1} , donde se producen las vibraciones de flexión y torsión de los enlaces. Por ello, se volvió a repetir todo el proceso pero empleando únicamente esas longitudes en el análisis. El número de componentes principales necesarios se redujo a 7, explicando entre todos ellos el

99,110 % de la variabilidad inicial. Los resultados de la clasificación se muestran en la Tabla 13.

Tabla 13. Resultados del análisis discriminante de las muestras del grupo A (4, 6, 11 y 18 días) empleando los números de onda entre 1951 y 980 cm⁻¹.

	Tiempo de maduración				Número de espectros	
	4	6	11	18		
Original (%)	4	45,8	22,5	15,0	16,7	120
	6	32,5	25,0	14,2	28,3	120
	11	18,3	20,0	17,5	44,2	120
	18	15,8	14,2	15,8	54,2	120
Validación cruzada (%)	4	44,2	24,2	15,0	16,7	120
	6	33,3	24,2	14,2	28,3	120
	11	19,2	20,0	15,0	45,8	120
	18	15,8	14,2	16,7	53,3	120

En este caso, el porcentaje de clasificación correcta para las muestras con un periodo de maduración de 18 días disminuye hasta el 53,3 %. En el caso de las muestras con 4 días de maduración, el porcentaje aumenta hasta alcanzar un valor de 44,2 %. Por lo que, con este análisis se consigue una mejor clasificación de las muestras en el primer punto de maduración. Sin embargo, los porcentajes de las muestras con periodos de maduración intermedios se reducen, pasando del 30,8 % al 24,2 % en las muestras de 6 días y del 35,8 % al 15,0 % en las muestras de 11 días.

A la vista de los resultados obtenidos en este análisis, se puede observar que las muestras con periodos intermedios de maduración no presentan características muy diferentes entre sí ni con las analizadas en el momento inicial y final de la maduración. Por ello, por ejemplo, aproximadamente la mitad (45,8 %) de las muestras maduras durante 11 días son clasificadas en el grupo de 18 días. Y de forma semejante, el 33,3 % de las muestras de 6 días se clasifican en el grupo de las muestras de 4 días de maduración. Estos resultados difieren de los obtenidos mediante el análisis instrumental de la textura donde se puede determinar que se producía un cambio en la textura de la carne entre el día 4 y 6 de maduración, cambio que no es observable mediante espectroscopia FTIR-MIR.

4.2. Clasificación de las muestras del grupo B (2, 9, 13 y 16 días de maduración).

Al igual que con el otro grupo de muestras, en primer lugar se realizó un análisis con todos los números de onda excepto los características del agua y dióxido de carbono (3200-2500 cm⁻¹; 2300-980 cm⁻¹). El número de componentes principales necesarios fue 10, que explicaban el 99,113 % de la variabilidad.

Tabla 14. Resultados del análisis discriminante de las muestras del grupo B (2, 9, 13 y 16 días) empleando los números de onda entre 3200 y 2500 cm^{-1} y entre 2300 y 980 cm^{-1} .

	Tiempo de maduración				Número de espectros	
	2	9	13	16		
Original (%)	2	51,9	24,1	1,9	22,2	54
	9	22,2	33,3	5,6	38,9	54
	13	29,6	13,0	18,5	38,9	54
	16	14,8	20,4	0,0	64,8	54
Validación cruzada (%)	2	51,9	24,1	1,9	22,2	54
	9	24,1	29,6	5,6	40,7	54
	13	33,3	13,0	13,0	40,7	54
	16	14,8	20,4	0,0	64,8	54

Como se observa en la Tabla 14, las muestras maduras durante 2 días se clasificaban correctamente el 51,9 % de las veces y en el caso de las muestras en el punto final de maduración (16 días) en el 64,8 % de los casos. Estos resultados son mejores que los obtenidos con las muestras del grupo A. Sin embargo, la clasificación de las muestras con periodos intermedios de maduración, 9 y 13 días, eran bajos (29,6 % y 13,0 %, respectivamente).

Tabla 15. Resultados del análisis discriminante de las muestras del grupo B (2, 9, 13 y 16 días) empleando los números de onda entre 1951 y 980 cm^{-1} .

	Tiempo de maduración				Número de espectros	
	2	9	13	16		
Original (%)	2	51,9	5,6	16,7	25,9	54
	9	16,7	13,0	20,4	50,0	54
	13	27,8	7,4	14,8	50,0	54
	16	16,7	13,0	5,6	64,8	54
Validación cruzada (%)	2	51,9	5,6	16,7	25,9	54
	9	16,7	13,0	20,4	50,0	54
	13	27,8	9,3	13,0	50,0	54
	16	16,7	13,0	5,6	64,8	54

Al igual que se hizo anteriormente, se redujo los números de onda empleadas (1951-980 cm^{-1}), utilizando 7 componentes principales que explicaban el 99,098 % de la variabilidad. Como se puede observar en la Tabla 15, los resultados eran similares a los obtenidos en la Tabla 14 excepto para las muestras maduras durante 9 días, cuyo porcentaje de clasificación correcta desciende hasta alcanzar el 13 %. Además, en estos resultados también se observa que las muestras que mejor porcentaje de clasificación tienen son las analizadas en el primer y último momento de la maduración, lo que

concuerta con los resultados obtenidos con las muestras del grupo A. Por ello, para intentar estudiar este resultado con mayor detalle, en el siguiente apartado se trabajará únicamente con estas muestras.

4.3. Clasificación de las muestras en el momento inicial y final de la maduración.

Debido a la observación realizada con los anteriores análisis, se decidió trabajar únicamente con las muestras con periodos de maduración de 2, 4, 16 y 18 días, manteniendo los grupos formados anteriormente porque no sería correcto comparar muestras con distintos periodos de maduración. En ambos casos, se trabajó con las intensidades de absorción a los número de onda comprendidas entre 1951 y 980 cm^{-1} , debido a los mejores resultados obtenidos en los anteriores análisis. Con las muestras del grupo A, fue necesario emplear 7 componentes principales (99,189 %). Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 16.

Tabla 16. Resultados del análisis discriminante de las muestras de 4 y 18 días de maduración del grupo A empleando los números de onda entre 1951 y 980 cm^{-1} .

	Tiempo de maduración			Número de espectros
	4	18		
Original (%)	4	71,7	28,3	120
	18	30,0	70,0	120
Validación cruzada (%)	4	69,2	30,8	120
	18	30,0	70,0	120

En ambos casos se consigue un porcentaje de clasificación correcta de aproximadamente el 70 %, valor más elevado en comparación con los obtenidos al trabajar con todos los puntos de maduración (Tabla 13). En la Figura 29 se representan las puntuaciones discriminantes para cada animal analizado. En esta figura se observa que las muestras con un tiempo de maduración de 4 días se agrupan en el lado izquierdo de la figura, donde la función discriminante es negativa. Mientras que las muestras con un periodo de maduración de 18 días, se aglutinan en la parte derecha de la figura, donde la función discriminante toma valores positivos. La agrupación de las muestras es clara aunque existen algunas muestras clasificadas incorrectamente, lo que coincide con los porcentajes de clasificación que se muestran en la Tabla 16.

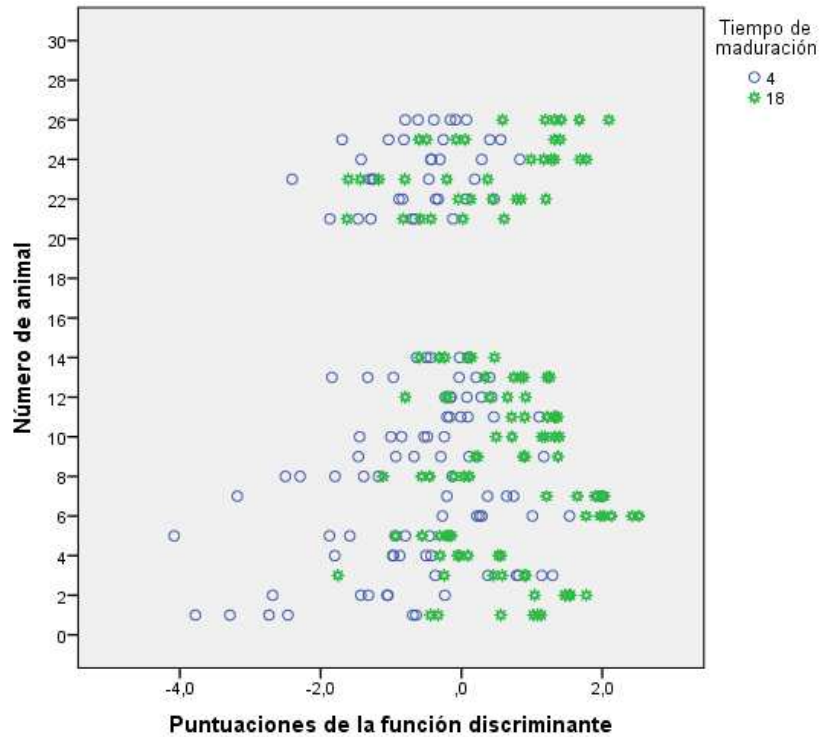


Figura 29. Puntuaciones de la función discriminante para las muestras del grupo A maduras durante 4 y 18 días.

En el caso de las muestras del grupo B, también fueron necesarios 7 componentes principales, explicando, en este caso, el 99,046 % de la variabilidad. En la Tabla 17 se muestran los resultados obtenidos. Las muestras con 2 días de maduración eran clasificadas correctamente en el 64,8 % de los casos, mientras que las muestras maduras durante 16 días, tenían un porcentaje de clasificación correcta del 79,6 %. Al igual que pasaba en las muestras del grupo A, los porcentajes son mejores cuando se trabaja únicamente con las muestras en el punto inicial y final de la maduración. Estos resultados concuerdan con los obtenidos mediante el análisis instrumental de la textura donde se observó que las medias de las variables cambiaban entre el punto inicial y final de la maduración, no siendo posible en la mayoría de los casos detectar ese cambio en los días de maduración intermedios. Esto indica que existe un cambio en la estructura molecular de las muestras durante la maduración y que puede ser observado mediante espectroscopia de infrarrojo medio.

Tabla 17. Resultados del análisis discriminante de las muestras de 2 y 16 días de maduración del grupo B empleando los números de onda entre 1951 y 980 cm^{-1} .

	Tiempo de maduración			Número de espectros
	2	16		
Original (%)	2	68,5	31,5	54
	16	20,4	79,6	54
Validación cruzada (%)	2	64,8	35,2	54
	16	20,4	79,6	54

Para caracterizar y conocer más en profundidad donde se produce ese cambio y como se detecta en la espectroscopia FTIR-MIR, se consideró el primer componente principal de cada análisis y se estudió cuales eran las longitudes de onda que le aportaban mayor información. En el caso del análisis de las muestras del grupo A, el primer componente explicaba el 77,033 % de la variabilidad total y los números de onda que mayor peso (superior al 0,98) tenían en ese componente eran 1473, 1358, 1350, 1328 y 1325 cm^{-1} . Para las muestras del grupo B, el primer componente explicaba el 70,995 % de la variabilidad y los números de onda de las que mayor información recogía (superior 0,98) eran las comprendidas entre 1352-1322 cm^{-1} . Como se puede observar, en ambos análisis existen unos números de onda comunes que poseen mayor importancia y que son las situadas alrededor de 1350 cm^{-1} .

Tras realizar una revisión bibliográfica de la asignación de los diferentes picos del espectro con la vibración de los enlaces que los producen, se ha observado que exactamente a 1350 cm^{-1} no se produce la vibración de ningún enlace característico de las carnes (Lozano, 2013). Sin embargo, a 1396 cm^{-1} se produce la vibración de extensión simétrica de los grupos carboxílicos (COO^-) y a 1377 cm^{-1} la vibración de balanceo simétrica de los grupos CH_3 (Hernández-Martínez, 2013; Meza-Marquez et al., 2012; Rohman, 2011). Debido a la cercanía de estos números de onda, la vibración de estos enlaces puede influir en la intensidad de absorción que se produce a 1350 cm^{-1} . No obstante, estos enlaces pueden ser tanto característicos de los lípidos como de las proteínas presentes en la carne. Pero debido a que no existen referencias bibliográficas que afirmen que se produce un gran cambio en la estructura de los lípidos presentes en la misma durante la maduración, se puede concluir que los cambios producidos en los espectros a estas longitudes de ondas, que permiten la diferenciación de los mismos, se deben a los cambios estructurales que sufren las proteínas. Además, se sabe que durante la maduración se produce normalmente un ablandamiento de la carne por la destrucción de la estructura característica de las miofibrillas, y por lo tanto, la pérdida de sus enlaces. Sin embargo, tal y como se ha explicado anteriormente, algunas de las muestras analizadas sufrieron un proceso de endurecimiento durante la maduración y

por lo tanto, su estructura es más resistente. Este aumento de la resistencia, se puede asociar con una mayor presencia de enlaces en la estructura de la carne.

Por otro lado, la técnica de espectroscopia FTIR-MIR sigue la ley de Lambert-Beer. Según esta ley, cuanto mayor es el número de enlaces que vibran mayor es la absorbancia que se recoge, y viceversa (Skoog et al., 2008). Por ello, se plantea la siguiente hipótesis. Al aumentar la ternera de la carne debería disminuir la absorción a 1350 cm^{-1} y, al disminuir la ternera se produciría un aumento de la absorción a dicho número de onda. Por ello, se procedió a comparar las variaciones que se producían en los esfuerzos a los diferentes porcentajes de compresión y la variación de la intensidad de absorción a 1350 cm^{-1} . Tras observar los resultados, se comprobó que en algunos casos sí que se cumplía la hipótesis establecida. Es decir, existía un cambio en la intensidad de absorción a 1350 cm^{-1} y su tendencia era igual a la seguida por la ternera medida mediante análisis instrumental. No obstante, es necesario seguir investigando para mejorar los resultados, validar la hipótesis establecida y conocer el mecanismo o el proceso que hace posible esa observación, utilizando como base de partida la intensidad de absorción a esa longitud de onda.

CAPÍTULO V. BIBLIOGRAFÍA

- Al-Jowder, O., Defernez, M., Kemsley, E. K., & Wilson, R. H. (1999). Mid-infrared spectroscopy and chemometrics for the authentication of meat products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(8), 3210-3218.
- Al-Jowder, O., Kemsley, E. K., & Wilson, R. H. (1997). Mid-infrared spectroscopy and authenticity problems in selected meats: A feasibility study. *Food Chemistry*, 59(2), 195-201.
- Al-Jowder, O., Kemsley, E. K., & Wilson, R. H. (2002). Detection of adulteration in cooked meat products by mid-infrared spectroscopy. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(6), 1325-1329.
- Alamprese, C., Casale, M., Sinelli, N., Lanteri, S., & Casiraghi, E. (2013). Detection of minced beef adulteration with turkey meat by UV-vis, NIR and MIR spectroscopy. *Lwt-Food Science and Technology*, 53(1), 225-232.
- Alter, M. J. (2004). *Los estiramientos*: Paidotribo.
- Ammor, M. S., Argyri, A., & Nychas, G. J. E. (2009). Rapid monitoring of the spoilage of minced beef stored under conventionally and active packaging conditions using Fourier transform infrared spectroscopy in tandem with chemometrics. *Meat Science*, 81(3), 507-514.
- Arce, L. (2009). Feasibility study on the use of infrared spectroscopy for the direct authentication of Iberian pig fattening diet. *Analytica Chimica Acta*, 636(2), 183.
- Arce, L., Dominguez-Vidal, A., Rodriguez-Estevez, V., Lopez-Vidal, S., Ayora-Canada, M. J., & Valcarcel, M. (2009). Feasibility study on the use of infrared spectroscopy for the direct authentication of Iberian pig fattening diet. *Analytica Chimica Acta*, 636(2), 183-189.
- Bekhit, A. E.-D. A., Carne, A., Ha, M., & Franks, P. (2014). Physical interventions to manipulate texture and tenderness of fresh meat: a review. *International Journal of Food Properties*, 17(2), 433-453.
- BOE 20/1/1982. Orden de 1 de diciembre de 1982 por la que se establecen métodos oficiales de análisis de aguas, aceites y grasas, carne y productos cárnicos, fertilizantes, productos fitosanitarios, leche y productos lácteos, productos orgánicos, fertilizantes, suelos y productos derivados de la uva y similares. (1982).
- BON 108/2000. Orden Foral de 19 de junio de 2000. Reglamento de la Indicación Geográfica Protegida "Ternera de Navarra o Nafarroako Aratxea" y su Consejo Regulador. (2000).
- Bowling, M. B., Vote, D. J., Belk, K. E., Scanga, J. A., Tatum, J. D., & Smith, G. C. (2009). Using reflectance spectroscopy to predict beef tenderness. *Meat Science*, 82(1), 1-5.
- Bruker. Introduction to FT-IR spectroscopy.
- Burgula, Y., Khali, D., Kim, S., Krishnan, S., Cousin, M., Gore, J., & Mauer, L. (2007). Review of mid-infrared fourier transform infrared spectroscopy applications for bacterial detection. *Journal of Rapid Methods & Automation in Microbiology*, 15(2), 146-175.
- Campo, M., Santolaria, P., Sañudo, C., Lepetit, J., Olleta, J., Panea, B., & Albertí, P. (2000). Assessment of breed type and ageing time effects on beef meat quality using two different texture devices. *Meat Science*, 55(4), 371-378.

- Campo, M. M. (2000). Assessment of breed type and ageing time effects on beef meat quality using two different texture devices. *Meat Science*, 55(4), 371.
- Carbonaro, M. (2010). Secondary structure of food proteins by Fourier transform spectroscopy in the mid - infrared region. *Amino Acids*, 38(3), 679 - 690.
- Cozzolino, D., Holdstock, M., Damberg, R. G., Cynkar, W. U., & Smith, P. A. (2009). Mid infrared spectroscopy and multivariate analysis: a tool to discriminate between organic and non-organic wines grown in Australia. *Food Chemistry*, 116(3), 761-765.
- Craigie, C. R., Ross, D. W., Maltin, C. A., Purchas, R. W., Morris, S. T., Roehe, R., & Bünger, L. (2012). Investigations into relationships between visible-near infrared (NIR) spectra and instrumental meat quality parameters in lamb *M. longissimus lumborum* and *M. semimembranosus*. *Farm animal imaging*.
- Downey, G., McElhinney, J., & Fearn, T. (2000). Species identification in selected raw homogenized meats by reflectance spectroscopy in the mid-infrared, near-infrared, and visible ranges. *Applied Spectroscopy*, 54(6), 894-899.
- Ellis, D. I., Broadhurst, D., & Goodacre, R. (2004). Rapid and quantitative detection of the microbial spoilage of beef by Fourier transform infrared spectroscopy and machine learning. *Analytica Chimica Acta*, 514(2), 193-201.
- Ellis, D. I., Broadhurst, D., Kell, D. B., Rowland, J. J., & Goodacre, R. (2002). Rapid and quantitative detection of the microbial spoilage of meat by Fourier transform infrared spectroscopy and machine learning. *Applied and Environmental Microbiology*, 68(6), 2822-2828.
- Ellis, D. I., & Goodacre, R. (2001). Rapid and quantitative detection of the microbial spoilage of muscle foods: current status and future trends. *Trends in Food Science & Technology*, 12(11).
- Etzion, Y., Linker, R., Cogan, U., & Shmulevich, I. (2004). Determination of protein concentration in raw milk by mid-infrared Fourier transform infrared/attenuated total reflectance spectroscopy. *Journal of dairy science*, 87(9), 2779-2788.
- 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(1), 115-122.
- García, B. M. C., & de Torre, G. L. (1991). *Manual de bioquímica y tecnología de la carne*: A. Madrid Vicente.
- Garibay, M. G., Ramírez, R. Q., & Canales, A. L. M. (1993). *Biotechnología alimentaria*: Limusa.
- Gómez, A., & Iraizoz, B. (2003). Diferenciación de la producción de carne de vacuno en base a su origen. El caso de la IGP Ternera de Navarra. *Distribución y consumo*(Marzo-Abril), 100-105.
- Grau, R., & Hamm, R. (1953). Eine einfache methode zur bestimmung der wasserbindung im muskel. *Naturwissenschaften*, 40(1), 29-30.
- Guillen, M. D. (2000). Some of the most significant changes in the Fourier transform infrared spectra of edible oils under oxidative conditions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(14), 2028.

- Hernández-Martínez, M. (2013). Prediction of total fat , fatty acid composition and nutritional parameters in fish fillets using MID - FTIR spectroscopy and chemometrics. *LWT - Food Science and Technology*, 52(1), 12-20.
- Hernandez, A. G., & Lopez, M. D. R. (2010). *Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos*: Editorial Medica Panamericana Sa de.
- Higson, S. P. J., & Balderas, P. (2007). *Química analítica*: McGraw Hill.
- Hildrum, K., Isaksson, T., Næs, T., Nilsen, B., Rodbotten, M., & Lea, P. (1995). Near infrared reflectance spectroscopy in the prediction of sensory properties of beef. *Journal of Near Infrared Spectroscopy*, 3(2), 81-87.
- Hui, Y. H. (2012). *Handbook of Meat and Meat Processing, Second Edition*: Taylor & Francis.
- Karoui, R., Bosset, J.-O., Mazerolles, G., Kulmyrzaev, A., & Dufour, É. (2005). Monitoring the geographic origin of both experimental French Jura hard cheeses and Swiss Gruyère and L'Etivaz PDO cheeses using mid-infrared and fluorescence spectroscopies: a preliminary investigation. *International Dairy Journal*, 15(3), 275-286.
- Karoui, R., Downey, G., & Blecker, C. (2010). Mid-Infrared Spectroscopy Coupled with Chemometrics: A Tool for the Analysis of Intact Food Systems and the Exploration of Their Molecular Structure-Quality Relationships - A Review. *Chemical Reviews*, 110(10), 6144-6168.
- Kerry, J. P., & Ledward, D. (2009). *Improving the Sensory and Nutritional Quality of Fresh Meat*: Elsevier Science.
- Koohmaraie, M. (1996). Biochemical factors regulating the toughening and tenderization processes of meat. *Meat Science*, 43, 193-201.
- Kramer, A., Aamlid, K., Guyer, R. B., & Rogers, H. (1951). New shear press predicts quality of canned limas. *Food Eng.(NY)*, 23(4), 112-113.
- Lawrie, R. A., & Ledward, D. (2006). *Lawrie's Meat Science*: Elsevier Science.
- Lepetit, J. (1994). Mechanical properties of meat. *Meat Science*, 36(1-2), 203.
- Liu, J., Chen, J., Dong, N., Ming, J., & Zhao, G. (2012). Determination of degree of substitution of carboxymethyl starch by Fourier transform mid-infrared spectroscopy coupled with partial least squares. *Food Chemistry*, 132(4), 2224-2230.
- Lozano, M. (2013). *Caracterización de la carne procedente de diferentes especies animales mediante espectroscopia MIR. Trabajo final de carrera*. Universidad Pública de Navarra.
- Luykx, D. M., & Van Ruth, S. M. (2008). An overview of analytical methods for determining the geographical origin of food products. *Food Chemistry*, 107(2), 897-911.
- Maltin, C., Balcerzak, D., Tilley, R., & Delday, M. (2003). Determinants of meat quality: tenderness. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62(02), 337-347.
- Mariey, L., Signolle, J., Amiel, C., & Travert, J. (2001). Discrimination, classification, identification of microorganisms using FTIR spectroscopy and chemometrics. *Vibrational Spectroscopy*, 26(2), 151-159.

- McElhinney, J., Downey, G., & O'Donnell, C. (1999). Quantitation of Lamb Content in Mixtures with Raw Minced Beef Using Visible, Near and Mid-Infrared Spectroscopy. *Journal of food science*, 64(4), 587-591.
- McKenna, B. M., & Kilcast, D. (2004). *Texture in Food: Solid Foods*: CRC Press.
- Meza-Márquez, O. G. (2010). Application of mid - infrared spectroscopy with multivariate analysis and soft independent modeling of class analogies (SIMCA) for the detection of adulterants in minced beef. *Meat Science*, 86(2), 511-519.
- Meza-Marquez, O. G., Gallardo-Velazquez, T., Osorio-Revilla, G., & Dorantes-Alvarez, L. (2012). Detection of clenbuterol in beef meat, liver and kidney by mid-infrared spectroscopy (FT-Mid IR) and multivariate analysis. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(11), 2342-2351.
- Naumann, D. (1984). Some ultrastructural information on intact, living bacterial cells and related cell-wall fragments as given by FTIR. *Infrared Physics*, 24(2), 233-238.
- Novakofski, J., & Brewer, S. (2006). The Paradox of Toughening During the Aging of Tender Steaks. *Journal of Food Science*, 71(6), S473-S479.
- Ordoudi, S. A., de los Mozos Pascual, M., & Tsimidou, M. Z. (2014). On the quality control of traded saffron by means of transmission Fourier-transform mid-infrared (FT-MIR) spectroscopy and chemometrics. *Food Chemistry*, 150(0), 414-421.
- Oussama, A., Elabadi, F., Platikanov, S., Kzaiber, F., & Tauler, R. (2012). Detection of olive oil adulteration using FT-IR spectroscopy and PLS with variable importance of projection (VIP) scores. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 89(10), 1807-1812.
- Papadopoulou, O. (2011). Contribution of Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy data on the quantitative determination of minced pork meat spoilage. *Food Research International*, 44(10), 3264-3271.
- Pearson, A. M., & Dutson, T. R. (1995). *Quality Attributes and Their Measurement in Meat, Poultry and Fish Products*: Springer US.
- Picque, D., Cattenoz, T., Corrieu, G., & Berger, J. (2005). Discrimination of red wines according to their geographical origin and vintage year by the use of mid-infrared spectroscopy. *Sciences des Aliments*, 25(3), 207-220.
- Pretsch, E., Bühlmann, P., & Affolter, C. (2000). *Structure Determination of Organic Compounds: Tables of Spectral Data*: Springer.
- Prieto, N. (2009). Application of near infrared reflectance spectroscopy to predict meat and meat products quality : A review. *Meat Science*, 83(2), 175-186.
- Qiao, Y., & Van Kempen, T. (2004). Technical note: Comparison of Raman, mid, and near infrared spectroscopy for predicting the amino acid content in animal meals. *Journal of animal science*, 82(9), 2596-2600.
- Rahim, H. A., Ghazali, R., Sahlan, S., & Maidin, M. S. (2013). Prediction of Texture of Raw Poultry Meat by Visible and Near-Infrared Reflectance Spectroscopy. *Jurnal Teknologi*, 64(5).
- Real Decreto 225/2008. Aplicación del modelo comunitario de clasificación de canales de vacuno pesado y regulación del registro de precios de mercado (2008).

- Ripoche, A., & Guillard, A. (2001). Determination of fatty acid composition of pork fat by Fourier transform infrared spectroscopy. *Meat Science*, 58(3), 299-304.
- Ripoll, G., Albertí, P., Panea, B., Olleta, J., & Sañudo, C. (2008). Near-infrared reflectance spectroscopy for predicting chemical, instrumental and sensory quality of beef. *Meat Science*, 80(3), 697-702.
- Risvik, E. (1995). *Composition of Meat in Relation to Processing, Nutritional and Sensory Quality: From Farm to Fork*: Institutionen for Livsmedelsvetenskap.
- Rohman, A. (2011). Analysis of pork adulteration in beef meatball using Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy. *Meat Science*, 88(1), 91-95.
- Rosenthal, A. J., & Ribas, A. I. (2001). *Textura de los alimentos: medida y percepción*: Acribia.
- Ruiz, D., Reich, M., Bureau, S., Renard, C. M., & Audergon, J.-M. (2008). Application of reflectance colorimeter measurements and infrared spectroscopy methods to rapid and nondestructive evaluation of carotenoids content in apricot (*Prunus armeniaca* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 56(13), 4916-4922.
- Ruoff, K., Luginbühl, W., Künzli, R., Iglesias, M. T., Bogdanov, S., Bosset, J. O., . . . Amadó, R. (2006). Authentication of the botanical and geographical origin of honey by mid-infrared spectroscopy. *Journal of agricultural and food chemistry*, 54(18), 6873-6880.
- Sahar, A. (2014). Use of Fourier transform - infrared spectroscopy to predict spoilage bacteria on aerobically stored chicken breast fillets. *LWT - Food Science and Technology*, 56(2), 315.
- Sarriés, M., & Beriain, M. (2006). Colour and texture characteristics in meat of male and female foals. *Meat science*, 74(4), 738-745.
- Ścibisz, I., Reich, M., Bureau, S., Gouble, B., Causse, M., Bertrand, D., & Renard, C. M. (2011). Mid-infrared spectroscopy as a tool for rapid determination of internal quality parameters in tomato. *Food Chemistry*, 125(4), 1390-1397.
- Seideman, S. (1986). Methods of expressing collagen characteristics and their relationship to meat tenderness and muscle fiber types. *Journal of Food Science*, 51(2), 273-276.
- Shen, F., Ying, Y., Li, B., Zheng, Y., & Hu, J. (2011). Prediction of sugars and acids in Chinese rice wine by mid-infrared spectroscopy. *Food Research International*, 44(5), 1521-1527.
- Shiroma, C., & Rodriguez-Solona, L. (2009). Application of NIR and MIR spectroscopy in quality control of potato chips. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(6), 596-605.
- Sivakesava, S., & Irudayaraj, J. (2002). Classification of simple and complex sugar adulterants in honey by mid-infrared spectroscopy. *International journal of food science & technology*, 37(4), 351-360.
- Skoog, D. A., Crouch, S. R., Holler, F. J., & Anzures, M. B. (2008). *Principles of Instrumental Analysis*: Cengage Learning Latin America.
- Soyeurt, H. (2009). Potential estimation of major mineral contents in cow milk using mid - infrared spectrometry. *Journal of Dairy Science*, 92(6), 2444.
- Stone, H., Bleibaum, R., & Thomas, H. A. (1993). *Sensory Evaluation Practices*: Elsevier Science & Technology Books.

- Sun, D. W. (2009). *Infrared Spectroscopy for Food Quality Analysis and Control*: Elsevier Science.
- Swatland, H. (1995). Objective assessment of meat yield and quality. *Trends in Food Science & Technology*, 6(4), 117-120.
- Tapp, H. S., Defernez, M., & Kemsley, E. K. (2003). FTIR spectroscopy and multivariate analysis can distinguish the geographic origin of extra virgin olive oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(21), 6110-6115.
- Tewari, J., & Irudayaraj, J. (2004). Quantification of saccharides in multiple floral honeys using Fourier transform infrared microattenuated total reflectance spectroscopy. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(11), 3237-3243.
- Thompson, J. (2002). Managing meat tenderness. *Meat Science*, 62(3), 295-308.
- Toldrá, F. (2010). *Handbook of Meat Processing*: Wiley.
- Voyle, C. (1971). *Sarcomere length and meat quality*. Paper presented at the Proceedings 17th European meeting of meat research workers, Bristol, England.
- Warner, K. F. (1928). Progress report of the mechanical test for tenderness of meat. *Proc. Am. Soc. Anim. Prod*, 21.
- Warriss, P. D. (2010). *Meat Science: An Introductory Text*: CABI.
- Welsch, U., & Sobotta, J. (2008). *Histología*: Editorial Medica Panamericana Sa de.
- Willard, H. H. (1988). *Instrumental Methods of Analysis*: Wadsworth Publishing Company.
- Wu, D., Feng, S. J., He, C., & He, Y. (2008). NIRS and MIRS technique for the determination of protein and fat content in milk powder - art. no. 66251S *International Symposium on Photoelectronic Detection and Imaging 2007: Related Technologies and Applications* (Vol. 6625, pp. S6251-S6251).
- Wu, D., He, Y., Shi, J., & Feng, S. (2009). Exploring near and midinfrared spectroscopy to predict trace iron and zinc contents in powdered milk. *Journal of agricultural and food chemistry*, 57(5), 1697-1704.
- Yang, H., & Irudayaraj, J. (2001). Comparison of near-infrared, Fourier transform-infrared, and Fourier transform-Raman methods for determining olive pomace oil adulteration in extra virgin olive oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 78(9), 889-895.
- Yang, H., Irudayaraj, J., & Paradkar, M. M. (2005). Discriminant analysis of edible oils and fats by FTIR, FT-NIR and FT-Raman spectroscopy. *Food Chemistry*, 93(1), 25-32.