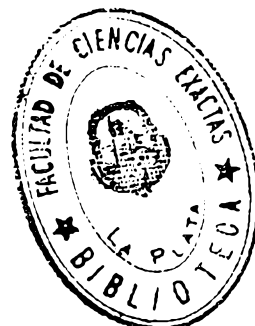


UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA

Facultad de Ciencias Exactas



MODIFICACIONES DE LA TEXTURA Y
COLORACION SUPERFICIAL DE
CARNES BOVINAS REFRIGERADAS Y
CONGELADAS

María Cecilia Lanari Vila

Tesis Doctoral

1988

Tesis
838

DONACION.....
A.....
Fecha... 28-6-99...
Inv. B..... Inv..... B. 56.911

El presente trabajo de tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias Químicas fue realizado en el Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecnología de Alimentos (CIDCA), Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata bajo la dirección de la Dra. Noemí E. Zaritzky de Ghener.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco particularmente a la Dra. Noemí Zaritzky por haber posibilitado la realización de esta Tesis bajo su dirección brindándome su guía, sólido respaldo y experiencia.

Al Sr. Vicente Valenti por su considerable aporte a través de la ayuda técnica.

Al Centro de Investigación y Desarrollo en Procesos catalíticos (CINDECA) y en especial al Lic. Norberto Firpo por haberme facilitado el uso del espectrofotómetro de reflectancia.

A las Dras Alicia Califano y Alicia Chaves por su asesoramiento en los análisis estadísticos.

A los Dres. Alicia Califano y Rodolfo Mascheroni y a la Calc. Sandra Poletti por su asistencia en el manejo de la computadora.

Al Dr. Jorge Wagner por su dedicación en el dibujo de las figuras del presente trabajo.

A la Dra. María Clara Zamora por la realización de los ensayos microbiológicos.

A mis compañeros del CIDCA por su apoyo y estímulo permanente.

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por la asistencia económica aportada, ya sea por las becas otorgadas como por los materiales e instrumental puestos a mi disposición a través del CIDCA sin los cuales este trabajo no hubiera podido concretarse.

A todos los que de alguna
manera me ayudaron a
realizar este trabajo

INDICE

CAPITULO 1	PAGINA
INTRODUCCION	
1.1 Consideraciones generales	1
1.2 Importancia económica de las carnes refrigeradas y congeladas en la economía argentina	2
1.3 Sistema muscular	6
1.3.1 Estructura del músculo	7
1.3.2 Composición química de la carne	11
1.3.3 Mecanismo de la contracción muscular	13
1.3.4 Rigidez cadavérica	14
1.3.5 Relación del rigor y de los cambios post-rigor con las propiedades del músculo	14
1.4 Calidad de la carne bovina	17
1.5 Conservación de la carne por refrigeración y congelación	17
1.6 Terneza de carne bovina	
1.6.1 Componentes estructurales del tejido muscular que afectan la terneza	24
1.6.2 Factores que afectan la terneza de la carne después del sacrificio	26
1.6.3 Efecto de la refrigeración y congelación en la terneza cárnica	32
1.7 Coloración superficial de carne bovina	
1.7.1 Localización y función de la mioglobina	35
1.7.2 Función de las hemoproteínas en la coloración del músculo	36
1.7.3 Interconversión de pigmentos musculares	41

	PAGINA
1.7.4 Factores que influyen en la coloración superficial de carne fresca	44
CAPITULO 2	
OBJETIVOS	51
CAPITULO 3	
EFFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA TERNEZA DE CARNE BOVINA	
3.1 Análisis de los métodos instrumentales utilizados en la evaluación de la ternera cárnica	
3.1.1 Determinación de la textura de la carne	53
3.1.2 Mediciones de fuerza de corte	54
3.1.3 Mediciones de tensión	55
3.1.4 Parámetros de medición	56
3.2 Modificaciones de la ternera cárnica durante el almacenamiento refrigerado y congelado de carne bovina envasada al vacío	
3.2.1 Materiales y métodos utilizados	57
3.2.1.1 Muestras	
3.2.1.2 Envasado	58
3.2.1.3 Congelación y descongelación	58
3.2.1.4 Almacenamiento	59
3.2.1.5 Cocción	59
3.2.1.6 Determinación de la ternera	59
3.2.1.7 Efecto de la velocidad de la velocidad de congelación y descongelación, tiempo y temperatura de almacenamiento congelado en la ternera cárnica	60
3.2.1.8 Análisis estadístico	60
3.2.2 Resultados y discusión	
3.2.2.1 Cálculo de los coeficientes de variación	61
3.2.2.2 Maduración de carne bovina	63

	PAGINA
3.2.2.3 Energía de activación	73
3.2.2.4 Otros indicadores de maduración	78
3.2.2.5 Tiempo de maduración	78
3.2.2.6 Efecto de la velocidad de congelación y descongelación en la ternera	81
3.2.2.7 Efecto de la velocidad de congelación, tiempo y temperatura de almacenamiento congelado y maduración previa en la ternera	82
3.3 Conclusiones	83

CAPITULO 4

COLORACION SUPERFICIAL DE CARNE BOVINA REFRIGERADA

4.1 Análisis de los métodos instrumentales para la medición del color superficial	85
4.2 Determinación de la concentración de pigmentos musculares mediante técnicas de reflectancia difusa. Fundamentación del método	86
4.3 Efecto de la temperatura, permeabilidad de película de envase y preservadores químicos (sorbato de potasio) en la coloración superficial de carne bovina.	
4.3.1 Materiales y métodos utilizados	
4.3.1.1 Muestras	92
4.3.1.2 Envasado	93
4.3.1.3 Almacenamiento	94
4.3.1.4 Determinación de las concentraciones relativas de pigmentos musculares	95
4.3.1.5 Determinación del residuo de sorbato de potasio	96
4.3.1.6 Análisis estadístico	96

4.3.2. Resultados y discusión	
4.3.2.1 Modificaciones de la concentración de Mb, MbO ₂ , y MetMb durante el almacenamiento aeróbico	97
4.3.2.2 Efecto del tiempo de almacenamiento al vacío en la capacidad de oxigenación	108
4.4 Conclusiones	114

CAPITULO 5

EFFECTO DE LA CONGELACION EN LA COLORACION SUPERFICIAL DE CARNE BOVINA ENVASADA EN PELICULAS DE DISTINTA PERMEABILIDAD GASROSA

5.1 Introducción	117
5.2 Materiales y métodos utilizados	
5.2.1 Obtención de muestras y envasado	118
5.2.2 Congelación y descongelación de las muestras	118
5.2.3 Estudio del efecto de la velocidad de congelación y descongelación	119
5.2.4 Estudio del efecto de la temperatura final de congelación	122
5.2.5 Influencia de la temperatura de almacenamiento y permeabilidad de la película de envase	122
5.2.6 Determinación de la concentración de pigmentos musculares	123
5.2.7 Análisis microbiológico	123
5.2.8 Análisis estadístico	124
5.3 Resultados y discusión	
5.3.1 Efecto de la velocidad de congelación y descongelación en la coloración superficial	124

	PAGINA
5.3.2 Efecto de la temperatura final de congelación en las concentraciones relativas de pigmentos musculares	128
5.3.3 Evolución de las concentraciones relativas de pigmentos musculares durante el almacenamiento aeróbico de carne bovina sometida a congelación parcial	130
5.3.4 Influencia de la temperatura y tiempo de almacenamiento aeróbico congelado en la concentración de pigmentos	134
5.3.5 Oxigenación de carne bovina envasada en películas de baja permeabilidad gaseosa	
5.3.5.1 Carne sometida a congelación parcial	143
5.3.5.2 Carne congelada hasta -25°C	148
5.4 Conclusiones	153
 CAPITULO 6	
 CONCLUSIONES	 155
 BIBLIOGRAFIA	 159
 APENDICE 1	 177
 APENDICE 2	 178

CAPITULO 1

INTRODUCCION

1.1 Consideraciones generales

La provisión de alimentos ha sido una preocupación primaria para el hombre desde el comienzo de los tiempos. La producción, procesado y distribución de los mismos han evolucionado paralelamente a la civilización y al aumento de la población. En vista de los cruciales problemas que implica la rápida y continua expansión de la población mundial y de la necesidad de mejorar su nivel de vida se podría anticipar que en el futuro se tenderá a obtener el máximo aprovechamiento posible de los productos alimenticios tanto de origen animal como vegetal, a reducir al mínimo las pérdidas originadas por microorganismos, procedimientos deficientes etc. y a preparar a partir de cereales, legumbres, concentrados de proteínas de pescado y, posiblemente de proteínas de hojas y organismos unicelulares alimentos suplementarios ricos en proteínas para poder emplearlos en conjunción con alimentos locales tradicionales.

Estos avances suponen para el mercado de productos alimenticios de origen animal una agresiva competencia. Sin embargo, en vista del papel clave de la carne y de otros productos de esta procedencia en la dieta de la mayoría de las civilizaciones y de su importancia en el aporte de proteínas de alta calidad, minerales y vitaminas, es indudable que la demanda de carne continuará siendo alta. Por este motivo, la magnitud de las operaciones de la industria de la carne y su importancia para la economía argentina continuarán en vigencia por un largo tiempo.

1.2 Importancia económica de las carnes refrigeradas y congeladas en la economía argentina

La estructura del comercio exterior argentino se caracteriza por una elevada participación de bienes de origen agropecuario en el total de las exportaciones. Tradicionalmente, el rubro carnes juega un papel muy importante en este aspecto e incluso en la economía interna del país. Al respecto debe mencionarse el alto consumo de carnes por habitante y por año mantenidos en la Argentina en los últimos años lo que nos convierte en uno de los países de más alto índice en el mundo (Tabla 1).

TABLA 1

Consumo anual de carne vacuna, ovina y porcina en kg. por habitante

PRODUCTO	1978	1979	1980	1981	1982	1983
Vacuna	90.5	84.8	85.5	85.3	70.3	67.2
Ovina	3.3	3.6	3.3	3.2	3.0	3.0
Porcina	7.8	9.4	9.5	8.9	8.0	7.0
Total	101.7	97.8	98.6	97.4	81.3	77.2

Fuente: Junta Nacional de Carnes

La Tabla 2 avala la importancia de esta actividad en el país con producciones del orden de los 3.000.000 ton/año. La misma tabla muestra la importancia que tiene la carne bovina en relación al resto de la producción (88.2% promedio en el período 1980/1983).

TABLA 2

Producción de carne vacuna, ovina y porcina (ton. de carne peso
plaza)

PRODUCTO	1981		1982		1983	
	ton.	%	ton.	%	ton.	%
Vacuna	2.555.142	88.9	2.550.142	88.2	2.383.573	88.2
Ovina	113.778	3.4	110.848	3.8	110.388	4.1
Porcina	253.663	7.7	230.316	8.0	206.650	7.7
Total	3.306.646		2.891.706		2.700.618	

Fuente: Junta Nacional de Carnes

Desde el punto de vista de las exportaciones, la Tabla 3 presenta los valores promedio del orden de 475.000 toneladas por valor de 920 millones de dólares en el periodo 1978/83 lo que indica el peso del rubro carnes, menudencias y extracto en el comercio argentino (la inclusión del rubro subproductos llevaría la cifra promedio a 1.360 millones de dólares, lo que significaría el 17,7% del monto total de las exportaciones argentinas en el periodo mencionado).

TABLA 3
Exportaciones de carnes, menudencias y extractos

Año	Toneladas	Miles de U\$A
1978	603.062	783.946
1979	581.817	1.200.787
1980	377.384	943.869
1981	398.209	900.811
1982	420.080	778.763
1983	343.494	607.034
1984	223.060	398.034
1985	226.042(*)	374.843(*)

No incluye ganado en pie, cueros, grasas y sebos.

Fuente: Junta Nacional de Carnes

(*) Datos provisorios

Las exportaciones de carnes bovinas enfriadas y congeladas en miles de dólares se muestran en la Tabla 4 para el periodo 1978/1985. Los valores señalan un monto promedio de 697 millones de dólares para carne bovina en el periodo 1978/1981 lo que significa el 75,6% de los montos correspondientes al total de carnes menudencias y extractos presentados en la Tabla 3. Como puede observarse, durante los años 1984 y 1985 Argentina ha disminuido notablemente su actividad exportadora.

Hasta 1969 Argentina fue el primer exportador de carne vacuna, a principios de la década del 70 comenzó a retroceder en la lista de exportadores mundiales de carne quedando atrás de Australia; diez años más tarde fue desplazada por la Comunidad Económica Europea. Hacia 1983 Brasil la ha desplazado al cuarto sitio y actualmente ocupa el sexto lugar.

Tabla 4

Exportaciones de carnes bovinas refrigeradas y congeladas en miles de U\$A

	1980	1981	1982	1983	1984	1985
Carnes vacunas	689.731	669.219	570.202	432.271	208.345	212.912

Los valores correspondientes a 1985 son provisorios

Durante el período 1981/1983 los principales mercados de carnes refrigeradas y congeladas argentinas fueron: Mercado Común Europeo, Unión Soviética, Estados Unidos, países petroleros de Asia y Africa y países de la ALADI (Asociación Latinoamericana de Integración).

Las tendencias actuales muestran a nivel mundial la baja incidencia de las cotizaciones de los bienes de menor elaboración respecto de los de mayor valor agregado. Diversos son los orígenes de este fenómeno pero fundamentalmente se debe a la estrategia de las naciones industriales orientadas hacia el autoabastecimiento de alimentos y su amplia base tecnológica y productiva (FIDE, 1985).

Esto ha permitido que países antiguamente compradores sean actualmente nuestros competidores. Consecuentemente, la Argentina ha dirigido sus ventas hacia nuevos mercados. La satisfacción de los requerimientos que estos plantean, así como el posible ingreso a otros mercados no tradicionales, conduce a la necesidad de nuevos desarrollos y nuevas tecnologías.

Las exportaciones de carnes argentinas muestran una consis-

tente tendencia a incrementar el valor agregado. Es así que de las exportaciones de ganado en pie se pasó a las medias reses, cuartos y últimamente a cortes y porciones controladas y envasadas.

Desde el punto de vista del consumo interno la tendencia mundial es la implementación de centrales de empaque que permitan el envío de los cortes envasados, preparados para la venta minorista. En este aspecto, el envasado al vacío en películas de baja permeabilidad constituye un procedimiento adecuado ya que prolonga significativamente la vida útil del producto. Nuestro país tiende a la aplicación de estos sistemas más higiénicos y seguros para la venta de carnes y requeriría entonces el conocimiento de las causas y velocidad de alteración de los productos.

A pesar de la relevancia del tema, muchas ramas de la industria alimenticia aun se basan más en un conocimiento empírico que en datos científicos y son pocas las que incorporan tecnología para mejorar la calidad y ahorrar costos. Por estos motivos y con el fin de elevar su actual nivel, es necesario un profundo conocimiento de los mecanismos físicos, químicos y bioquímicos que sustentan los diversos procesos y conversiones que tienen lugar durante el procesamiento y almacenaje de los alimentos en general y de la carne en particular

1.3 Sistema muscular

El conocimiento de la estructura tisular, del sistema proteico así como de las reacciones bioquímicas que se producen en el músculo a pesar de su complejidad proporciona una base fun-

damental para dilucidar los efectos de los cambios que experimenta antes y después del sacrificio, así como la acción de la temperatura y otros posibles tratamientos sobre los parámetros de calidad.

1.3.1 Estructura del músculo

Las propiedades nutricionales de la carne y numerosos parámetros de calidad tales como conservabilidad, textura, pérdida de jugosidad color etc. están ligados a la estructura del sistema proteico muscular así como a las reacciones que en él se producen, por lo tanto conocer dicha estructura y los procesos químicos y enzimáticos asociados presenta a pesar de su complejidad gran interés desde el punto de vista tecnológico.

El músculo está constituido esencialmente por fibras dispuestas en una forma característica debido a una serie de componentes del tejido conectivo que actúan tanto de envoltura como de elemento de separación (Fig. 1). Generalmente cada músculo está rodeado de una gruesa lamina de tejido conectivo que penetra en él y recibe el nombre de epimisio de donde parten elementos (perimisio) que penetran en él dividiéndolo en grupos de fibras denominados haces o fascículos, del perimisio parten septos (endomisio), que se introducen en los haces y rodean a cada una de las fibras individuales. La disposición del tejido conectivo permite el acceso al músculo de vasos y nervios, rodeando también las células adiposas. El tendón es un elemento más del tejido conectivo que une las fibras musculares a los huesos y otras estructuras.

La unidad fisiológica del músculo es la fibra muscular,

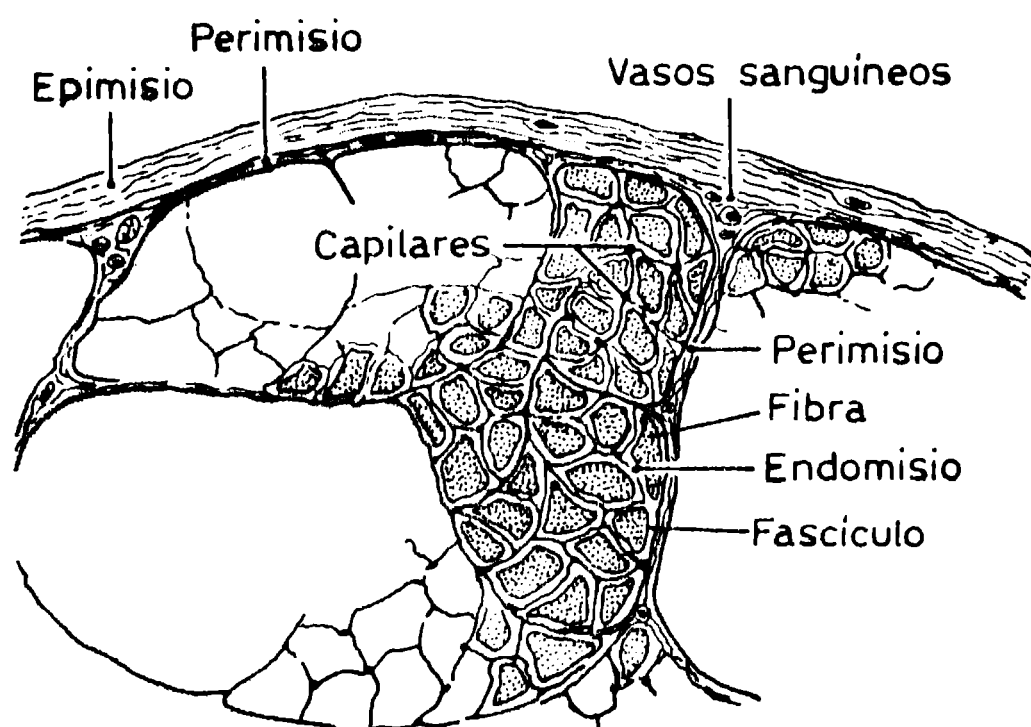


Figura 1: Esquema de una sección transversal de músculo esquelético. (Price y Schweigert, 1976).

célula cilíndrica polinucleada cuyo espesor puede variar entre 10 y 100 μm , pudiendo su longitud superar los 30 cm. Cada fibra está envuelta en una membrana llamada sarcolema situada inmediatamente debajo del endomisio y en su interior contiene las miofibrillas (elementos contractiles del músculo) y una fase líquida llamada sarcoplasma. En el sarcoplasma se encuentran los núcleos situados periféricamente, característica distintiva del músculo esquelético, las mitocondrias, organelas productoras de energía; retículo sarcoplasmático y sistemas tubulares transversales que intervienen en el mecanismo de acoplamiento excitación-contracción. Se ha observado también la presencia de organelas tales como los complejos de Golgi en los polos de los núcleos, partículas y compuestos parcialmente solubles como ATP, creatina, mioglobina, enzimas glucolíticas, glucógeno etc.

En la Fig. 2 pueden observarse los distintos niveles estructurales del músculo. A nivel microscópico cada miofibrilla de aproximadamente 1 μm de diámetro está compuesta por filamentos paralelos, alternativamente gruesos y delgados de miosina y actina respectivamente. La disposición de estos filamentos es la que confiere a la miofibrilla su aspecto estriado; en el microscopio electrónico quedan delimitadas en forma bien visible las zonas oscuras (banda A) y las claras (banda I). Puede observarse también que una línea oscura, llamada línea Z bisecciona la banda I y una zona clara en el centro de la banda A conocida como zona H atravesada por la línea M. La Fig. 2 representa también la sección longitudinal de la estructura de un elemento miofibrilar o sarcómero y en sección transversal la forma en que se interpenetran filamentos delgados y gruesos deducida de los espectros de difracción de rayos X de las imágenes logradas con microscopio

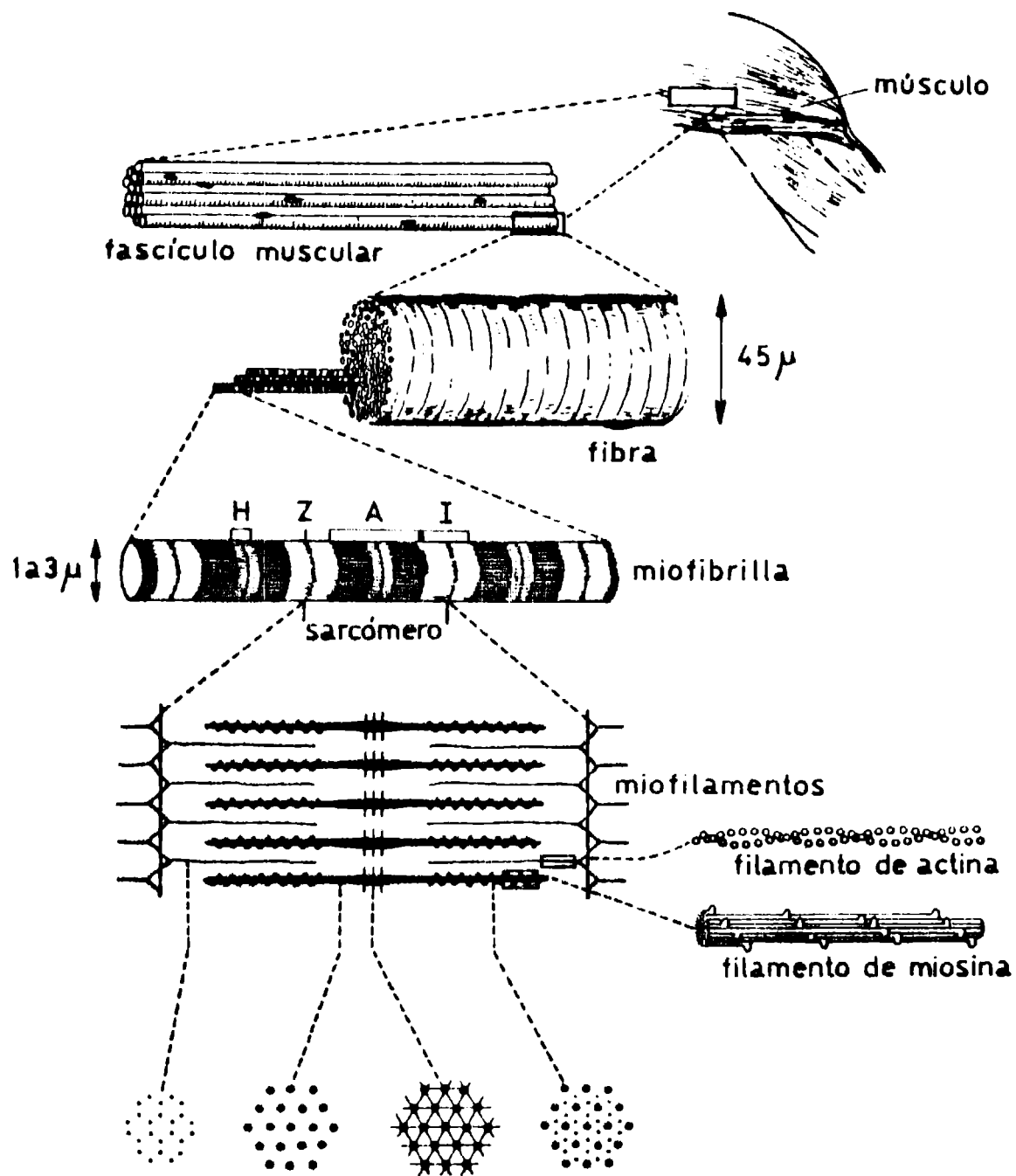


Fig. 2: Organización estructural del músculo esquelético desde niveles macroscópicos a microscópicos (Fennema, 1973).

electrónico gracias a la solubilización de algunos de sus componentes proteicos (Cheftel y Cheftel, 1976).

1.3.2 Composición química de la carne

La composición química de la carne puede verse afectada por numerosos factores, entre ellos, el tipo de alimentación, raza, sexo, edad, localización anatómica, ejercicio realizado por el animal durante su vida y la variabilidad interanimal (Lawrie, 1974; Cheftel y Cheftel, 1976)

La distribución de los principales constituyentes pasado el estado de rigor mortis y antes de producirse los procesos degradativos puede resumirse de la siguiente manera:

-Agua: 75.5% Con valores extremos entre 70 y 80%. Cuanto mayor es el contenido graso o la edad menor resulta la proporción de agua.

-Sólidos totales: 24.5% con valores extremos entre 20 y 30%.

a - Sólidos orgánicos: de 19.0 a 28,5%

con 18 a 20% de proteínas, 3% de lípidos de los cuales 0.3 a 1% son fosfolípidos y 3.5% sustancias solubles no proteicas.

b - Sólidos minerales: de 1.0 a 1.5% de

los cuales el 38% son iones potasio intracelulares y 7% iones sodio extracelulares.

Si se excluye el agua, las proteínas en conjunto constituyen la mayor parte del organismo animal. En el músculo vivo son los componentes más importantes por su función fisiológica y en la carne constituyen la principal fuente nutricional de alta calidad para la dieta humana. Los principales constituyentes proteicos del músculo se distribuyen en:

- Proteínas sarcoplásmicas: entre 25 a 30%. Las funciones que cumplen son muy diversas, entre ellas se encuentran enzimas glucolíticas, mioglobina, nucleoproteínas, proteínas lisosómicas.
- Proteínas miofibrilares: 50% de las cuales 54% corresponde a miosina y 27% a actina y en menores proporciones actomiosina, troponinas, tropomiosina y actininas. Son las que imparten rigidez estructural al músculo y transforman la energía química en energía mecánica durante la contracción.
- Proteínas del tejido conectivo: 10 - 15% entre ellas puede citarse el colágeno y la elastina que constituyen junto con el armazón esquelético, el principal elemento de sostén del organismo animal.

1.3.3 Mecanismo de la contracción muscular

El músculo vivo cumple sus funciones mecánicas con un consumo energético favorecido por el aporte de la circulación sanguínea que proporciona oxígeno y las sustancias necesarias para la síntesis del glucógeno. Los procesos de contracción y relajación se producen normalmente en condiciones aeróbicas y solamente son posibles cuando hay disponibilidad suficiente de ATP que proporciona la energía necesaria para llevar a cabo estas funciones. Las reacciones que entran en juego en la contracción muscular son muy complejas y no están totalmente esclarecidas. En presencia de ATP y Mg^{2+} , mientras que iones Ca^{2+} quedan retenidos en el retículo sarcoplasmático la miosina no manifiesta actividad ATP-ásica y el músculo está relajado; en estas condiciones no hay ninguna dificultad para el deslizamiento de los filamentos de actina a lo largo de los de miosina bajo el efecto de una fuerza externa. Ante un estímulo del sistema nervioso, el retículo sarcoplasmático libera Ca^{2+} manifestándose la actividad ATP-ásica de la miosina, la hidrólisis del ATP libera energía y se produce la contracción muscular por la interacción momentánea miosina-actina. Al cesar el estímulo nervioso el retículo sarcoplasmático recobra el calcio y la contracción llega a su fin con la ineludible condición de que queden ATP y Mg^{2+} disponibles.

Normalmente el contenido de ATP permanece constante ya que puede formarse por acción enzimática o por glicólisis anaerobia, esta última reacción solo ocurre cuando el aporte de oxígeno por sangre no es suficiente para que continúe el mecanismo aeróbico.

1.3.4 Rigidez cadavérica

Producida la muerte y el desangrado cesa el aporte de oxígeno, en los primeros momentos el músculo conserva cierta disponibilidad de oxígeno y de glucógeno por lo tanto hay resíntesis de ATP pero pronto estas reservas se agotan, el ambiente se torna anaerobio y la glucosa se desdobla en ácido láctico liberando una cantidad de energía mucho menor con la consiguiente disminución de la formación de ATP hasta que pasado cierto lapso estos procesos se anulan. Cuando esto ocurre la relajación (disociación del complejo acto-miosina) no es posible produciéndose el fenómeno de rigidez cadavérica o rigor mortis.

Como consecuencia de la acumulación de ácido láctico formado se produce un descenso del pH hasta valores alrededor de 5.5, este valor es muy cercano al pH isoelectrico de las proteínas del músculo y ello se traduce en una disminución de la capacidad de retención de agua lo que influye desfavorablemente en la calidad de la carne. Tanto la velocidad de caída del pH como su valor final influyen en el color, capacidad de retención de agua y textura del tejido.

1.3.5 Relación del rigor y de los cambios post-rigor con las propiedades del músculo

El lapso entre la muerte y la rigidez cadavérica depende de las actividades relativas de los sistemas enzimáticos involucrados en la síntesis y degradación del ATP, que a su vez es función de la concentración de compuestos orgánicos fosforados y glucógeno en el músculo en el momento de la muerte. Si ello

ocurre en estado de buena alimentación y descanso el período entre la muerte y el rigor mortis será mayor, los valores finales de pH alcanzados serán más bajos y mejor la calidad de la carne. Si el sacrificio se realiza con el animal en estado de excitación o de inanición la reserva de glucógeno es débil el descenso del nivel de ATP es rápido provocando un marcado endurecimiento y gran disminución de la capacidad de retención de agua aunque el descenso del pH sea relativamente pequeño a causa de la falta de glucógeno. Esto origina además un serio inconveniente desde el punto de vista microbiológico ya que la disminución acusada del pH retarda considerablemente la proliferación de la flora microbiana en la superficie.

La temperatura de almacenamiento durante el período post-rigor tiene un efecto significativo en la calidad de la carne. Si después de la muerte, un animal sometido a stress no se enfría rápidamente, el pH desciende rápidamente a niveles muy bajos, el efecto combinado del bajo pH y alta temperatura en el músculo puede motivar una desnaturalización de las proteínas musculares y que una gran parte del agua del gel miofibrilar se expulse hacia los espacios intercelulares o incluso se exude hacia afuera del tejido provocando modificaciones altamente desfavorables en la textura. Este tipo de características se observan con frecuencia en porcinos pero es poco frecuente en bovinos, obteniéndose carne pálida, blanda y exudativa (PSE). Este clase de músculo ocasiona problemas durante el envasado debido a su baja capacidad de retención de agua, el color es anormalmente pálido por que su estructura física aumenta la dispersión de la luz confiriendo a la carne un aspecto opaco.

Bajas velocidades de caída del pH y altos valores finales

del mismo debido a insuficientes niveles de glucógeno residual durante el sacrificio ocasionan otro tipo de alteraciones indeseables conocidas como carne oscura, firme y seca (DFD). El músculo presenta un aspecto traslúcido y pegajoso al tacto. Este tipo de productos son inaceptables para la producción de cortes envasados debido a su color púrpura oscuro. Además su alto pH favorece el desarrollo de flora microbiana putrefactiva con la consiguiente pérdida de vida útil.

Cuando el músculo alcanza 0 - 1°C antes del rigor mortis (acortamiento por frío; "cold shortening"), o si se congela y la rigidez tiene lugar durante la descongelación (rigor de la descongelación; "thaw rigor") se produce un endurecimiento intenso precedido por una contracción del músculo sobre todo si este último no está mantenido en extensión por el esqueleto del animal. Este comportamiento se debe a una cesión de iones Ca^{2+} al sarcoplasma lo que origina una hidrólisis rápida del ATP todavía presente en cantidades elevadas y por consiguiente a una liberación de energía; estas condiciones análogas a las que prevalecen durante la contracción normal, también provocan una contracción y el endurecimiento posterior será tanto más pronunciado cuanto mayor sea la magnitud de la interacción entre actina y miosina.

Estos fenómenos tienen vital importancia en la calidad de la carne; en la práctica el enfriamiento del animal se hace de manera tal que el músculo alcance el rigor mortis a una temperatura comprendida entre 14 y 19°C (Price y Schweigert, 1971) pues a esta temperatura la contracción es mínima. Asimismo, se procura no congelar la carne antes que alcance a completar la rigidez; por el contrario, se evita el descongelar muy rápido.

1.4 Calidad de la carne bovina

La calidad final de la carne depende de las principales modificaciones metabólicas que experimenta el músculo en los momentos inmediatos al sacrificio y de los consecuentes cambios físicos y químicos. La fisiología del animal y las manipulaciones a que se someta la carne después del sacrificio influyen en los cambios metabólicos que ocurren antes, durante y después del rigor mortis. Estos factores afectan el valor potencial de la carne para su ulterior procesamiento y también su aceptabilidad por parte del consumidor.

En la carne ideal debe conjugarse la capacidad para retener un elevado valor nutritivo cuando se la somete a la cocción con una amplia serie de propiedades funcionales entre las cuales pueden citarse: ternura, jugosidad, flavor, color, aromas, grasa intramuscular etc. La capacidad de los tejidos para satisfacer estas exigencias depende de la edad del animal, de su nutrición, constitución genética y de su estado de desarrollo así como también del metabolismo post-mortem y de los cambios físicos consiguientes; los métodos de conservación utilizados resultan de vital importancia en el mantenimiento de los atributos de calidad

1.5 Conservación de la carne por refrigeración y congelación

La carne fresca es uno de los alimentos más perecederos, y por ello es preciso aplicar los procedimientos de conservación inmediatamente después del sacrificio. Actualmente, la refrigeración y la congelación son los métodos más usados para la preservación de la carne. La refrigeración es el medio más común

y mejor para periodos de almacenamiento relativamente cortos. Comparando la refrigeración con otras técnicas de preservación, ésta permite conservar los productos sin alterar las características originales; generalmente tienen una menor degradación del color, aroma, sabor, textura y valor nutritivo. Aunque la congelación proporciona tiempos de vida útil mayores que la refrigeración, ésta requiere menor energía y es a menudo preferida por el consumidor.

En ambos procedimientos las bajas temperaturas utilizadas retardan tanto el crecimiento microbiano como las reacciones químicas y enzimáticas causantes de modificaciones indeseables y en el caso de carnes congeladas se suma el efecto de la disminución de la actividad acuosa por formación de hielo.

La eficiencia de la refrigeración depende de la calidad microbiológica de la materia prima, del tiempo de enfriamiento y de las condiciones de almacenamiento (Nottingham, 1982). Con respecto a la calidad de la materia prima, la contaminación de las reses no puede ser evitada, pero es posible limitarla y controlar sus efectos por el uso de métodos de sanitación apropiados.

El tiempo de enfriamiento tiene gran influencia sobre la velocidad de crecimiento de los microorganismos, pero no afecta a la flora microbiana que se desarrolla en la superficie debido a que ésta se enfría rápidamente. El enfriamiento de los músculos internos es más lento porque está limitado por la velocidad de transferencia de calor.

La estimulación eléctrica de las canales ha generado mucho interés en los últimos años como un medio para acelerar el descenso del pH post-mortem y el establecimiento del rigor. La

técnica es particularmente útil cuando la carne se somete inmediatamente después del sacrificio a un enfriamiento rápido o congelación ya que al acelerar la caída del pH se evita el riesgo del acortamiento por frío. Con este método, el pH final se alcanza dentro de las 4 hs. en comparación con las 15-20 hs. en las reses no estimuladas (Bendall, 1980).

Durante la congelación el agua presente se transforma en cristales de hielo y prácticamente todos los componentes no acuosos se concentran en la fase no congelada aumentando así su concentración. El efecto neto es semejante a una deshidratación convencional excepto que en este caso la temperatura es menor y el agua separada se deposita localmente como hielo.

La formación de hielo no es un proceso instantáneo y completo, progresa a medida que desciende la temperatura. Varios investigadores determinaron la cantidad de hielo presente a distintas temperaturas (Riedel, 1957; Mackenzie, 1975) algunos por métodos calorimétricos, otros dilatométricos o histológicos

En tejidos musculares, cerca del 80% del agua congelable se convierte en hielo entre -1 y -7°C . Al disminuir la temperatura la fracción de agua no congelada continúa aumentando en forma relativamente menor (Fig. 3). Sin embargo, existe una cierta proporción de agua no congelable ligada a proteínas, que no es removible aun en las cercanías del cero absoluto.

Las carnes congeladas sufren una serie de modificaciones que incluyen: a) cambios en la capacidad de retención de agua del músculo cuando es descongelado, b) modificaciones texturales, c) cambios en el color superficial. El primero de los efectos es el más importante, debido a las pérdidas de exudado y las alteraciones producidas en las propiedades organolépticas de la

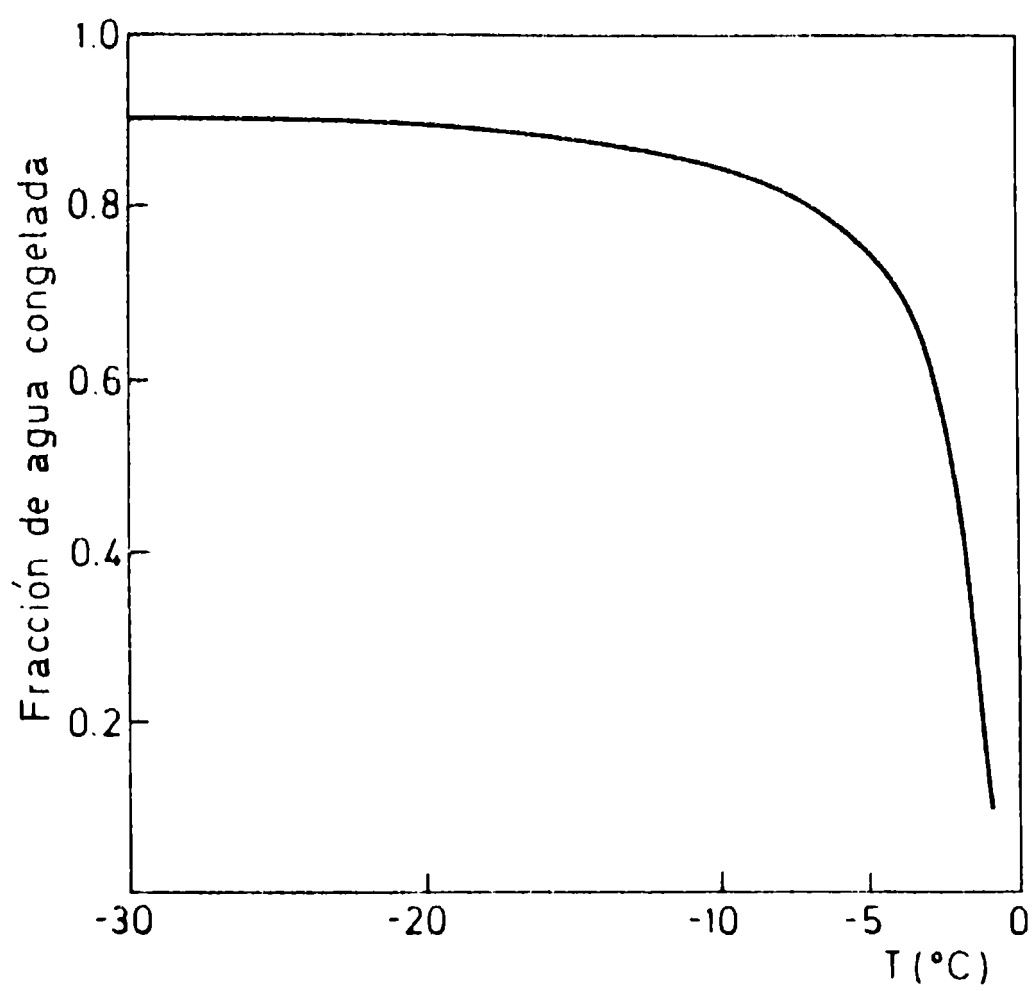


Fig. 3: Fracción de agua congelada para tejido bovino con 75% agua en base seca (Kiedel, 1957).

carne cocida. Jul (1984) informó que la vida útil de los alimentos congelados depende no solamente de la tolerancia al tiempo y temperatura de almacenamiento (Factores TTT) sino también de factores como el producto, proceso y envasado (Factores PPP).

Otros factores que influyen en la calidad de la carne congelada son el estado de pre y post-rigor, el pH, grado de contaminación y los tratamientos previos a la congelación (inactivación enzimática, adición de antioxidantes o crioprotectores)

Asimismo, las condiciones de almacenamiento (nivel térmico, fluctuación de temperatura, tipo de envase) influyen significativamente en el tiempo en que la calidad del producto se mantiene en un nivel satisfactorio.

Durante el almacenamiento de carnes congeladas se producen una serie de alteraciones que motivan la aparición de olores y sabores desagradables debido al deterioro de lípidos y proteínas. Los cambios de olor y sabor se deben principalmente a los componentes grasos y se presentan más fácilmente en la carne de cerdo que en la ovina o bovina.

Las modificaciones lipídicas más importantes se deben a procesos de autoxidación e hidrólisis de la grasa intramuscular. Los ácidos grasos poliinsaturados se autoxidán en presencia de oxígeno produciendo aldehídos, cetonas y ácidos de bajo peso molecular responsables del olor a rancio. La liberación de ácidos grasos en músculo congelado se produce en general en forma concurrente con la insolubilización de proteínas.

Cambios indeseables en color y apariencia (aparición de color marrón, pérdida de brillo, exudado) son debidos a transformaciones que ocurren en las proteínas del músculo.

Los cambios texturales como dureza, pérdida de jugosidad, textura gomosa y capacidad de retención de agua son atribuibles a la desnaturalización de proteínas, particularmente de las miofibrilares, que tiene lugar durante el almacenamiento congelado.

La deshidratación de las fibras provocada por la formación de hielo extracelular afecta el entorno proteico al modificar las interacciones hidrofílicas-hidrofóbicas de éstas y causa cambios en sus estructuras tridimensionales, induce interacciones proteína - proteína y consecuentemente agregación.

Por otra parte debido al aumento de fuerza iónica es esperable durante el almacenamiento la alteración de las proteínas miofibrilares y que éstas al interactuar formen compuestos insolubles así como también la disminución de la actividad enzimática de la miosina y de las proteínas sarcoplásmicas (Wagner y Anón, 1985, 1986 a y b).

Los cambios físicos que pueden ocurrir durante el almacenamiento congelado incluyen la recristalización, el quemado por frío y la formación de eutécticos.

La recristalización del hielo es el más importante de los fenómenos físicos enunciados y consiste en el aumento del tamaño cristalino sin que se modifique la masa total de agua congelada.

El quemado por frío se presenta como superficies deshidratadas y opacas, se debe a la sublimación del hielo de la superficie cuando la presión de vapor del hielo es mayor que la correspondiente al aire circundante. Estudios histológicos revelaron que la superficie tiene un aspecto esponjoso y que las cavidades microscópicas que la conforman son responsables de la dispersión de la luz ocasionando un aspecto blanquecino,

desagradable que reduce la calidad organoléptica del producto. Esta alteración puede ser evitada envasando el producto en un material impermeable al vapor de agua que se adapte íntimamente a la superficie del mismo.

Otro método que emplea la técnica del frío y que ha comenzado a ser utilizado en pescado, es el de los productos semicongelados, útil para períodos de almacenamiento del orden de 2 meses. Esta tecnología podría considerarse intermedia entre la refrigeración y la congelación. Consiste en elevar las temperaturas convencionales de almacenamiento congelado (-18°C) a valores entre -3°C y -8°C según el producto. Puede lograrse una apreciable reducción de la actividad bacteriana, los deterioros tisulares son mínimos debido al reducido contenido de hielo, la desnaturalización proteica y la oxidación lipídica son bajas y se logra una considerable reducción de los costos de consumo energético al compararlos con los de almacenamiento congelado (Fennema, 1975a, b; Gibbard y col., 1984)

Los métodos modernos de comercialización de carnes conservadas han permitido el desarrollo de sistemas de envasado para proteger el producto durante su distribución y ofrecer al consumidor carne en condiciones higiénicas y de fácil preparación.

El envasado en películas de permeabilidad gaseosa reducida modifica la atmósfera interna que rodea el producto e influye fundamentalmente en la pérdida de agua, la capacidad respiratoria del tejido, el color, la extensión y tipo de deterioro microbiano que sufrirá la carne durante el almacenamiento.

Por lo anteriormente expuesto puede concluirse que la calidad de carne vacuna refrigerada y congelada depende de una serie de factores interrelacionados entre los cuales se encuentran

el color y la terneza. A pesar de que el color es el factor determinante en el momento de compra, la terneza es la característica que más influye en la aceptabilidad de un corte de carne por parte del consumidor. Esto plantea la necesidad de analizar en forma detallada el efecto de la refrigeración y la congelación en dichos atributos de manera de lograr productos de calidad apropiada, aptos para competir en el mercado internacional.

1.6 Terneza de carne bovina

1.6.1 Componentes estructurales del tejido muscular que afectan la terneza

El tejido muscular posee numerosos componentes que contribuyen en forma significativa a su terneza. Harris (1976) y Stanley (1983) informaron que entre los principales factores estructurales que afectan la terneza se encuentran las proteínas miofibrilares, el tejido conectivo así como el contenido de agua y las membranas musculares.

El componente del tejido conectivo que más influye en la terneza es el colágeno aunque existe otra proteína, la elastina, que por ser resistente al calor y por lo tanto a la degradación durante la cocción podría contribuir a la terneza cárnica pero por fortuna la cantidad en que se encuentra es muy baja.

Las diferencias de terneza observadas entre distintos músculos de animales de la misma edad se atribuyeron a variaciones en la cantidad de tejido conectivo presente; el aumento de dureza debido a la edad se debe a un incremento en el

grado de entrecruzamiento del mismo. La orientación espacial de las fibras de colágeno es un factor de considerable importancia ya que influye en el estado de contracción del músculo.

Existe evidencia que durante la maduración post-mortem se produce un debilitamiento del tejido conectivo que contribuiría a la disminución de la dureza del músculo (Stanley, 1983).

El grado de entrecruzamiento de la interacción actina-miosina determina el estado de contracción del músculo, cuanto mayor sea, menor será la ternura como resultado de la inextensibilidad y rigidez producida.

Varios autores (Locker y Leet, 1976; Locker y col., 1977) sugirieron que la naturaleza elástica del músculo se debería a la existencia de una red de filamentos que contienen una proteína llamada conectina. Esta red empezaría en un extremo de un filamento grueso, emergería por un extremo de la banda A pasando entre los filamentos finos de la banda I a través del disco Z para terminar en otro filamento grueso.

Currie y Wolfe (1980) postularon que el agua interfibrilar poseía la capacidad de reducir la adhesividad entre las miofibrillas por lo tanto constituiría un factor adicional de considerable importancia en determinar las propiedades físicas de la carne.

Lawrie (1974) informó que la grasa intramuscular diluye los elementos del tejido conectivo en que se deposita y a esto se debe la menor dureza de la carne vacuna procedentes de animales de buena calidad y bien alimentados.

1.6.2 Factores que afectan la terneza de la carne después del sacrificio

El procesamiento del músculo luego del sacrificio influye marcadamente en la terneza final del mismo.

Khan (1977) cita tres variables principales que influyen en el desarrollo del rigor mortis y por consiguiente en la terneza muscular: contenido de ATP en el momento de muerte; extensión y velocidad de la glicólisis post-mortem; estado nutricional previo, grado de stress y esfuerzo del animal durante el sacrificio. Variaciones de estos factores pueden conducir a distintos modelos de caída del pH que ocasionan alteraciones indeseables como el músculo PSE o el de corte oscuro ya explicados anteriormente.

Los acontecimientos post-mortem influyen en la terneza de la carne no solamente a través del rigor mortis sino también como resultado de la acción de numerosas enzimas endógenas que actúan en la estructura miofibrilar y posiblemente en el tejido conectivo durante el período de maduración.

El conjunto de transformaciones que se producen una vez alcanzado el estado de rigor mortis conduce a un proceso gradual de tiernización denominado maduración.

El mecanismo exacto con que se produce la maduración no se conoce en forma completa, siendo varias las reacciones que están involucradas (Eino y Stanley, 1973a; Stanley y Brown, 1973; Stanley, 1974; Voyle, 1981).

La primera evidencia positiva de que durante la maduración se producía una alteración de la estructura miofibrilar fue la disminución en la longitud de las miofibrillas y en el número de

sarcómeros cuando estas se preparaban por homogeneización del músculo bovino madurado previamente.

El examen bajo microscopio permitió observar que los discos Z aparecían más difusos; el uso de microscopio electrónico reveló cambios dentro o en las cercanías de los discos Z los cuales eran degradados durante la maduración en etapas bien definidas. En carne bovina madurada durante más de 3 días se observaron rupturas en la unión de los filamentos I con los discos Z que aumentaban con el tiempo. La pérdida completa de la estructura del disco Z se producía después de un período de almacenamiento superior en 10 a 15 días al requerido para obtener ternera máxima.

Como consecuencia del debilitamiento del disco Z en las carnes maduradas la proporción de fragmentos menores luego de la homogeneización era mayor que en las sin madurar; varios investigadores utilizaron este fenómeno como medida del grado de maduración alcanzado (Olson y col., 1976; Culler y col., 1978).

La miofibrilla es una estructura ordenada que comprende las siguientes proteínas (Penny, 1980):

en el filamento grueso: miosina, proteínas de la línea M y
proteína C ,

en el filamento fino: actina, tropomiosina, troponinas T, I,
y C y beta-actinina

en el disco Z: alfa-actinina y desmina.

Existen además componentes menores en cada una de estas estructuras que todavía no han sido bien caracterizados.

Debido a que aparentemente el disco Z es la región de las miofibrillas más vulnerable, es importante estudiar las proteínas

presentes en esa zona. Penny (1980) informó que las únicas proteínas positivamente identificadas como componentes del disco Z son la actina y la alfa-actinina pero se cree que la desmina está localizada en su periferia.

En la estructura organizada de la miofibrilla, la alfa-actinina se encuentra únicamente en los terminales de los filamentos de actina en el disco Z (Penny, 1980). No se han encontrado alteraciones de esta proteína debidas al proceso de maduración, aunque existe evidencia de que la unión de alfa-actinina con la estructura del disco Z se ve debilitada durante la maduración (Cheng y Parrish, 1977).

En el caso de la desmina, se supone que forma una red rodeando al disco Z de cada miofibrilla y que posiblemente es responsable del entrecruzamiento de las miofibrillas a nivel de dicha estructura. Su ubicación sugiere que podría ser una causa de los cambios ocurridos durante la maduración (Penny, 1980).

El complejo de proteínas Troponina se localiza en los filamentos finos y a él se debe la dependencia de la actividad ATP-ásica miofibrilar con el Ca^{2+} durante la contracción. En ausencia de Ca^{2+} el complejo inhibe la actividad ATP-ásica; concentraciones de Ca^{2+} mayores de 10^{-8} M eliminan dicho efecto.

Olson y Parrish (1977) y Penny y Dransfield (1979) informaron que la Troponina T se degrada durante la maduración; según estos autores la aparición de un fragmento de 30 K dalton estaría asociada con la reducción de dureza y el aumento del Índice de Fragmentación Miofibrilar durante dicho período. MacBride y Parrish (1977) encontraron que muestras de carne bovina con 24 hs. post-mortem, cuyo análisis utilizando electroforesis revelaba la presencia de un componente de 30 K dalton, eran considerablemente

más tiernas que las que no lo tenían. Penny y Dransfield (1979) hallaron una relación cuantitativa entre la reducción de la ternura y la pérdida de Troponina T; aunque datos obtenidos por George y col. (1980) arrojaron dudas acerca de la importancia del papel de la degradación de la Troponina T durante la maduración; estos autores sugieren que en el mejor de los casos este proceso constituiría una guía útil de la magnitud de la destrucción de otras proteínas de importancia en la estructura del disco Z, lugar donde se producen las rupturas durante la maduración.

Davey y Gilbert (1969) fueron los primeros en señalar la importancia del Ca^{2+} en la maduración. Posteriormente se encontró una proteasa que era activada por este ion y que fue caracterizada por su habilidad para remover las líneas Z de las miofibrillas que fue denominada Factor Activado por Ca^{2+} (CAF) (Penny, 1980).

Dayton y col. (1976) encontraron que el CAF tiene una acción selectiva provocando la desorganización de la estructura del disco Z. La carne tratada con esta enzima era considerablemente más tierna que la sin tratar. La degradación de la estructura miofibrilar debida a la acción del CAF influía en forma considerable en la textura de la carne una vez cocinada.

Olson y col. (1977) y Penny (1974) observaron que cuando el complejo Troponina se trataba con CAF primero se degradaba la Troponina T dando un fragmento de 30 K dalton y posteriormente polipéptidos menores. Mediante el tratamiento con CAF el complejo Troponina pierde la capacidad de inhibir la actividad ATPásica de la actomiosina. Penny (1974) indicó que el CAF no presenta efecto alguno sobre la miosina, actina, troponina C, siendo la alfa-actinina resistente también a su acción.

Suzuki y col (1975) sugirieron que el CAF atacaba alguna proteína o una unidad estructural en el disco Z que influía en la unión de la alfa-actinina al filamento fino.

Hubbard y Lazarides (1978) informaron que la desmina era degradada por el CAF; teniendo en cuenta la estructura de la que forma parte la desmina en el disco Z, podría suponerse que su degradación es una causa del aumento de terneza.

La acción del CAF sobre la tropomiosina, la proteína C y las de la línea M podría causar la pérdida de la estructura miofibrilar y conducir a un mayor grado de fragmentación y aumento de terneza.

Penny (1980) señaló que el nivel de actividad del CAF dentro del rango de pH de la carne (5.5 - 5.9) se encuentra entre 15 y 25% de la actividad máxima, pero podría ser lo suficientemente alto como para producir los cambios observados durante la maduración.

El factor que más influye en la actividad del CAF es el nivel de Ca^{2+} . En el músculo post-mortem el nivel de ATP disminuye durante el establecimiento del rigor, la actividad bombadora del retículo sarcoplasmático debido a su dependencia con el contenido de ATP cae con el consiguiente aumento del nivel de Ca^{2+} libre dentro de las fibras. La concentración de Ca^{2+} sería la suficiente como para activar el CAF en las condiciones presentes (pH = 5.5).

Las catepsinas B y D degradan la miosina, actina y la Troponina T (Penny, 1980), este efecto debe ser tenido en cuenta a pesar de que el pH más bajo de la carne (5.5) no es favorable.

Resultados obtenidos utilizando músculo Psoas mayor bovino indicaron que la acción del CAF es más importante que la de las

catepsinas; Olson y col. (1977) observaron que el tipo de músculo influía en la degradación de la Troponina T y atribuyeron este comportamiento a las diferencias en el contenido de CAF.

En síntesis la maduración de carnes es un fenómeno muy complejo. A través de la evidencia encontrada hasta el momento este proceso empieza cuando el músculo entra en rigor y se liberan iones Ca^{2+} del retículo sarcoplasmático; cuando su nivel alcanza un determinado valor se activa una proteasa neutra activada específicamente por este ión (CAF) que actúa sobre la Troponina T y las proteínas de la zona del disco Z. Luego de 2 a 3 días de almacenamiento la degradación de las proteínas alcanzado un grado tal que los cambios estructurales cerca de la línea Z son visibles por microscopía electrónica. Las propiedades ligantes de las proteínas miofibrilares se ven alteradas obteniéndose una estructura débil que se desintegra con mayor facilidad durante la homogeneización.

Estos cambios comparativamente menores en la organización total miofibrilar dan como resultado una considerable reducción en dureza que puede ser fácilmente detectada por paneles de degustación o mediciones objetivas.

No existe duda de que las enzimas proteolíticas son responsables de los cambios ocurridos durante la maduración, solamente se ha encontrado que el CAF y las catepsinas B y D pueden degradar proteínas miofibrilares aunque se ha demostrado claramente que el CAF es la que tiene más posibilidades de estar implicada.

El tejido conectivo también sufre modificaciones durante la maduración, Stanley y Brown (1973) y Dutson (1974) determinaron un aumento en la cantidad de colágeno extraíble y la aparición de

separaciones que alteraban su estructura. Wu y col. (1981) indicaron que la acción de ciertas enzimas lisosomales aumentaba la disolución del colágeno por efecto de la colagenasa.

Existen considerables diferencias entre los tiempos de maduración recomendados en literatura. Stanley (1976) propuso entre 10 y 14 días a 5°C; Effenberger y Schotte (1972) 5 a 6 días a 0°C; MacDougall (1971) señaló que el proceso de maduración tenía lugar dentro de los primeros 14 días para temperaturas entre 0.5°C y -2°C. Dransfield y col. (1980b) recomendaron 14 días a temperaturas de almacenamiento de 2 a 4°C y George y col. (1980) 7 días a 1°C. Estas discrepancias dificultan la comercialización de carne bovina e incrementan considerablemente los costos de comercialización. Por lo tanto es de gran importancia obtener información acerca de los periodos de maduración de carnes bovinas argentinas de manera de poder obtener productos de calidad adecuada para competir en el mercado internacional.

1.6.3 Efecto de la refrigeración y congelación en la ternera cárnica

Tanto la refrigeración como la congelación afectan la ternera cárnica, las alteraciones mas comunes son el rigor de la descongelación y el acortamiento por frio ya explicados anteriormente. Ambos fenómenos conducen a un endurecimiento de la carne pero pueden ser evitados mediante técnicas de procesamiento apropiadas.

El pH final está relacionado en forma directa e indirecta con la resistencia de la carne ya que influye en el tiempo de aparición del umbral del rigor mortis y por lo tanto con su

terneza. Los músculos cuyo pH final es alto entran en rigor rápidamente y en casos extremos antes de que las carcasas entren en las cámaras frigoríficas. Por otro lado los músculos con alto contenido de glucógeno en el momento del sacrificio y consiguientemente con pH final bajo entran en rigidez lentamente y será más factible que sufran acortamiento por frío (Bouton y col., 1973a).

Por lo general el aumento del pH final produce un aumento de terneza en los músculos en los cuales el acortamiento por frío o por rigor de descongelación esta restringido por algún impedimento esquelético (Bouton y col., 1972). A medida que el pH final de la carne se aproxima a 7 la dureza asociada a cualquier estado de contracción miofibrilar tiende a anularse (Bouton y col., 1972; 1973c). Marsh y col. (1981) informaron que contrariamente a lo que se piensa habitualmente la calidad de la carne aumenta si el pH se mantiene alto durante las primeras horas de muerto. Se cree que el efecto primario del pH es a nivel de la estructura miofibrilar (Bouton y col., 1972; Bouton y col., 1982) debido a los grandes cambios ocurridos en la capacidad de retención de agua de las proteínas miofibrilares.

Con respecto al efecto de la congelación y almacenamiento congelado en la terneza del músculo, la información existente en literatura es contradictoria. En su revisión del tema, Powrie (1973) citó autores que comunicaron que la terneza cárnica disminuía con la congelación mientras que otros obtuvieron resultados opuestos. Locker y Daines, (1973) obtuvieron un significativo aumento de terneza sometiendo el músculo a sucesivos procesos de congelación y descongelación.

Tampoco hay acuerdo acerca del efecto de la velocidad de congelación en la terneza; según Powrie (1973) la falta de con-

cordancia entre los resultados informados podría deberse a la influencia de variables tales como: grado de congelación, extensión del almacenamiento e historia del músculo previa a la congelación. Hiner (1951) indicó que la influencia de la temperatura final de congelación en la terneza de carne bovina congelada era mayor que la de la velocidad de congelación.

Los resultados obtenidos acerca de la acción del tiempo de almacenamiento congelado en la terneza son conflictivos (Powrie, 1973) especialmente con respecto a carne bovina; Field y col. (1966) observaron un aumento de la terneza de músculo bovino a mayor tiempo de almacenamiento congelado a -23°C , Smith y col. (1969) obtuvieron resultados similares a -34°C y 4 meses de almacenamiento. Por otro lado, Law y col. (1967) almacenaron carne a -18 y -23°C por periodos hasta 9 meses sin observar cambios en la terneza. Carroll y col. (1981) no encontraron modificaciones en la terneza cárnica ni en su estructura luego de someter el músculo entero a procesos de congelación, descongelación y almacenamiento congelado. El efecto de sucesivas congelaciones y descongelaciones no alteraba la estructura mientras que las descongelaciones fueran a bajas temperaturas (4°C).

La falta de acuerdo observada se debería a la influencia de factores como: historia pre-mortem, alimentación, tipo de glicólisis post-mortem y maduración (Powrie, 1973).

1.7 COLORACION SUPERFICIAL DE CARNE BOVINA

El color de la carne bovina esta determinado principalmente por el contenido de mioglobina (Mb) y sus derivados. La forma que adquiera esta proteína es de fundamental importancia en la determinación de la coloración del producto por lo tanto un estudio detallado de la molécula, su estructura y reactividad revistaría particular interés para predecir y controlar el color de todos los alimentos donde se encuentre presente.

1.7.1 Localización y función de la mioglobina

La Mb está localizada principalmente en las fibras musculares rojas del corazón y músculos esqueléticos de los vertebrados, estos tejidos contienen cantidades apreciables de hemoglobina, pero esta proteína se pierde casi totalmente durante el sacrificio, desangrado y posterior procesamiento del animal (Livingston y Brown, 1981).

La función de la Mb sería probablemente la de facilitar la difusión del oxígeno de los capilares a las estructuras intracelulares donde se utiliza en procesos oxidativos.

Por lo general se ha observado que altos niveles de actividad muscular llevan a mayores concentraciones de Mb reflejando diferencias debidas a la especie, crianza, sexo, edad, tipo de músculo y actividad; la dieta es también un factor importante (Lawrie, 1974). Hunt y Hedrick (1977) informaron que el contenido de Mb en músculo bovino se encuentra en un rango entre 2.0 - 5.0 mg/g en base húmeda

1.7.2 Función de las hemoproteínas en la coloración del músculo

La Mb es una proteína conjugada que consiste en una única cadena polipeptídica (globina) y un complejo hierro-porfirina denominado grupo hemo o hematina (Fig. 4), su peso molecular es alrededor de 17.000 (Livingston y Brown, 1981). En el centro del grupo hemo se encuentra un átomo de hierro unido a cuatro átomos de nitrógeno pirrólicos. El hierro tanto en sus formas ferrosa (Fe^{2+}) y férrica (Fe^{3+}) es capaz de aceptar dos ligandos mas formando ángulos adecuados con el grupo hemo. En la Mb uno de estos ligandos es un átomo de nitrógeno de un residuo de histidina mientras que el otro puede ser otra molécula de configuración electrónica apropiada. La naturaleza de este ligando así como el estado de oxidación del átomo de hierro afectará la configuración de los electrones d del hierro que a su vez influirán en las características de absorción del espectro y por lo tanto en el color de la molécula.

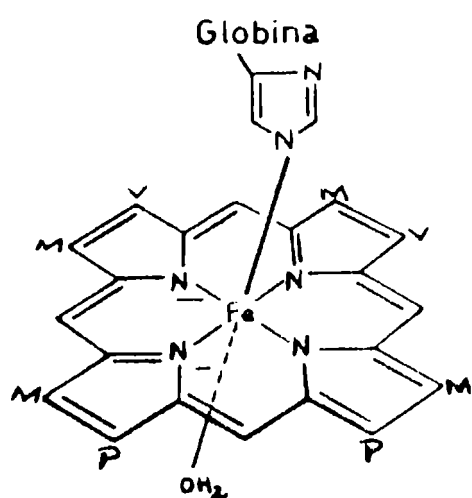


Fig. 4: Estructura simplificada de la mioglobina (Ledward, 1964)

El color del pigmento se debe a la capacidad de los electrones 3d del hierro de sufrir transiciones que absorben energía en la zona del visible. El hierro tiene ocho electrones de valencia, debido a su baja electronegatividad puede perder dos o tres de ellos formando los iones ferroso (Fe^{2+}) o férrico (Fe^{3+}) respectivamente; estas son las formas en que se lo encuentra en casi todos los complejos de Mb observados. Los cinco orbitales d del hierro no son energéticamente equivalentes, tres de ellos son de menor energía que los otros dos (Figs. 5 y 6). Los electrones d del Fe^{2+} y Fe^{3+} pueden distribuirse de manera de ocupar todos los orbitales (alto spin) o adoptar una configuración de bajo spin donde los electrones ocupan el nivel de energía más bajo. Se forman compuestos diamagnéticos cuando los electrones se encuentran apareados mientras que moléculas con electrones no apareados son paramagnéticas. Los derivados de la Mb con cierto tipo de ligandos como óxido nítrico (NO), monóxido de carbono (CO) y particularmente oxígeno pertenecen al primer tipo; la metamioglobina, derivado de la Mb con el hierro como Fe^{3+} , al segundo.

La absorción de luz en la zona del visible produce una transición de los electrones d desde los orbitales de menor a los de mayor energía; como la energía necesaria para producir dicha transición (Δ) es mayor en los compuestos de bajo spin que en los de alto spin, la forma en que los electrones d del hierro ocupen esos orbitales (que a su vez depende de los ligandos que los rodeen) será el factor determinante en el color de la molécula (Ledward, 1984).

El complejo formado por la Mb con el oxígeno, oximioglobina (MbO_2) de color rojo brillante, es de gran importancia para el

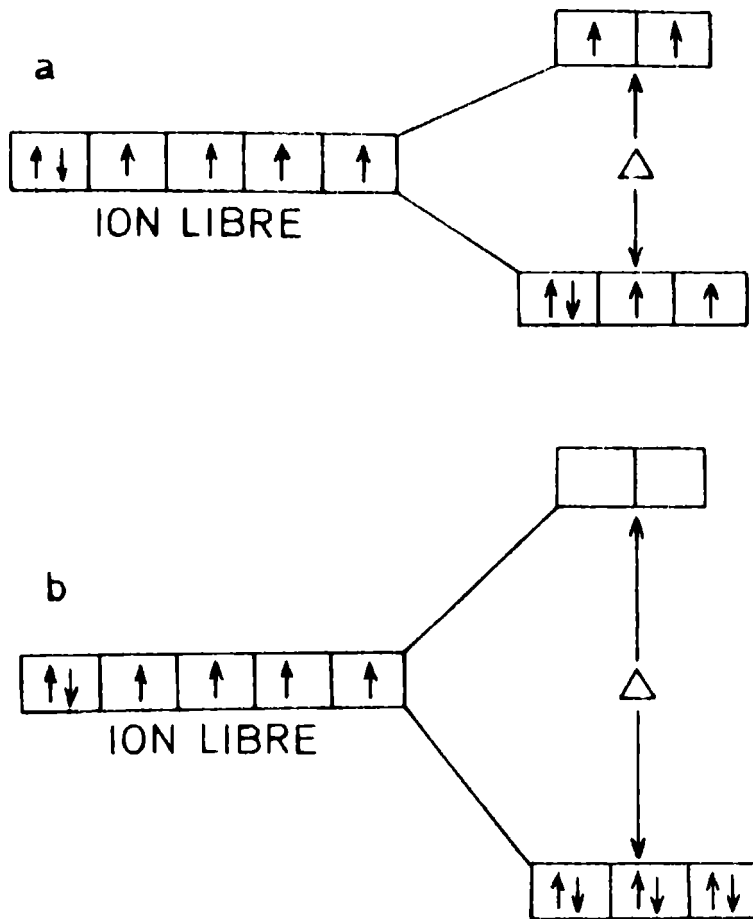
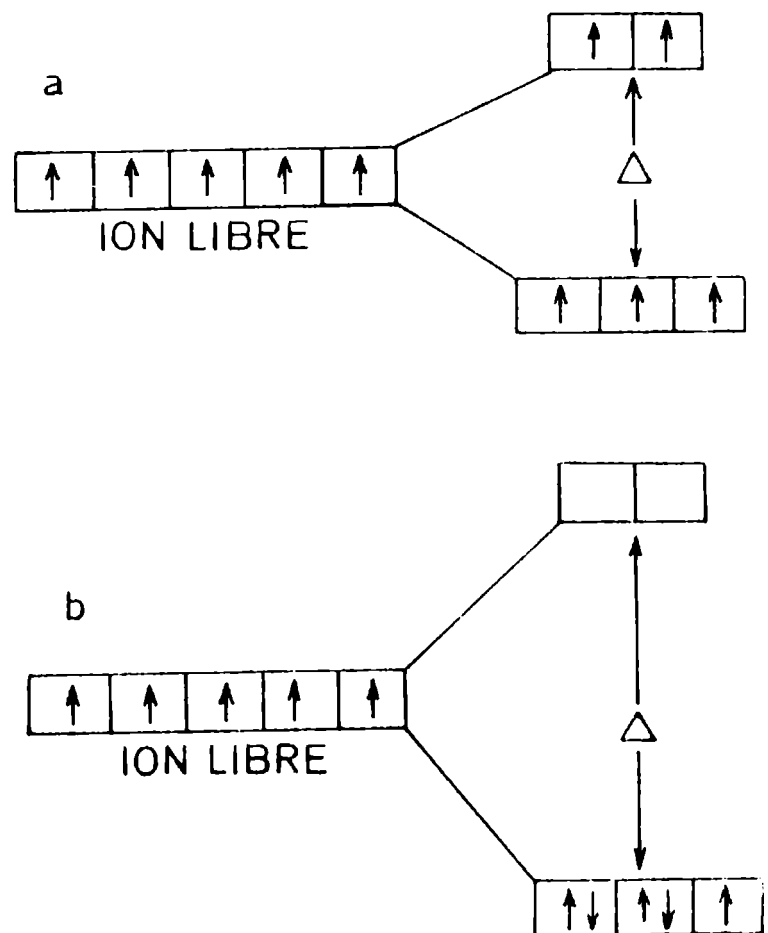


Fig. 5: Distribuciones más probables de los 6 electrones 3d del Fe²⁺ en los orbitales d. En el ion libre los niveles energéticos son equivalentes; (a) complejos de alto spin, (b) complejos de bajo spin.

Fig. 6: Distribuciones más probables de los 5 electrones 3d del Fe³⁺ en los orbitales d. En el ion libre los niveles energéticos son equivalentes; (a) complejos de alto spin, (b) complejos de bajo spin.



color de la carne ya que es el responsable de la coloración preferida por el consumidor.

El átomo de hierro está como Fe^{2+} con una configuración paramagnética, el oxígeno que es también paramagnético y tiene dos electrones no apareados, se une a esta especie para formar un complejo diamagnético. En este compuesto pueden reconocerse dos tipos de uniones: unión σ formada por la cesión de un par electrónico por parte del ligando (en este caso el oxígeno) al Fe^{2+} . El otro tipo de unión presente es la unión π en la cual el hierro cede un par electrónico al ligando a través de los orbitales π . Este tipo de unión es de vital importancia en la MbO₂ debido a que el oxígeno es un donante de electrones σ débil; un residuo de histidina ligado en posición opuesta al oxígeno, aumenta la densidad electrónica del átomo de hierro fortaleciendo la unión π y la estabilidad del complejo (Livingston y Brown, 1981).

Para que se produzca este tipo de unión, el metal debe tener una densidad electrónica suficientemente alta para donar electrones al ligando como es el caso del Fe^{2+} . El Fe^{3+} debido a su alta carga nuclear está incapacitado de hacerlo por lo tanto no puede ligar oxígeno u otro ligando que induzcan apareamiento de electrones.

Otro factor que influye en el tipo de ligando capaz de coordinar con el átomo de hierro es su tamaño ya que existe un impedimento estérico considerable por parte de la estructura proteica. Sólo ligandos pequeños (O₂, CO, NO) pueden coordinar con el Fe^{2+} de la Mb. Cuando la proteína se desnaturaliza, el grupo hemo está más expuesto facilitando la coordinación con ligandos de mayor tamaño (Livingston y Brown, 1981)

El Fe^{2+} de la Mb es paramagnético, coordinará preferentemente con un ligando también paramagnético capaz de aceptar los electrones π del metal, este tipo de ligandos estabilizan al Fe^{2+} contra la oxidación.

En la carne recientemente seccionada la mioglobina se encuentra en estado reducido de color púrpura, el hierro está como Fe^{2+} y falta el ligando en la sexta posición de coordinación. Este compuesto es estable a bajas presiones parciales de oxígeno presentes en el interior del músculo donde las tensiones de oxígeno intracelular pueden alcanzar valores inferiores a 0.1 mm Hg (Livingston y Brown, 1981).

Debido a la baja carga del hierro ligandos tales como H_2O o Cl no pueden unirse ya que únicamente pueden formar interacciones tipo σ . Existen otros ligandos de campo fuerte tales como los derivados piridínicos que no pueden adicionarse debido a su tamaño.

En la MbO_2 el átomo de hierro está en la forma ferrosa y diamagnética, este derivado es estable en altas concentraciones de oxígeno que lo protegen contra la oxidación. Si la presión parcial de oxígeno llega a valores suficientemente bajos como para que se produzca la desoxigenación parcial a Mb, la estabilidad de la mezcla Mb - MbO_2 disminuye en forma notable.

Entre los derivados férricos de la Mb, la metamioglobina es el más importante. En este compuesto el sexto ligando es H_2O ligada al Fe^{3+} por una unión tipo σ . Este complejo es paramagnético y puede actuar como catalizador en reacciones donde intervengan radicales libres como la rancidez oxidativa (Livingston y Brown, 1981). La MetMb, de color marrón, es el pigmento responsable de la aparición de colores indeseables en la superficie

cárnica que motivan rechazo por parte del consumidor.

1.7.3 Interconversión de pigmentos musculares

Casi todas las reacciones que intervienen en la interconversión de los pigmentos musculares son reversibles y dan lugar a un ciclo dinámico (Fox, 1966).

La formación de MetMb a partir de MbO₂ se conoce como autoxidación, este proceso no puede ser interpretado como una transferencia directa de un electrón del átomo de hierro a la molécula de oxígeno ligada con formación de ion superóxido (O₂⁻) ya que este paso es termodinámicamente desfavorable (Livingston y Brown, 1981).

A pesar de que existen abundantes discrepancias acerca del mecanismo de formación de la MetMb (Ledward, 1984) los factores que afectan la velocidad de producción de dicho pigmento están bien documentados. La velocidad es máxima a presiones parciales de oxígeno (pO₂) donde la Mb/MbO₂ sea 50/50 (George y Stratmann, 1952; Brown y Mebine, 1969) que corresponderían a un rango de 1 - 1.4 mm Hg; para pO₂ mayores que 30 mm Hg la velocidad de reacción es independiente de la presión de oxígeno (Ledward, 1984).

La velocidad de autoxidación se ve muy afectada por el pH y la temperatura, a presiones de oxígeno de saturación la energía de activación es 26.5 kcal/mol (Ledward, 1984). Para el caso de soluciones Brown y Mebine (1969) informaron un Q₁₀ = 5.3 para la autoxidación de MbO₂. Bajos valores de pH aumentan la velocidad de autoxidación, la oxidación de Mb bovina es 2.5 veces más rápida a pH = 6 que a 6.5 (Brown y Mebine, 1969). Snyder y Skrdlant (1966) comunicaron que la presencia de iones metálicos

como Cu^{2+} o Fe^{3+} aceleraba la reacción.

Castro (1971) postuló que en la autooxidación el oxígeno era reducido por dos electrones a ión peróxido (O_2^-). La diferencia de potencial de esta reacción ($E^\circ \text{O}_2/\text{H}_2\text{O}_2 = 0.27 \text{ v}$) positiva indica que esta reacción es termodinámicamente favorable. El hecho que el oxígeno deba ser reducido por dos electrones y uno solo pueda ser provisto por el Fe^{2+} hace que este proceso sea lento en terminos químicos. Brown y Mebine, (1969) calcularon tiempos de vida media para la autooxidación de MbO₂ bovina a 22°C y pH = 6.5 de 26.5 hrs aunque en preservación de alimentos esta reacción no puede ser considerada lenta ya que los tiempos de almacenamiento utilizados habitualmente son considerablemente mayores.

Livingston y Brown (1981) postularon que la fuente del segundo electrón podría ser la molécula de Mb, esta suposición tendría la ventaja de explicar la dependencia de la reacción con la presión parcial de oxígeno. La estequiometría de la reacción (0.75 moles de O_2 /mol de Mb oxidada) (Brown y Mebine, 1969) no puede ser explicada mediante un esquema de reacción simple; el hecho de que haya desprendimiento de oxígeno sugiere que la desoxigenación de la Mb es un probable paso intermedio en la formación de MetMb (Livingston y Brown, 1981).

Distintos autores (Weaver y col. 1973; Gotoh y Shikima, 1976) explicaron el efecto del pH en la velocidad de autooxidación considerando la protonación del oxígeno ligado; si esto ocurre la transferencia de un electrón del hierro sería energéticamente favorable generándose un anión superóxido (O_2^-) durante este proceso, que explicaría el aumento de la velocidad de autooxidación a bajo pH.

Teniendo en cuenta lo anteriormente expuesto pueden es-

establecerse condiciones para prevenir la autooxidación de la Mb. Las técnicas de preservación más comunes evitan la exposición del producto a presiones de oxígeno inadecuadas utilizando películas de envase con permeabilidad adecuada; esto se logra mediante el envasado al vacío (Bevilacqua y Zaritzky, 1986) o el uso de atmósferas con alto contenido de oxígeno (Ordóñez y Ledward, 1977), en esos casos la carne será de color púrpura debido a la Mb y será necesario exponerla al aire para que adquiera la coloración roja deseada. Otras técnicas para controlar la producción de MetMb incluyen el almacenamiento a bajas temperaturas (Hood, 1983) o el mantenimiento en la carne de un pH alto aunque este último método produce un aumento de la contaminación microbiana (Livingston y Brown, 1981).

En la carne debe tenerse en cuenta la existencia de un sistema enzimático reductor capaz de reducir la MetMb al estado ferroso. Varios autores analizaron en detalle el mecanismo de reducción (Giddings, 1977; Livingston y Brown, 1981; Hood, 1983; Ledward, 1984) y concluyeron que en la carne post-rigor la reducción es fundamentalmente de naturaleza enzimática e involucra a las mitocondrias que sirven como fuente de sustancias reductoras para la reducción de nucleótidos piridínicos extramitocondriales. Hagler y col. (1979) informaron de la presencia de una MetMb reductasa de corazón bovino capaz de reducir la MetMb *in vitro*. Esta enzima utiliza NADH para reducir la MetMb y tiene una actividad 100 veces mayor que otras enzimas caracterizadas en estudios anteriores (Ledward, 1984).

Originalmente se pensó que la reducción de MetMb en carne tenía lugar en ausencia de oxígeno (Stewart y col., 1965), pero actualmente se ha establecido que este proceso puede ocurrir

también en aerobiosis (Ledward, 1984); estos resultados concordarían con las propiedades de la MetMb reductasa informados por Hagler y col. (1979) que indicaron que la actividad de esta enzima no se veía afectada por la presencia o ausencia de oxígeno.

La pérdida de actividad del sistema enzimático reductor en la carne post-mortem se debe a una combinación de factores que incluyen caída del pH del tejido, agotamiento de sustratos y cofactores requeridos y pérdida de la integridad estructural y de las propiedades funcionales de las mitocondrias (Hood, 1983).

Ledward y Macfarlane (1971) informaron que procesos de congelación-descongelación aceleran la pérdida de NAD disminuyendo por lo tanto la actividad del sistema enzimático reductor con el consiguiente aumento en la velocidad de formación de MetMb.

1.7.4 Factores que influyen en la coloración superficial de carne fresca

Cuando la carne se mantiene a temperaturas de refrigeración y en aerobiosis, al día de almacenada se forma una capa de MetMb marrón unos milímetros por debajo de la superficie donde la concentración de oxígeno coincide con el nivel requerido para que la velocidad de formación de MetMb sea máxima. El aumento de la concentración de oxígeno en la atmósfera exterior produce un desplazamiento de la capa de MetMb hacia el interior del tejido. Piezas de carne de 2 cm de espesor almacenadas en atmósferas con 60% de O₂ no la presentan (Ledward, 1984).

Teniendo en cuenta que la oxigenación y oxidación de la Mb

dependen de la penetración de oxígeno en el tejido se han desarrollado ecuaciones que permiten calcular el espesor de la zona de penetración. En dicho análisis Brooks (1935) consideró que la difusión y consumo simultáneo (R) del oxígeno en la carne en estado estacionario están gobernadas por:

$$D \frac{d^2C}{dx^2} = R \quad (1)$$

donde D es el coeficiente de difusión efectivo de oxígeno en el tejido con las siguientes condiciones de contorno:

$$x = 0 \quad C = C_0 \quad (2)$$

$$x = \delta \quad \frac{dC}{dx} = 0 \quad (3)$$

C_0 es la concentración de oxígeno disuelta en la interfase ($x = 0$) y δ es la distancia penetrada por el gas. La ecuación (3) indica que a distancias mayores de δ no hay flujo de oxígeno hacia el interior de la carne. La solución de las Ecs. (1) a (3) conduce al siguiente perfil de concentraciones:

$$C - C_0 = (R/2D)x^2 - (R\delta x/D) \quad (4)$$

Considerando que en $x = \delta$, $C/C_0 \ll 1$ se obtiene una expresión (5) que permite calcular el espesor de la penetración de oxígeno:

$$\delta = (2DC_0/R)^{1/2} \quad (5)$$

El espesor de penetración del oxígeno aumenta con el tiempo

de almacenamiento debido a que la actividad respiratoria de los músculos disminuye (Bevilacqua y Zaritzky, 1988). Si bien la Ec. (5) surge de un tratamiento pseudoestacionario del problema de penetración de oxígeno en el tejido el tratamiento matemático no estacionario tiende a coincidir con la Ec. (5) después de 6 horas de exposición del músculo perdurando sólo el efecto de la pérdida de actividad respiratoria del tejido.

Presiones parciales de O_2 de alrededor de 7 mm Hg favorecen la formación de MetMb en la superficie del tejido alterando visiblemente la coloración superficial de la carne (Ledward, 1970). Esta compleja dependencia con la presión parcial de oxígeno ha permitido el desarrollo de sistemas de transporte y almacenamiento de carne fresca utilizando atmósferas modificadas o envasado al vacío para lo cual se han desarrollado películas plásticas con permeabilidad al oxígeno variable.

El envasado influye en la coloración superficial en relación a la permeabilidad de la película que se emplea. Si bien la función primordial corresponde a su uso en carnes refrigeradas, su empleo en la comercialización de carne congelada resulta una alternativa viable ya que aporta considerables ventajas en términos de costo, conveniencia y estabilidad a largo plazo.

Las películas de alta permeabilidad al oxígeno no modifican la atmósfera interna, la superficie cárnica adquiere un color rojo brillante y el crecimiento microbiano solo es regulado por la refrigeración. Sin embargo el color se deteriora rápidamente y el desarrollo bacteriano es muy intenso, por lo tanto la vida útil del producto es muy corta dependiendo de la contaminación inicial y de la temperatura de almacenamiento.

El uso de películas plásticas de baja permeabilidad a los

gases permitió extender la vida útil de la carne refrigerada por periodos cercanos a 2 meses a 1°C (Taylor, 1985).

El envasado al vacío es un método excelente para la conservación de carne fresca desde el punto de vista de la calidad ya que inhibe el desarrollo de microorganismos deteriorantes, mejora el aspecto de la grasa y la coloración superficial de la carne favoreciendo el aumento de ternura al permitir su maduración.

El oxígeno residual es convertido a CO₂ por la actividad respiratoria del tejido y la flora bacteriana presente. La baja concentración de oxígeno limita su penetración en el tejido impidiendo la aparición de coloraciones indeseables. Cuando se envasan al vacío cortes de gran tamaño, la respiración del tejido produce niveles de CO₂ superiores al 20% luego de uno o dos días de envasado (Taylor, 1985). Estos niveles de CO₂ se mantienen durante todo el almacenamiento y, junto al bajo nivel de oxígeno provocan un cambio en el tipo de desarrollo bacteriano. El desarrollo de pseudomonas responsable del deterioro de la carne en contacto con el aire se ve limitado predominando el crecimiento de bacterias lácticas. Este tipo de flora presenta la ventaja de que no producen olores pútridos de manera que la contaminación de la carne puede alcanzar valores límites (10⁸ UFC/cm²) luego de 5 semanas de almacenamiento a 1°C sin deterioro aparente (Taylor, 1985).

La principal desventaja que presenta este método es la coloración púrpura que adquiere la carne procesada en estas condiciones (Hood, 1983).

Tanto la velocidad de autooxidación como la actividad del sistema enzimático reductor del músculo dependen del pH del mismo. Bajos niveles de pH aceleran la autooxidación y reducen la

efectividad de la reducción enzimática por lo tanto es de esperar que la estabilidad de color de músculos con bajo pH sea menor.

Uno de los factores que más influye en la coloración superficial de la carne fresca es la temperatura. Resultados informados por Brown y Mabee (1969) y Hagler y col. (1979) indicaron que el efecto de la temperatura era mucho más marcado en la autooxidación que en la reducción enzimática, esto explicaría el hecho que un aumento de temperatura entre 3°C y 5°C duplique la velocidad de decoloración (Taylor, 1985). Temperaturas de almacenamiento altas propician la disociación del O₂ de la MbO₂, incrementando la tendencia a la autooxidación. El aumento de la temperatura provoca un aumento del consumo de O₂ por parte de las enzimas respiratorias residuales y el desarrollo de procesos consumidores de oxígeno como la oxidación lipídica, ocasionando un descenso en la presión parcial de oxígeno que favorece la autooxidación (Hood, 1983).

Bajas temperaturas promueven un incremento de la penetración de O₂ ya que la solubilidad del O₂ en el tejido (C_o) se incrementa generando un mayor espesor de la capa de MbO₂. La Ec. (5) predice este comportamiento.

Zachariah y Saterine (1973) señalaron que factores como temperatura de almacenamiento, tipo de luz incidente, pH y fuerza iónica afectaban la velocidad de autooxidación de soluciones de MbO₂ a temperaturas de congelación. En el caso de carne congelada Ledward y Macfarlane (1971) informaron que la formación de MetMb se ve favorecida por procesos de congelación - descongelación. Lentz (1978) y MacDougall (1982) encontraron que la principal causa de alteración de color de carne bovina congelada era la fotooxidación de los pigmentos y que la velocidad de deterioro

dependía de la temperatura y el nivel de iluminación, características del envase y tipo de músculo utilizado. La magnitud del efecto de la luz incidente depende de factores tales como la longitud de onda e intensidad de la iluminación, tiempo y temperatura de almacenamiento. Hood (1983) postuló que en carnes congeladas la presencia de iones metálicos libres y la concentración de electrolitos influiría en la acumulación de MetMb.

O'Keefe y Hood (1980-81a; b; 1982) estudiaron los factores que influyen en la formación de MetMb en distintos músculos y señalaron que las diferencias de comportamiento se debían principalmente a variaciones en la velocidad de oxidación y de consumo de oxígeno de los mismos más que en cambios en la actividad del sistema enzimático reductor.

Hood (1980) y O'Keefe y Hood (1980-81b) informaron que el color de la carne madurada era mejor que el de la sin madurar aunque su estabilidad era menor. Esto se debe al descenso de la velocidad de consumo de oxígeno y de la actividad del sistema enzimático reductor durante la maduración, favoreciendo un aumento del espesor de la capa de MbO₂. La reducción de la MetMb formada en el interior del tejido no tiene lugar debido a la falta de intermediarios reductores particularmente el NADH (O'Keefe y Hood, 1982).

El grado de contaminación microbiana también influye en la velocidad de formación de MetMb (Pierson y col. 1970; Ledward y col. 1971; Saterlee y Hansmeyer, 1974; Lanier y col. 1977). Kobach y Costilow (1961) atribuyeron el efecto del crecimiento bacteriano en el color al descenso de la presión de oxígeno en la superficie de la carne debido a consumo de oxígeno por parte de

las bacterias. Se ha demostrado que tratamientos que tiendan a disminuir la contaminación microbiana en la superficie del músculo tales como: luz ultravioleta y atmósferas de CO₂ retardan la aparición de coloraciones indeseables (Clark y Lentz, 1972)

El efecto antimicrobiano del ácido sórbico y sus sales en alimentos es ampliamente conocido. Inicialmente se usaron para inhibir el desarrollo de hongos y levaduras pero se encontró que actuaban en forma efectiva sobre bacterias como S. aureus, Cl. botulinum, salmonelas y pseudomonas. Greer (1982) investigó la influencia del ácido sórbico en el desarrollo de bacterias psicrófilas en carne vacuna fresca, Zamora y Zaritzky (1987a; b) estudiaron la inhibición del crecimiento microbiano producida por el sorbato de potasio (SorK) en carne vacuna refrigerada envasada en películas de distinta permeabilidad obteniendo tiempos de vida útil en lo que respecta al desarrollo microbiano considerablemente mayores para carnes tratadas respecto de las de referencia. La Ingestión Diaria Admisible (IDA) de ácido sórbico establecida por FAO/OMS (1974) es de 25 mg/kg de peso corporal.

Teniendo en cuenta que en la determinación de la vida útil de carne bovina fresca no solo influye la carga microbiana sino también el color, es de fundamental importancia estudiar el efecto que tiene el agregado de SorK en este atributo de calidad. Existe poca información en literatura sobre el efecto del SorK en la evolución de la concentración de pigmentos de carne bovina; Zamora y Zaritzky (1987a) estudiaron su influencia en el color (en términos de luminosidad L y coordenadas cromáticas a y b) de músculo semitendinoso bovino envasado en películas de distinta permeabilidad.

Los estudios realizados ponen de manifiesto la importancia

de efectuar un análisis detallado de la cinética de interconversión de pigmentos musculares en carnes refrigeradas y congeladas envasadas en películas de distinta permeabilidad gaseosa. La información acerca de las constantes cinéticas para la formación de MbO₂ y MetMb en carne bovina congelada es escasa: Brown y Dolev (1963) y Zachariah y Saterlee (1973) analizaron el efecto de la temperatura de almacenamiento, concentración salina y pH en la constante cinética para la autoxidación de soluciones de MbO₂ y notaron la aceleración de esta reacción con la congelación. Asimismo, si bien existen evidencias acerca del efecto de preservadores químicos en el crecimiento microbiano de carnes refrigeradas envasadas en películas de distinta permeabilidad gaseosa no hay información acerca de su efecto en la coloración superficial.

CAPITULO 2

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

El estudio pormenorizado del efecto de la refrigeración y la congelación en la terneza y coloración superficial de carne bovina involucra el cumplimiento de los siguientes objetivos:

- Analizar las variaciones de terneza durante el período de maduración de carne bovina refrigerada envasada al vacío en películas de baja permeabilidad gaseosa almacenada a distintas temperaturas estableciendo las ecuaciones cinéticas correspondientes.
- Comparar distintos métodos instrumentales utilizados para la medición de la terneza de manera de poder estimar las ventajas e inconvenientes que acarrea su uso.
- Determinar el tiempo óptimo de maduración teniendo en cuenta no solamente las modificaciones de terneza sino también el crecimiento microbiano.
- Desarrollar ecuaciones matemáticas que permitan cuantificar la terneza de carnes refrigeradas durante el almacenamiento a distintas temperaturas en función de los parámetros cinéticos.
- Estudiar el efecto de la velocidad de congelación y descongelación, tiempo y temperatura de almacenamiento congelado en la terneza de carne bovina envasada al vacío así como también la influencia de la maduración previa al proceso de congelación.
- Analizar las variaciones de coloración superficial de carne bovina en función de las concentraciones relativas de pigmentos musculares mio, oxi y metamioglobina durante el al-

almacenamiento refrigerado, parcial y totalmente congelado en películas de alta y baja permeabilidad gaseosa.

-Estudiar la influencia de la temperatura y tiempo de almacenamiento previo en la capacidad de oxigenación de carne refrigerada y congelado en forma total y parcial.

- Determinar el efecto de distintas concentraciones de sorbato de potasio en la evolución de la concentración de pigmentos durante los procesos de oxigenación y oxidación teniendo en cuenta el desarrollo microbiano.

- Interpretar el comportamiento de los pigmentos durante el almacenamiento a través de modelos cinéticos que permitan predecir la evolución de la coloración superficial de la carne.

CAPITULO 3

EFECTO DE LA TEMPERATURA EN LA TERNEZA DE CARNE BOVINA

3.1 Análisis de los métodos instrumentales utilizados en la evaluación de la ternera cárnica

3.1.1 Determinación de la textura de la carne

Desafortunadamente ninguno de los métodos objetivos ha podido reemplazar los sentidos humanos en su habilidad para evaluar y describir la ternera cárnica. Los métodos subjetivos panel de catadores se han utilizado desde el principio y continúan siendo muy populares ya que ofrecen la ventaja de simular en forma muy próxima las condiciones normales de ingestión pudiendo usarse como criterio de evaluación de la aceptabilidad por parte del consumidor. Desde el punto de vista de su aplicabilidad padecen de serios inconvenientes debido al tiempo que insumen, su alto costo y las influencias psicológicas que puede sufrir el panelista.

La medición de las propiedades mecánicas de los alimentos se realiza aplicando fuerzas tanto de tensión, compresión o de corte y registrando la curva fuerza-deformación. El tejido muscular posee una estructura fibrosa, la reología clásica ha establecido que las técnicas más convenientes para la determinación de las propiedades mecánicas de este tipo de materiales son: corte, donde la fuerza aplicada actúa en forma perpendicular al eje de las fibras; ensayos de tensión, la fuerza aplicada es paralela al eje y recientemente esfuerzos de compresión.

3.1.2 Mediciones de fuerza de corte

La técnica la más difundida es la cuchilla Warner-Bratzler. Esta consiste en una hoja de acero inoxidable con un orificio con forma de triángulo equilátero de dimensiones pre-establecidas. La fuerza de corte se determina como la fuerza máxima producida durante el corte de la muestra.

En este caso la fuerza se aplica a través de las fibras musculares mediante un borde romo. La muestra, de forma cilíndrica, se ve sometida a una combinación de esfuerzos de compresión, tensión y corte.

Voisey y Larmond (1977) señalaron la importancia de utilizar condiciones experimentales standardizadas de manera de obtener resultados reproducibles y comparables. Distintos autores (Davey y Gilbert, 1969; Kastner y Henrickson, 1969; Pool y Klose, 1969) trabajando con muestras de carne de distintas especies (bovina, porcina y de pavo) hallaron una relación entre el diámetro de la muestra y la fuerza de corte, esto haría necesario normalizar también el diámetro de la muestra utilizada.

Szczesniack y Torgeson (1965), en su revisión de los estudios realizados acerca de la terneza cárnica y su medición, comentaron el alto grado de variación en la correlación entre los ensayos Warner-Bratzler y de panel remarcando el gran número de factores en juego, uno de los cuales es la confiabilidad del panel utilizado. Según estos autores, no existe otro método que permita obtener mejores correlaciones.

A pesar de los cuestionamientos presentados, esta técnica es la de mayor uso en los Estados Unidos para medir la terneza cárnica.

3.1.3 Mediciones de tensión

Este tipo de ensayos es actualmente de gran interés debido a que ofrece una de las mejores posibilidades para estudiar las interpretaciones estructurales. Pueden usarse modificaciones del método tales como el ciclaje lo que provee mayor información sobre la muestra.

Los ensayos de tracción han sido utilizados por distintos autores en carne cruda (Stanley y col. 1971; Eino y Stanley 1973a, b; Stanley, 1976) y cocida (Bouton y Harris, 1972a; Bouton y col., 1973a, b, 1975b). El esfuerzo de tracción aplicado en forma perpendicular a las fibras (adhesividad) ha sido considerado como una medida de la fuerza del tejido conectivo (Bouton y Harris, 1972a; 1972b; 1972c; Bouton y col., 1975a).

La preparación de la muestra en el caso de carne cruda presenta serios inconvenientes debido a la dificultad del corte. Este problema es menos agudo cuando se trata de carne cocida donde la mayor rigidez de la muestra facilita el corte a una dada forma. Actualmente la determinación de la textura mediante técnicas de compresión ha adquirido considerable popularidad (Dransfield y col., 1981a; b) y resulta particularmente útil para muestras de carne que no puedan sujetarse mediante mordazas como salchichas (Quinn y col., 1979)

La máquina Instron fue diseñada para estudiar las propiedades mecánicas de materiales y realizar ensayos de compresión, tensión, flexión, puntura, extrusión y otros estudios más sofisticados.

La máquina consta de dos partes: 1) un mecanismo de conducción que maneja un cabezal horizontal en dirección vertical que se

desplaza a velocidad controlada en el rango 0.02-50 cm/min y 2) un sistema de detección y registro de la fuerza ejercida consistente en celdas cuya salida alimenta el registrador.

Debido a la amplia variedad de ensayos que es capaz de realizar y su alta sensibilidad la máquina Instron es un elemento de gran utilidad para el estudio de las propiedades texturales de los alimentos pero debe tenerse en cuenta que es un equipo de laboratorio; la construcción de esta máquina y sus componentes electrónicos la tornan inadecuada para operar en condiciones industriales (Bourne, 1982).

Con este equipo puede medirse fuerza, distancia, área bajo la curva, que representa el trabajo realizado, y pendientes. Cualquier informe de los resultados obtenidos debe especificar el tipo de ensayo y las condiciones de operación utilizadas.

3.1.4 Parámetros de medición

Los parámetros más comúnmente utilizados son: fuerza límite de comportamiento elástico, que aparece como el primer punto de inflexión de la curva fuerza-deformación; fuerza pico, es la mayor fuerza registrada; distancia hasta el límite elástico aparente, definida como la distancia recorrida por la hoja desde que entra en contacto con la muestra y el primer punto de inflexión de la curva y distancia al punto de ruptura (Fig. 7)

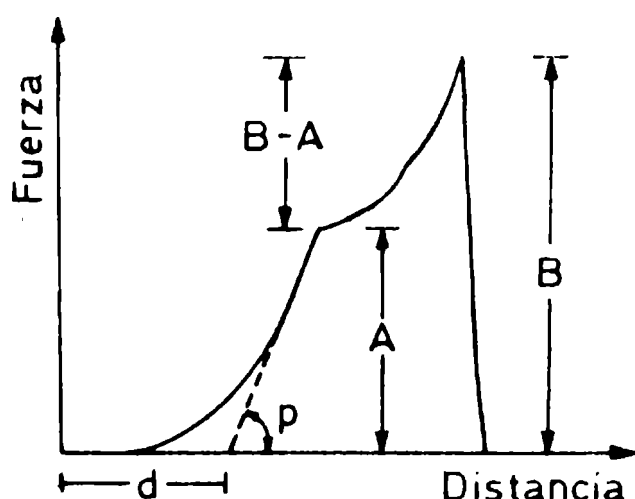


Fig. 7: Curva fuerza-deformación típica mostrando los parámetros más comúnmente medidos. (A) fuerza límite de comportamiento elástico; (B) fuerza de corte; (p) pendiente al límite de comportamiento elástico; (d) distancia al límite de comportamiento elástico.

Bouton y Harris (1972a) llegaron a la conclusión de que tanto en experiencias realizadas con la hoja Warner-Bratzler como en las de tracción las medidas de fuerza pico están más relacionadas con la componente miofibrilar de la ternera que con el tejido conectivo. Bouton y col. (1975b) estudiaron los cambios en los parámetros de medición de textura asociados a variaciones estructurales producidas por: maduración, cocción y contracción miofibrilar y encontraron que la fuerza límite de comportamiento elástico y la fuerza pico aumentaban con la temperatura de cocción; esto podría estar relacionado con el aumento de rigidez de la estructura miofibrilar debido a la desnaturalización de las proteínas que debería ser casi completa a 60°C (Draudt, 1972). Estos parámetros disminuían con la maduración, fenómeno que se sabe afecta la estructura miofibrilar

3.2 Modificaciones de la ternera de carne bovina envasada al vacío durante el almacenamiento refrigerado y congelado

3.2.1 Materiales y métodos utilizados

3.2.1.1 Muestras

Se utilizó músculo semitendinoso de 39 novillos (peso de carcaza 220 kg) con 24 horas post-mortem a 4°C proveniente de un frigorífico local. El pH de dichos músculos se hallaba comprendido en un rango entre 5.4 y 5.8 medido con un electrodo de inserción INGOLD LOT 405 M4.

Los músculos se seccionaron en rodajas transversales al eje de las fibras de 2 y 6 cm de ancho; las muestras para los ensayos

de tracción consistían en prismas de 1 cm² de sección transversal y 6 cm de largo; las correspondientes al método WB eran cilindros de 1 cm de diametro y 2 cm de largo.

De cada rodaja se obtuvieron como mínimo 8 muestras de referencia (valores de terneza correspondientes a 24 hs. después de ser sacrificado el animal).

3.2.1.2 Envasado

Se utilizó una película de baja permeabilidad gaseosa: EVA-SARAN-EVA (espesor = 60 µm, permeabilidad = 37.5 cm³/m² atm día a 25°C y humedad relativa = 75%); el Saran es un copolímero de polivinilo y cloruro de polivinilideno y EVA es etil-vinil acetato. El envasado al vacío se logró mediante una envasadora Minidual MW 4980 (Schkolnik SAIC Buenos Aires) con un solo compartimiento a 4.5 mm Hg y termosellado.

3.2.1.3 Congelación y descongelación:

Para analizar las variaciones de terneza durante la congelación y el almacenamiento congelado se utilizó el ensayo Warner-Bratzler en muestras cocidas. Las muestras cortadas y envasadas en la forma anteriormente descripta, se congelaron en un congelador a placas a velocidad y temperatura final controladas determinadas mediante termocuplas de cobre-constantán (Omega Engineering, Stamford, Conn.) colocadas en el centro de una muestra testigo y conectadas a un Data Logger modelo 2240-C (John Fluke M. Fg. Co., Mountlake Terrace, WA.). Dichas velocidades se expresaron en términos de t₇₀ siendo este el tiempo necesario para que la tem-

peratura en el centro de una muestra cambie de -1 a -7°C . En el caso de la velocidad de descongelación el t_{7a} corresponde al tiempo para que la temperatura varíe de -7 a -1°C .

3.2.1.4 Almacenamiento:

En los ensayos de maduración las muestras se almacenaron en cámaras de aire estanco a distintas temperaturas ($T_a = 0, 4, 10$ y 13°C) por períodos de tiempo comprendidos entre 4 y 30 días. Las muestras congeladas se almacenaron a $T_a = -5, -10, -13$ y -20°C durante 100 a 280 días.

A lo largo del almacenamiento se extrajeron muestras para medir los cambios de terneza ocurridos utilizando los métodos de tracción y tijera WB en carnes crudas y cocidas.

3.2.1.5 Cocción

Las muestras envasadas en EVA/SARAN/EVA se sumergieron en un baño de agua a 83°C hasta que la temperatura del centro de una de ellas alcanzara 78°C ; posteriormente se enfriaron en baño de agua a 23°C durante 30 min. La temperatura se controló mediante termocuplas de cobre-constantan conectadas a un Data Logger.

3.2.1.6 Determinación de la terneza

La medición de las propiedades mecánicas de la carne se realizó mediante una máquina INSTRON utilizando las siguientes condiciones de operación:

- a) para los ensayos de corte con cuchilla WB la velocidad de cabezal y de carta fue de 10 cm/min.
- b) para los ensayos de tracción la velocidad de cabezal fue: 5 cm/min y la de carta: 4 cm/min.

En ambos métodos se registró la curva fuerza-deformación para distintos tiempos de almacenamiento; los valores de terneza en carnes crudas y cocidas se determinaron como la fuerza pico promedio de por lo menos 8 replicados.

3.2.1.7 Efecto de la velocidad de la velocidad de congelación y descongelación, tiempo y temperatura de almacenamiento congelado en la terneza cárnica:

Para estudiar la influencia de la velocidad de congelación/descongelación en la terneza, las rodajas de carne seccionadas en la forma anteriormente descrita se congelaron a dos velocidades: $t_{7c} = 2$ y 40 min. Las velocidades de descongelación utilizadas fueron: $t_{7d} = 1$ min (12 horas en cámara a 4°C) y $t_{7d} = 40$ min (1 hora en baño de agua a 25°C).

La acción del tiempo y temperatura de almacenamiento se analizó sobre muestras con y sin maduración previa. Las rodajas de carne se congelaron y descongelaron en condiciones controladas ($t_{7c} = 3$ min; $t_{7d} = 40$ min, 12 horas en cámara a 4°C). La carne se maduró durante 7 días a 4°C.

3.2.1.8 Análisis estadístico

Se determinaron los coeficientes de variación de las técnicas mecánicas utilizadas. El efecto de la velocidad de congelación y

descongelación en la terneza cárnica se estudió mediante un diseño factorial 2 x 2 con 30 replicados. Para analizar la influencia del tiempo y temperatura de almacenamiento, velocidad de congelación y maduración previa en la terneza cárnica, 7 músculos se almacenaron a cada una de las temperaturas ensayadas; a cada músculo se le aplicaron los tratamientos antedichos registrándose la evolución de la fuerza de corte durante el almacenamiento. La influencia de los distintos tratamientos ensayados se determinó mediante análisis de varianza ($P < 0.05$).

3.2.2 Resultados y discusión

3.2.2.1 Cálculo de los coeficientes de variación

Para evaluar los coeficientes de variación (C_v) se utilizaron los valores de terneza correspondientes a 24 hs. de muerto el animal. Se consideró que el error experimental del método correspondía a la desviación standard en cada rodaja tanto para carne cruda como para cocida (Box y col., 1978). La Tabla 5 presenta los valores de C_v obtenidos; puede observarse que el C_v más bajo corresponde al ensayo WB con carne cocida.

El descenso de C_v en los métodos donde se utilizó carne cocida puede deberse que el efecto de la temperatura de cocción en la textura es un factor de gran importancia.

Durante la cocción actúan varios mecanismos capaces de modificar la textura: activación con la temperatura de cocción de enzimas proteolíticas endógenas, desnaturalización térmica del tejido conectivo y de las proteínas contráctiles generando un efecto suavizante en el primer caso y endurecimiento en último

término; disminución de la capacidad de retención de agua con ruptura de las fibras y salida de agua y lípidos. Voyle (1981) utilizando microscopía electrónica de barrido observó alteraciones que incluían coagulación del tejido conectivo del perimisio y endomisio y de las proteínas sarcoplásmicas, acortamiento del sarcómero y fragmentación miofibrilar. Stanley (1983) informó que si bien es cierto que la cocción determina un ablandamiento del colágeno al convertirlo en gelatina también produce coagulación y endurecimiento de las proteínas miofibrilares. Ambos efectos dependen del tiempo y temperatura de cocción aunque la acción del primero es más marcada en el ablandamiento del colágeno mientras que el endurecimiento de las proteínas miofibrilares se ven más afectadas por la temperatura. Estas influencias contrapuestas permiten explicar la diversidad del comportamiento de distintos músculos frente a la cocción.

TABLA 5

Coefficientes de variación de cada uno de los métodos utilizados aplicados a carnes crudas y cocidas

Método	N	Cv%
Ensayo de tracción - carne cruda	74	20.45
Ensayo de tracción - carne cocida	101	11.51
Ensayo WB - carne cruda	55	15.11
Ensayo WB - carne cocida	100	7.51

N = número de muestras utilizadas

Cv = (desviación standard/valor medio) x 100 = coeficiente de variación porcentual

3.2.2.2 Maduración de carne bovina

Las Figs. 8 a 11 muestran la relación entre la fuerza pico promedio (técnicas de tracción y tijera WB) y el tiempo de almacenamiento a 0, 4, 10 y 13°C.

La variación de la ternera con el tiempo de almacenamiento se analizó considerando una cinética de primer orden:

$$dF/dt = -kF \quad (6)$$

$$\text{Con } F = F_{\infty} \text{ a } t = t_{\infty}$$

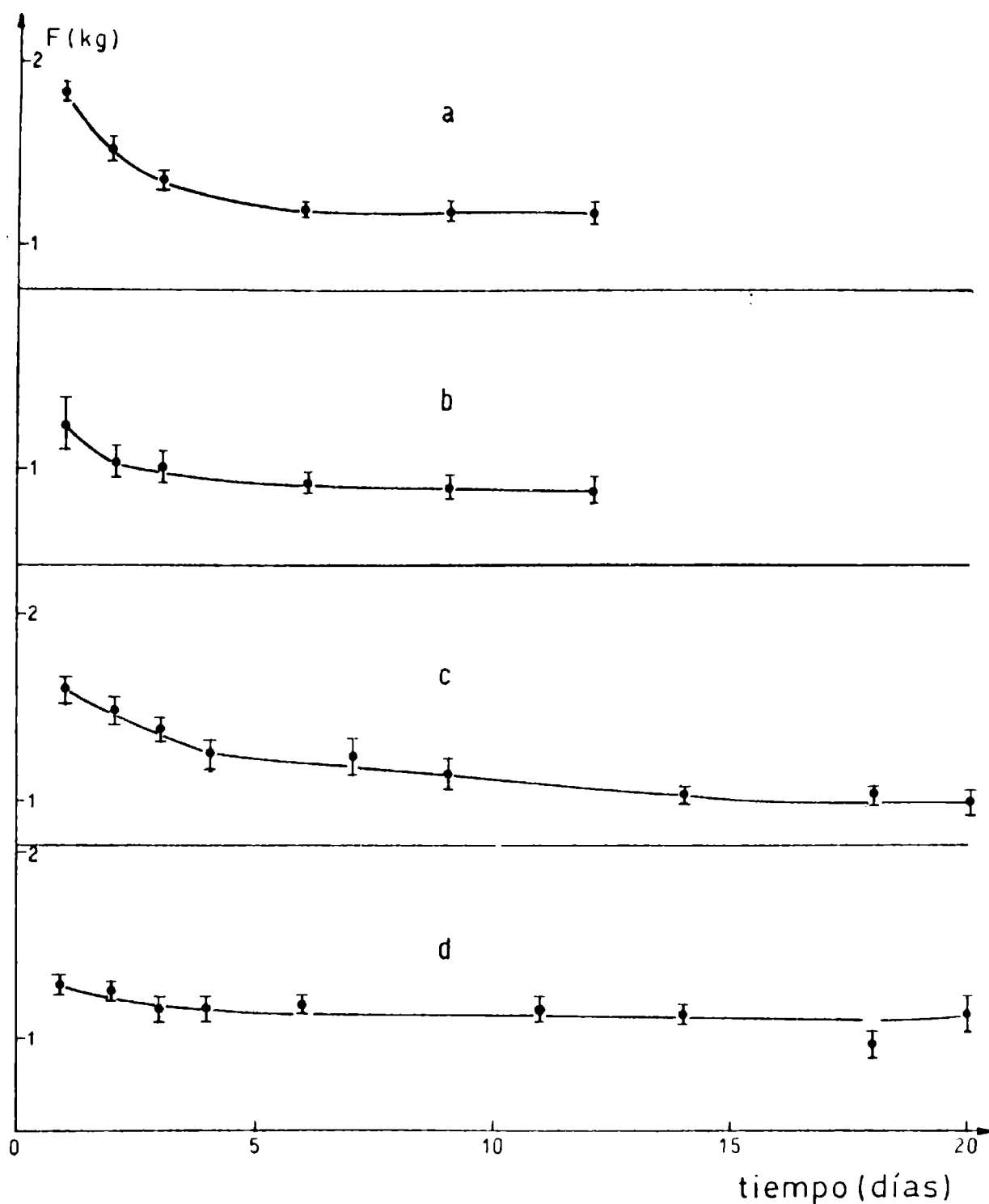
Integrando la ecuación diferencial se obtuvo la siguiente expresión:

$$\ln(F/F_{\infty}) = k (t_{\infty} - t) \quad (7)$$

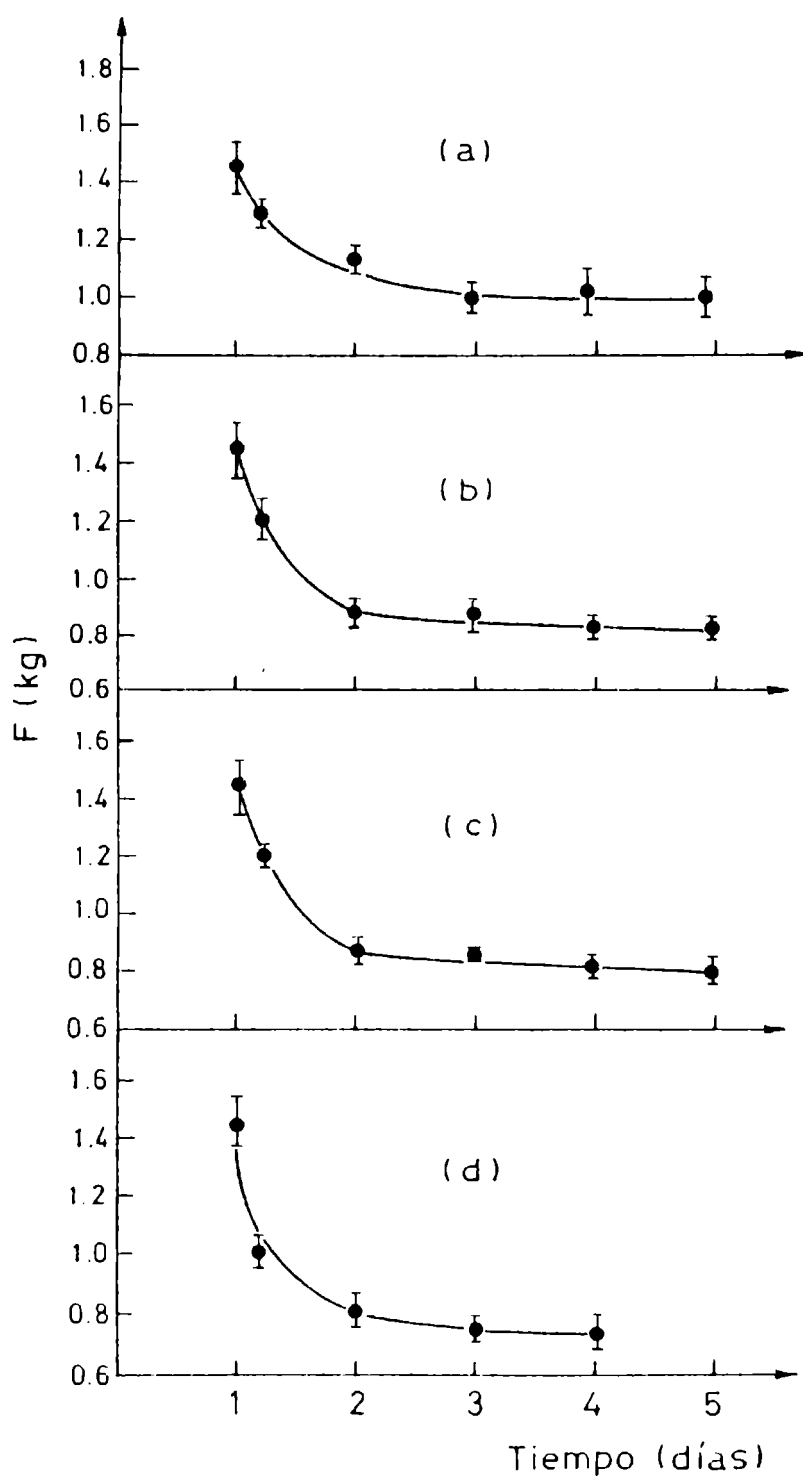
donde F y F_{∞} son los valores de fuerza (kg) al tiempo t y al final de proceso de maduración respectivamente y k es la constante cinética (días^{-1}).

Los resultados del análisis de varianza indicaron que la influencia del animal en F/F_{∞} y $\ln(F/F_{\infty})$ no era significativa ($P > 0.05$) por lo tanto las muestras pertenecientes a distintos animales para cada temperatura de almacenamiento se agruparon de manera de obtener constantes cinéticas (k) comunes.

Las constantes cinéticas se obtuvieron como la pendiente de la recta que se obtuvo al graficar $\ln(F/F_{\infty})$ vs $(t_{\infty} - t)$ (Figs. 12 a 15) para cada temperatura de almacenamiento y método ensayado (Tabla 6).



Figs. 8: Variaciones de ternura durante la maduración de M. semitendinoso medida con el método de tracción. Cada punto representa la media de N animales. Carne cocida almacenada a: (a) 4°C, N = 2; (c) 0°C, N = 4. Carne cruda almacenada a: (b) 4°C, N = 3; (d) 0°C, N = 2. Las barras verticales representan la desviación standard de los valores medios.



Figs. 9: Variaciones de ternesa durante la maduración de M. semitendinoso medida con el método de tracción. Cada punto representa la media de N animales. Carne cocida almacenada a: (a) 13°C, N = 2; (c) 10°C, N = 2. Carne cruda almacenada a: (b) 13°C, N = 2; (d) 10°C, N = 2. Las barras verticales representan la desviación standard de los valores medios.

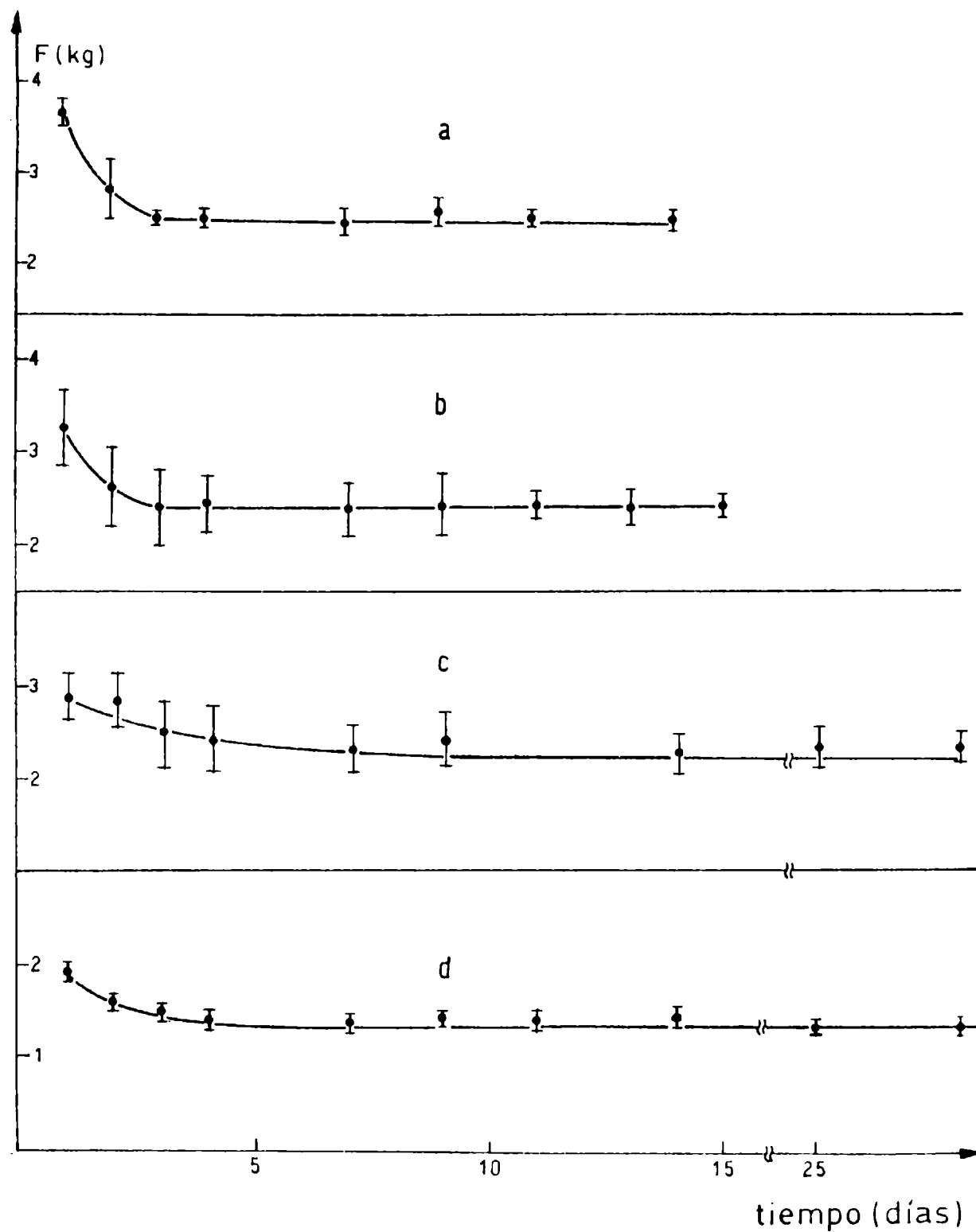
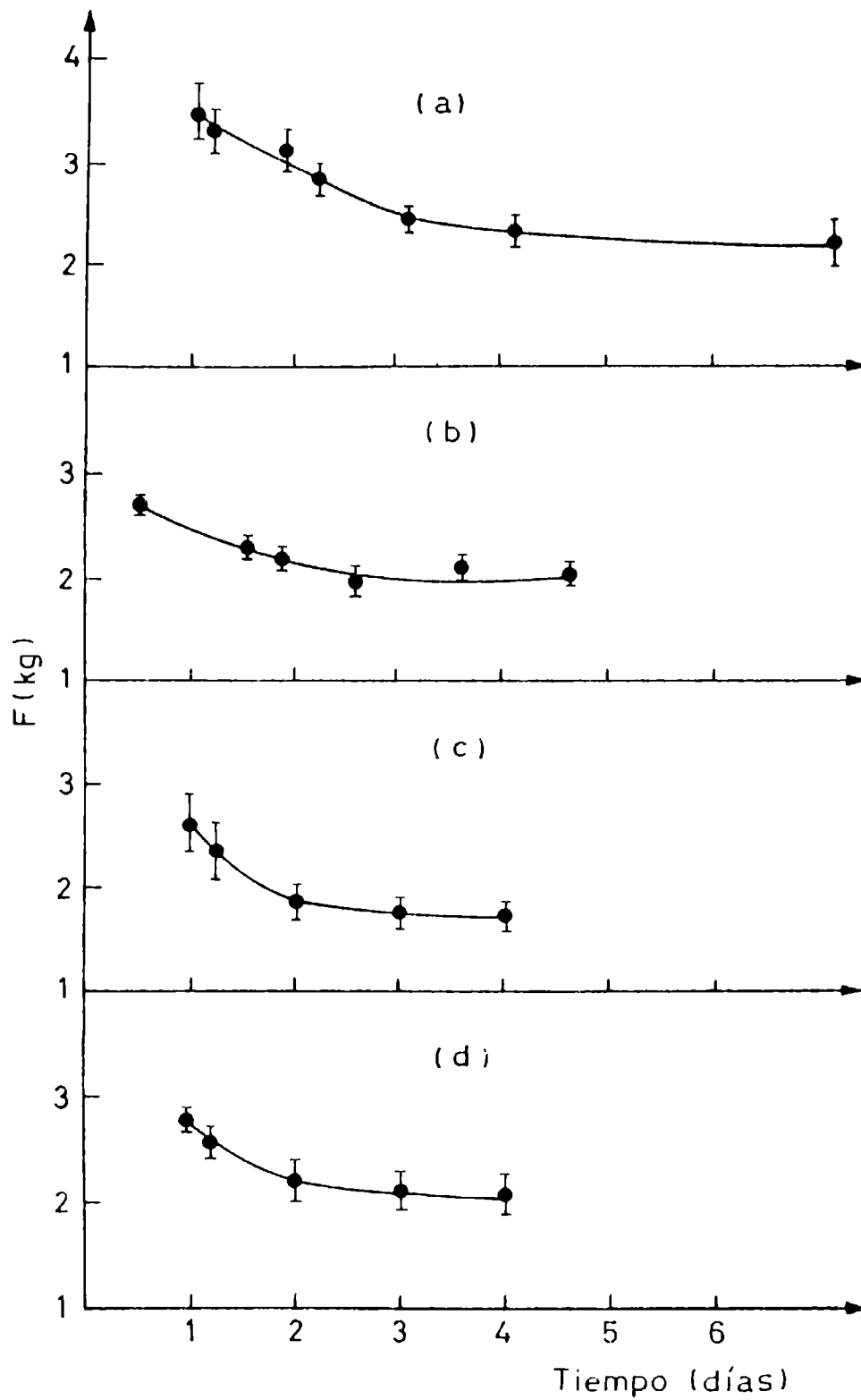


Fig. 10: Variaciones de terneza durante la maduración de *M. semitendinoso* medida con el método WB. Cada punto representa la media de N animales. Carne cocida almacenada a: (a) 4°C, N = 3; (c) 0°C, N = 4. Carne cruda almacenada a: (b) 4°C, N = 2; (d) 0°C, N = 3. Las barras verticales representan la desviación standard de los valores medios.



Figs. 11: Variaciones de terneza durante la maduración de *M. semitendinoso* medida con el método WB. Cada punto representa la media de N animales. Carne cocida almacenada a: (a) 13°C, N = 2; (c) 10°C, N = 2. Carne cruda almacenada a: (b) 13°C, N = 2; (d) 10°C, N = 2. Las barras verticales representan la desviación standard de los valores medios.

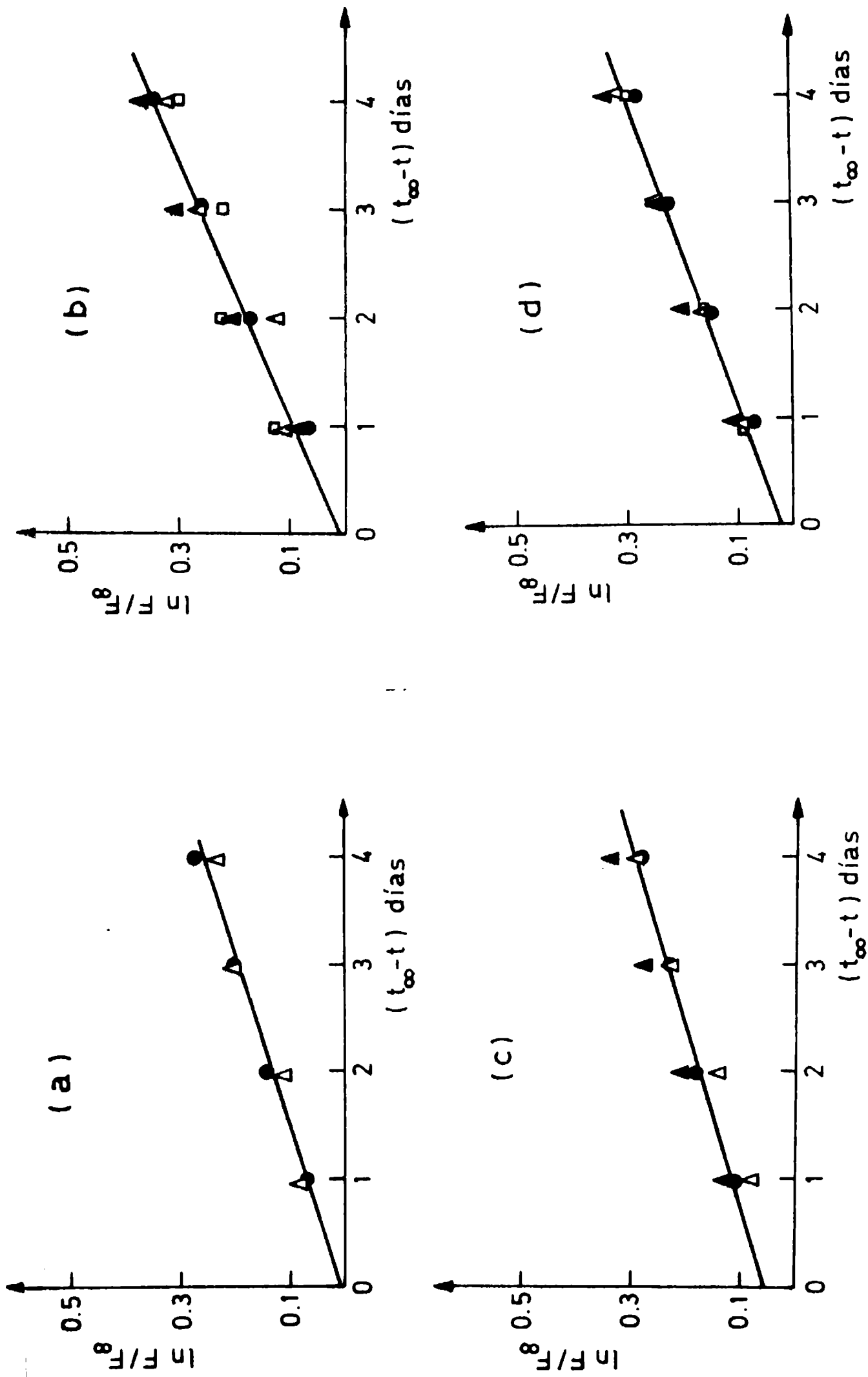


Fig 12: Relación entre la ternera y el tiempo de maduración usando el modelo propuesto. Temperatura de almacenamiento: 0°C. Ternera medida con el método de tracción en: (a) Carne cruda; (b) carne cocida; Ternera medida con cuchilla WB en (c) carne cruda y (d) carne cocida. Cada símbolo corresponde a un animal

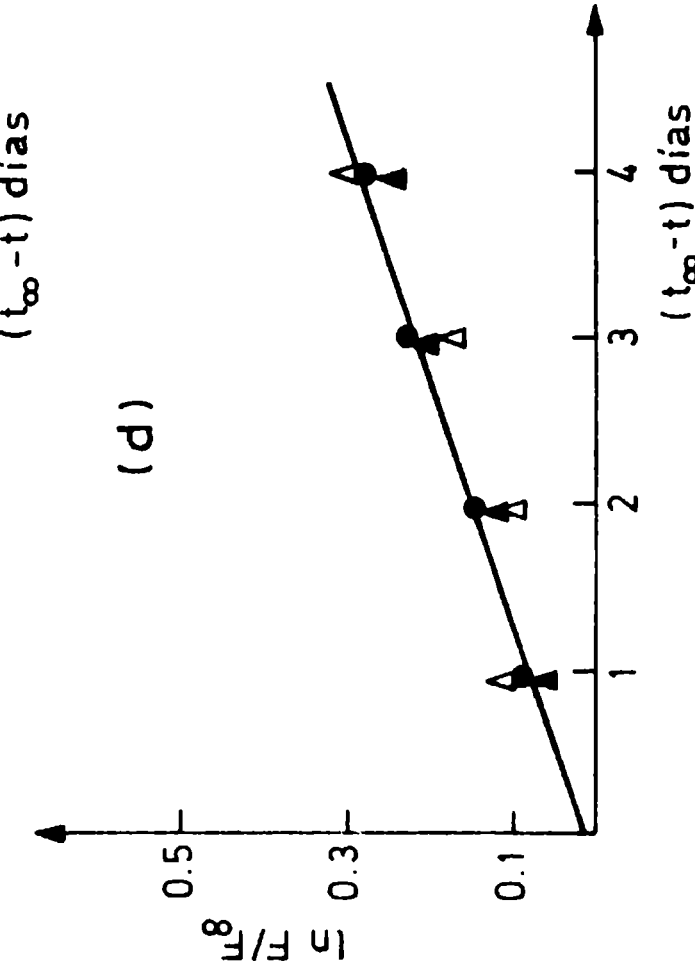
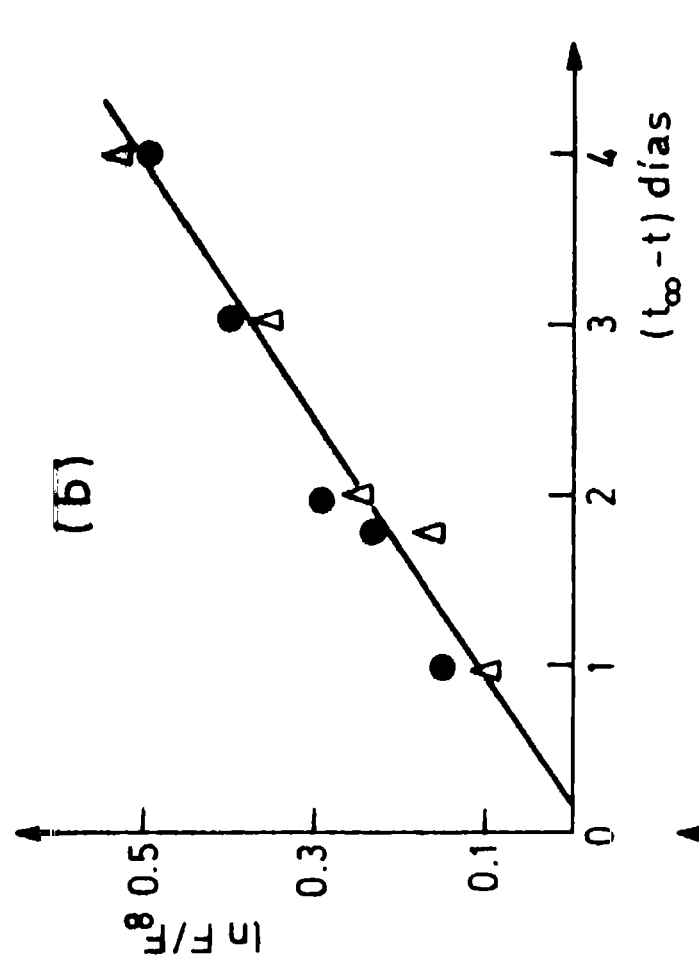
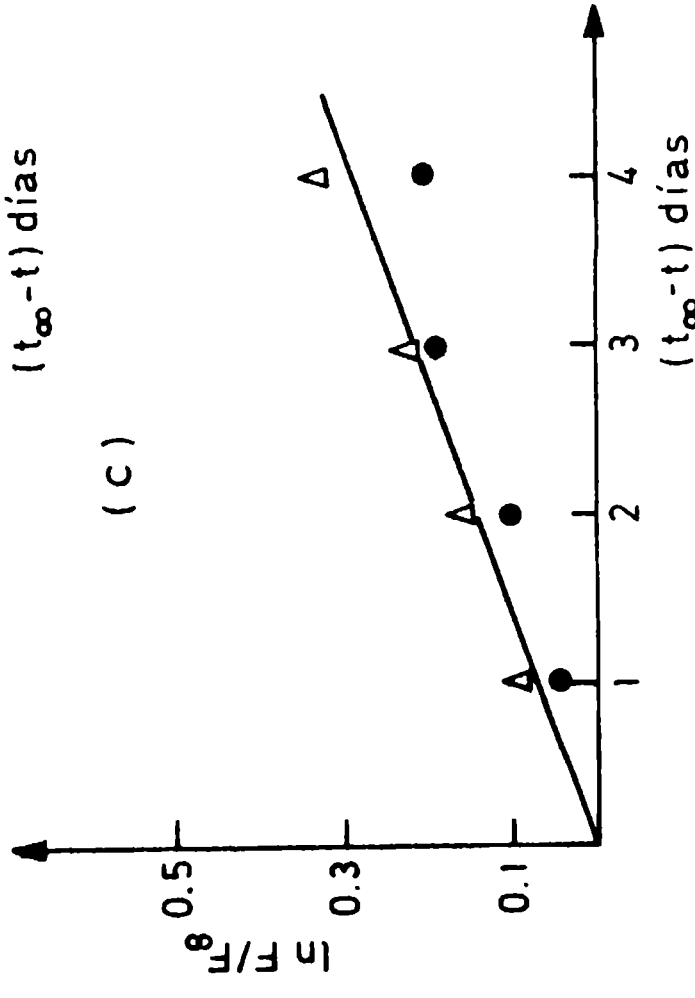
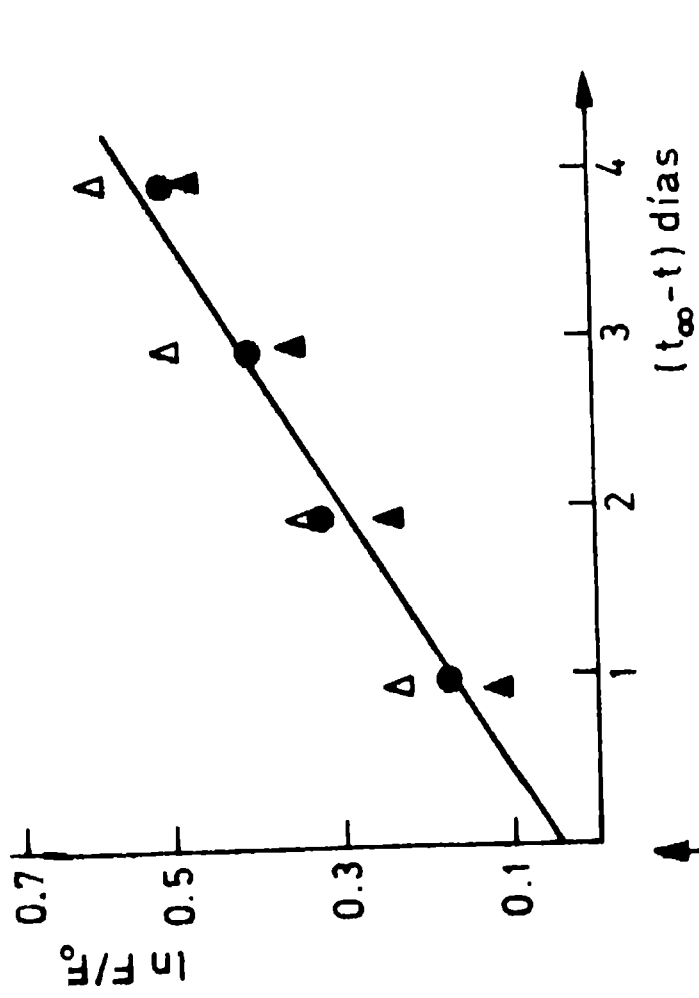


Fig 13: Relación entre la ternura (medida con el método de tracción) y el tiempo de maduración usando el modelo propuesto. Temperatura de almacenamiento: 4°C. Ternura medida con el método de tracción en: (a) Carne cruda; (b) carne cocida. Ternura medida con cuchillo WB en: (c) carne cruda y (d) carne cocida.

cada símbolo representa a un animal diferente.

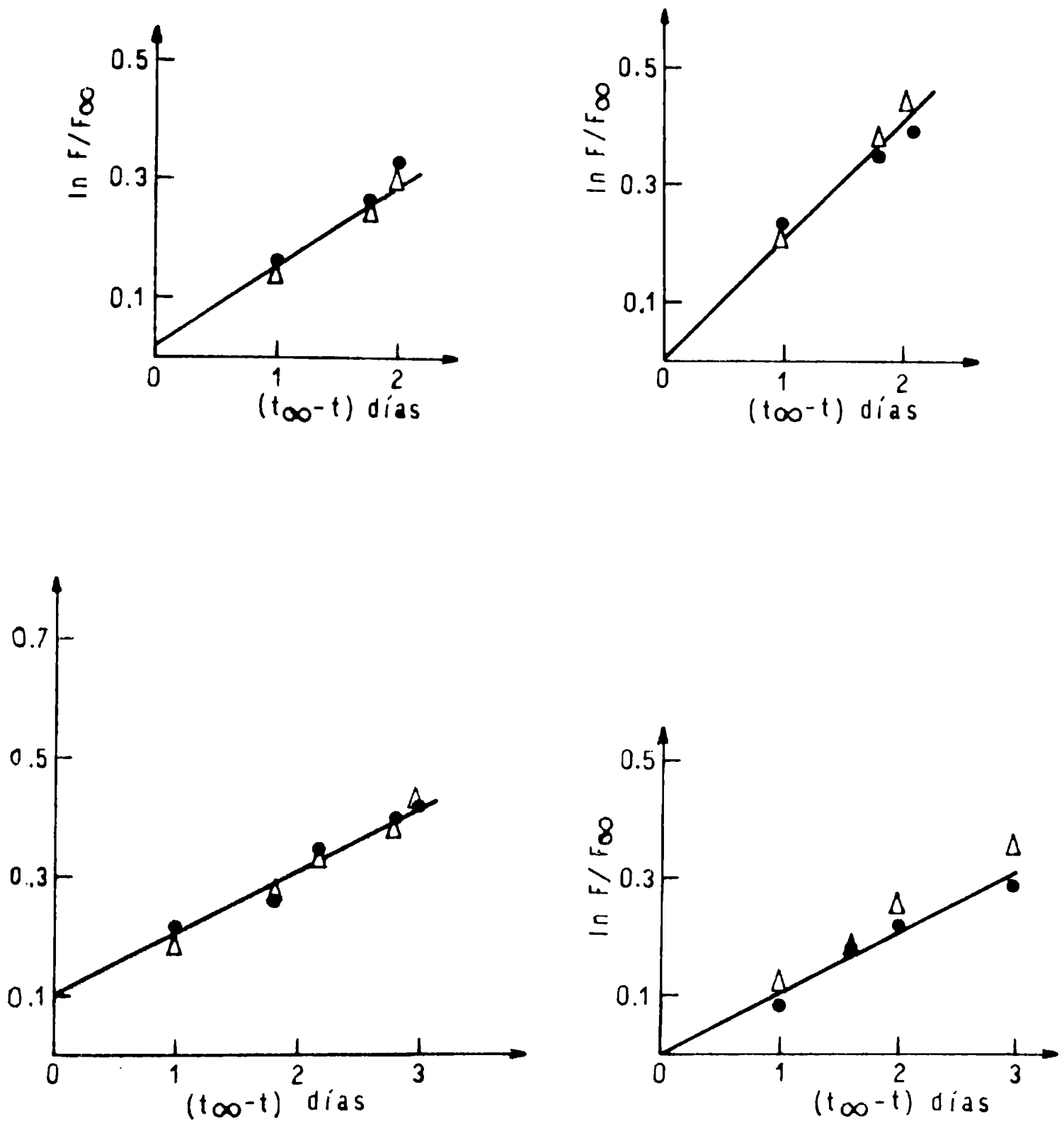


Fig 14: Relación entre la terneza y el tiempo de maduración usando el modelo propuesto. Temperatura de almacenamiento: 10°C . Terneza medida con el método WB en: (a) Carne cocida; (b) carne cruda Terneza medida con el método de tracción en (c) carne cocida y (d) carne cruda. Cada símbolo corresponde a un animal distinto.

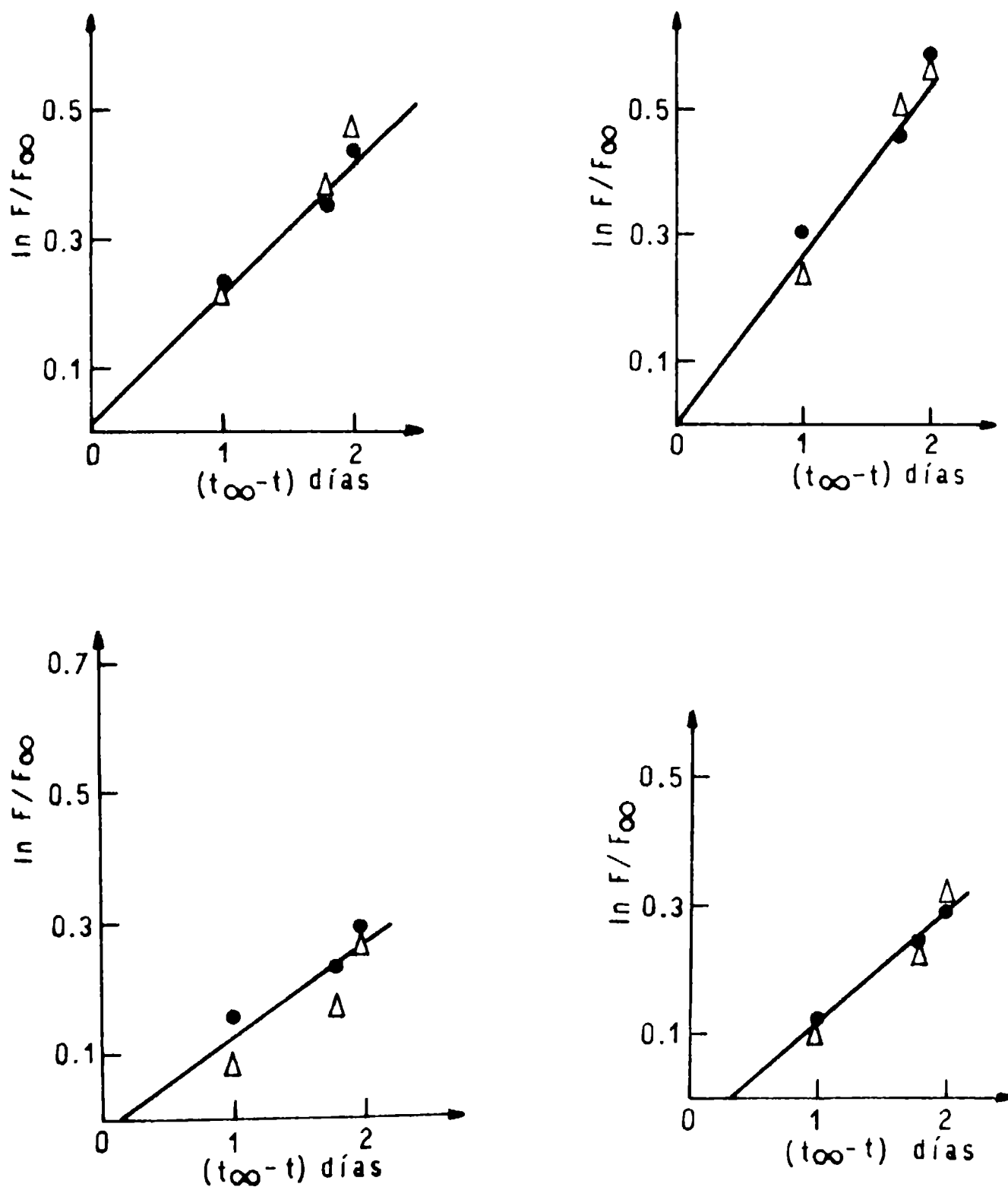


Fig 15: Relación entre la terneza y el tiempo de maduración usando el modelo propuesto. Temperatura de almacenamiento: 13°C. Terneza medida con el método de tracción en: (a) Carne cruda: (b) carne cocida. Terneza medida con el método WB en (c) carne cruda y (d) carne cocida. Cada símbolo corresponde a un animal distinto.

El ajuste del modelo se verificó mediante la prueba de "bondad de ajuste" ($P < 0.05$) (Himmelblau, 1970). La Tabla 6 muestra también los valores de tiempo de maduración (t_{00}) obtenidos en todos los casos.

TABLA 6

Efecto de la temperatura en las constantes cinéticas (k) y tiempos de maduración (t_{00})

T°C	Ensayo Warner-Bratzler						Ensayo de tracción					
	carne cruda			carne cocida			carne cruda			carne cocida		
	N	k	t_{00}	N	k	t_{00}	N	k	t_{00}	N	k	t_{00}
0	3	0.068 (0.007)	7	4	0.050 (0.005)	7	2	0.065 (0.005)	9	4	0.083 (0.004)	7
4	2	0.067 (0.015)	3.5	3	0.063 (0.006)	3.5	3	0.110 (0.017)	4	2	0.150 (0.014)	6
10	2	0.107 (0.008)	3	2	0.110 (0.015)	3	2	0.150 (0.014)	3	2	0.210 (0.019)	3
13	2	0.146 (0.060)	2	2	0.178 (0.028)	2	2	0.208 (0.028)	2	2	0.270 (0.025)	

Los valores entre paréntesis representan las desviaciones standard. N = N° de animales utilizados en cada experiencia
 k = constante cinética (días^{-1}); t_{00} = tiempo de maduración (días)

3.2.2.3 Energía de activación

A partir de las constantes cinéticas y utilizando la ecuación de Arrhenius se calcularon las energías de activación (E_a) correspondientes al proceso de maduración (Figs 16a,b y 17a,b). Los valores obtenidos (Tabla 7) concuerdan con los informados por Davey y Gilbert (1976) (61.6 kJ/mol), Penny y Dransfield (1979) (63 kJ/mol) y Dransfield y col. (1980a) (76 kJ/mol desviación standard (s) = 13 kJ/mol) usando técnicas de compresión en carne cocida.

TABLA 7

Método	E_a (kJ/mol)
Ensayos de tracción	carne cruda 47.103 (6.870)
	carne cocida 65.970 (7.991)
Ensayo Warner-Bratzler	carne cruda 45.473 (9.714)
	carne cocida 62.110 (8.352)

Los valores entre paréntesis representan la desviación standard

Yates y col. (1983) sugirieron que la degradación de la miosina sería un factor importante en el aumento de la ternera post-mortem, y que la pérdida de troponina T (TNT) podía ser considerado como un indicador de proteólisis. Penny y Ferguson-Pryce (1979) calcularon la energía de activación para la pérdida de TNT en homogenatos cárnicos crudos ($E_a = 37$ kJ/mol) y Penny y Dransfield (1979), trabajando con carne cocida, obtuvieron valores

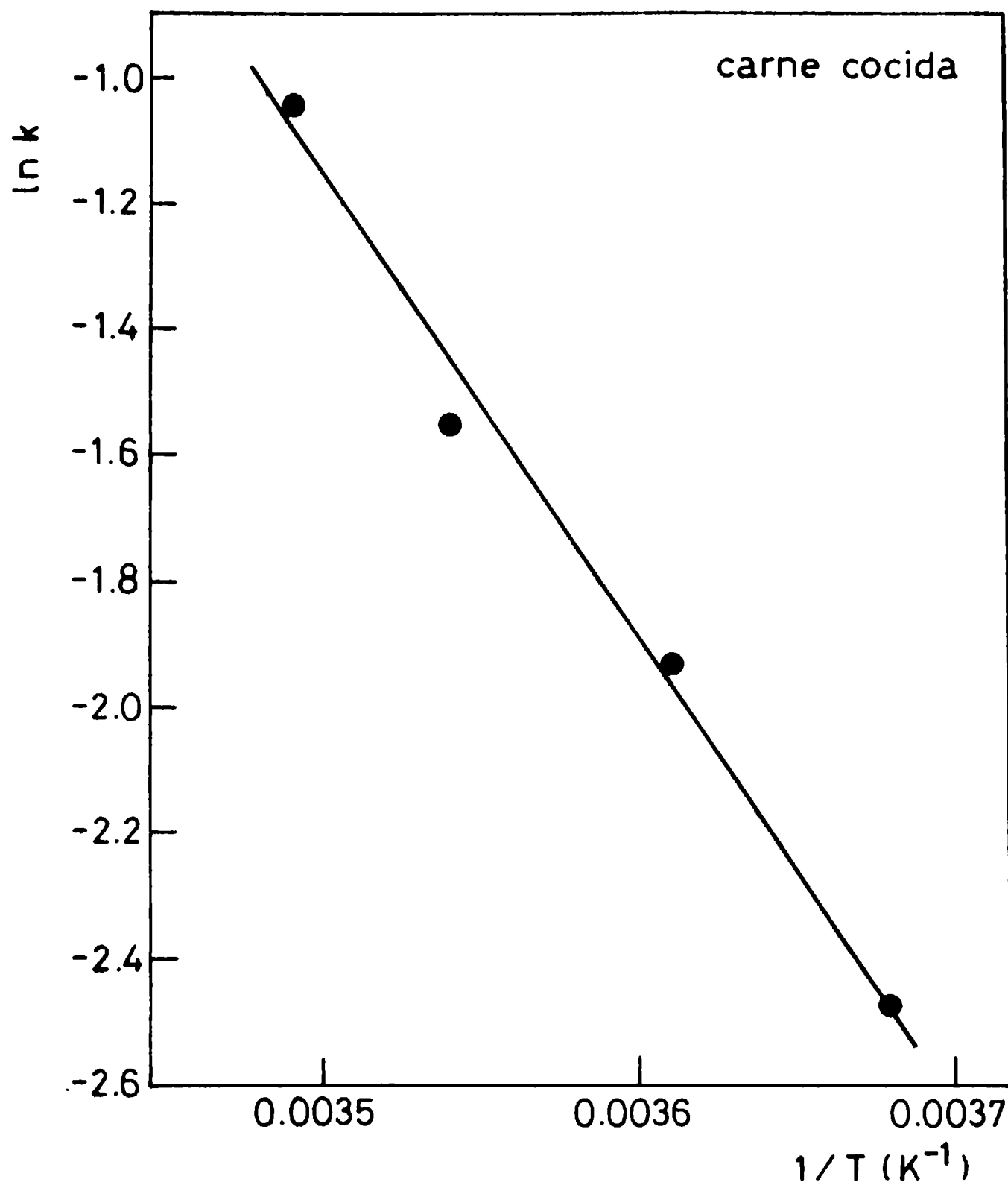


Fig. 16a: Efecto de la temperatura en las constantes cinéticas. La ternura fue medida con el método de tracción en carne cocida.

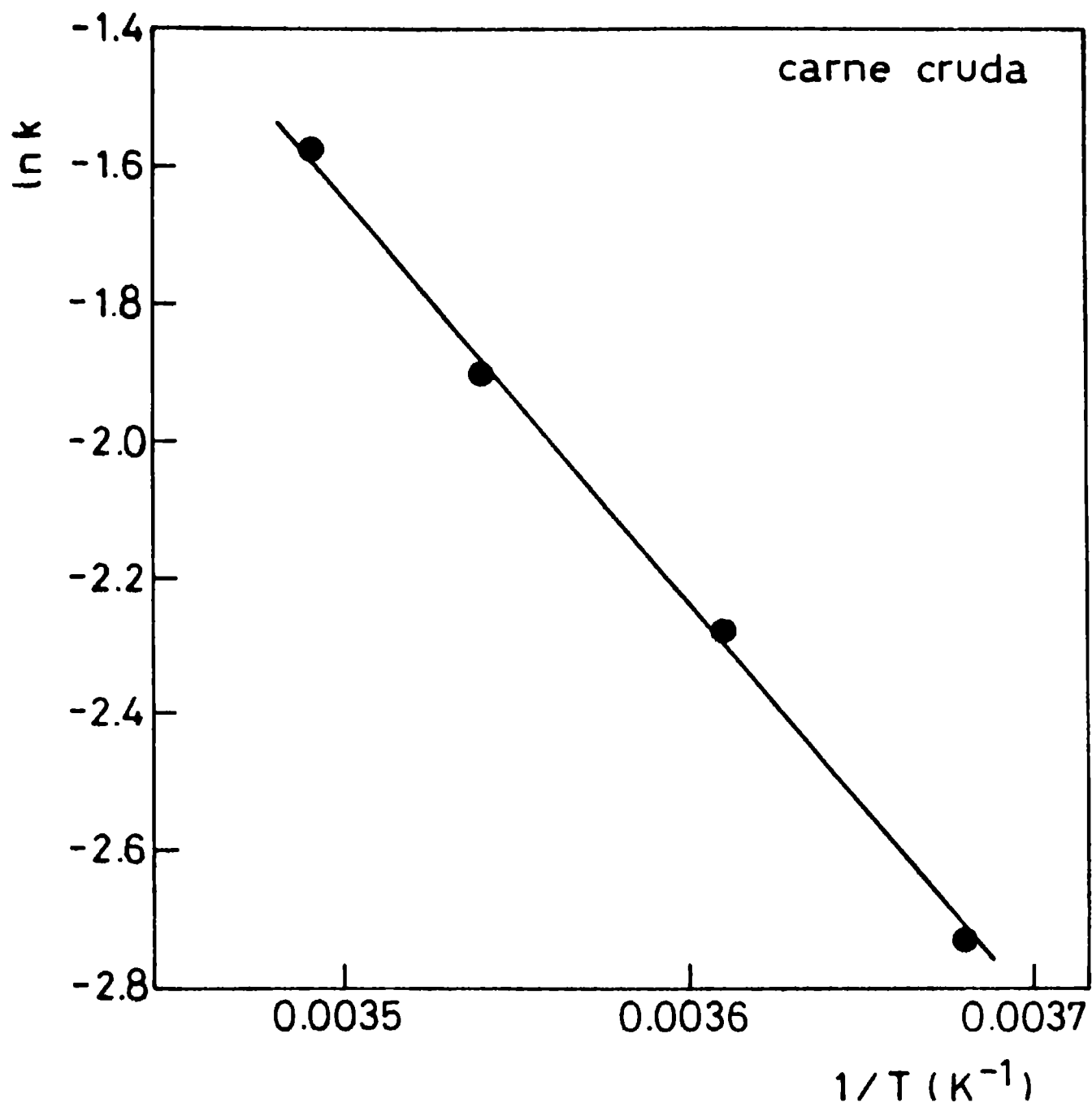


Fig. 16b: Efecto de la temperatura en las constantes cinéticas. La terneza fue medida con el método de tracción en carne cruda.

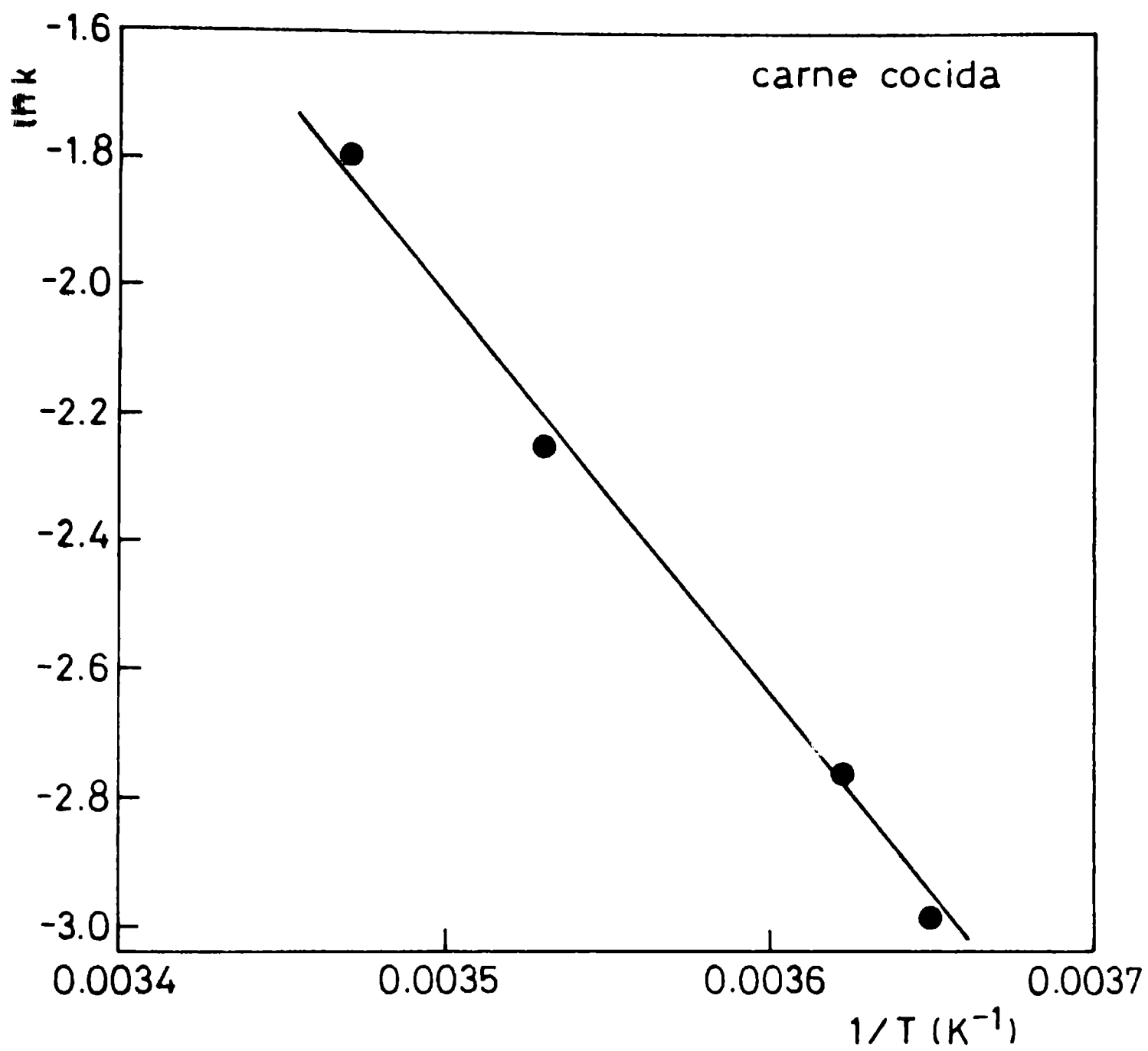


Fig. 17a: Efecto de la temperatura en las constantes cinéticas. La ternura fue medida con el método WB en carne cocida.

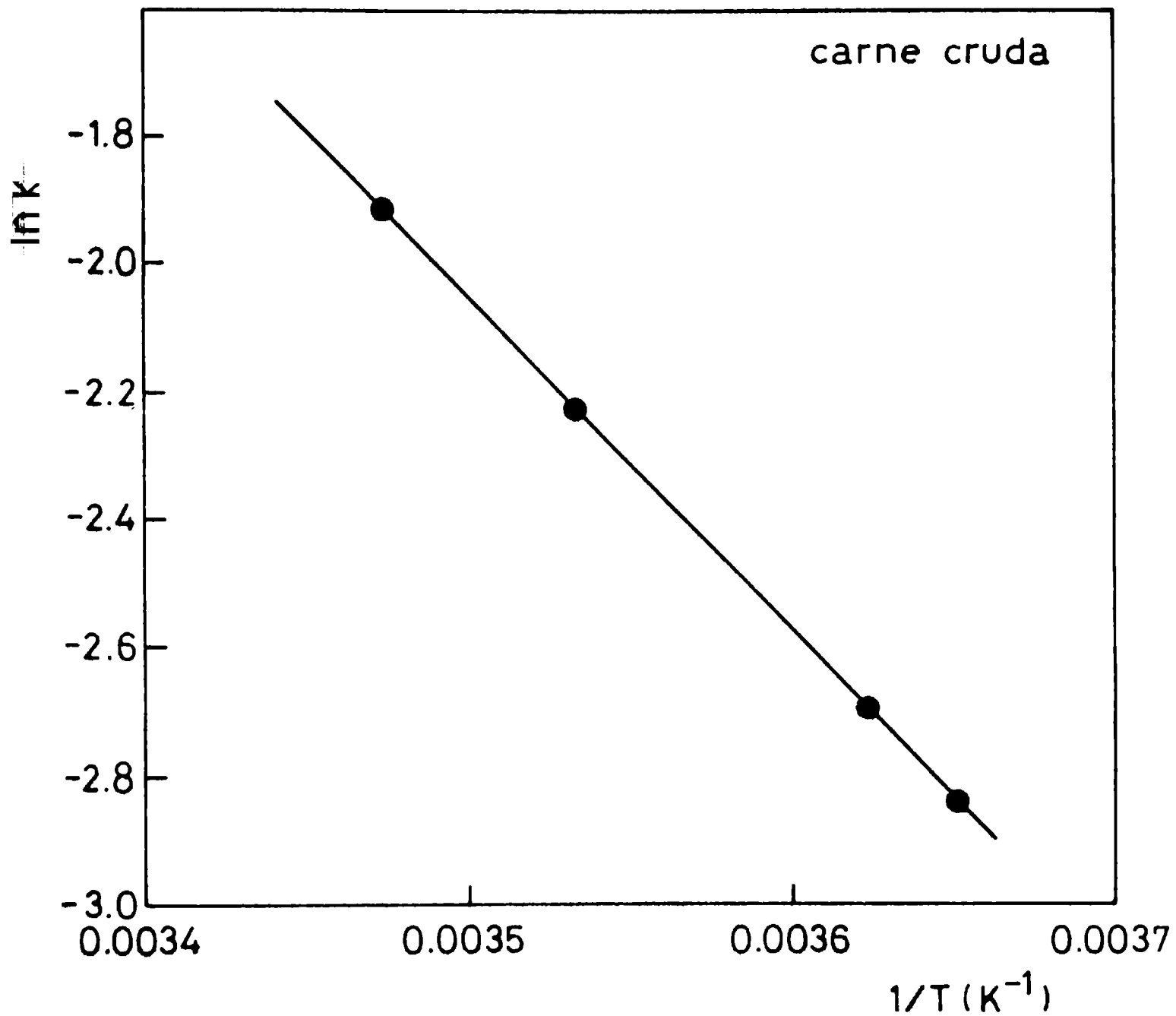


Fig. 1/b: Efecto de la temperatura en las constantes cinéticas. La terneza fue medida con el método WB en carne cruda.

de $E_a = 73$ kJ/mol que coinciden con los obtenidos en el presente estudio.

3.2.2.4 Otros indicadores de maduración

Valin y col., (1981) y Ouali (1984) encontraron una correlación significativa entre la disminución de la dureza cárnica y la sensibilidad de la actividad ATPásica a la fuerza iónica (Índice Bioquímico de Fragmentación Miofibrilar, BIMA); Locker y Wild (1982) informaron que el punto límite de comportamiento elástico (YP) podía ser considerado como un indicador de maduración.

Teniendo en cuenta esto se analizó la relación entre estos parámetros y tiempo de almacenamiento utilizando la ecuación exponencial propuesta (7) (Fig. 18a y b) donde $BIMA_{\infty}$ y YP_{∞} representaban los valores de BIMA y YP al final de la maduración (t_{∞}). Los coeficientes de correlación fueron en ambos casos altamente significativos, para BIMA $r = 0.997$ ($P < 0.001$) y para YP $r = 0.998$ ($P < 0.005$).

3.2.2.5 Tiempo de maduración

Existen considerables diferencias entre los tiempos de maduración informados en literatura. Stanley (1976) propuso periodos de 10 a 14 días a 5°C, Effenberger y Schotte (1972) 5 a 6 días a 0°C, MacDougall (1971) indicó que a temperaturas entre 0.5 y -2°C la maduración de la carne bovina se produce en los primeros 14 días y que no se observan cambios apreciables durante las semanas siguientes. Larmond y col. (1969) compararon la maduración

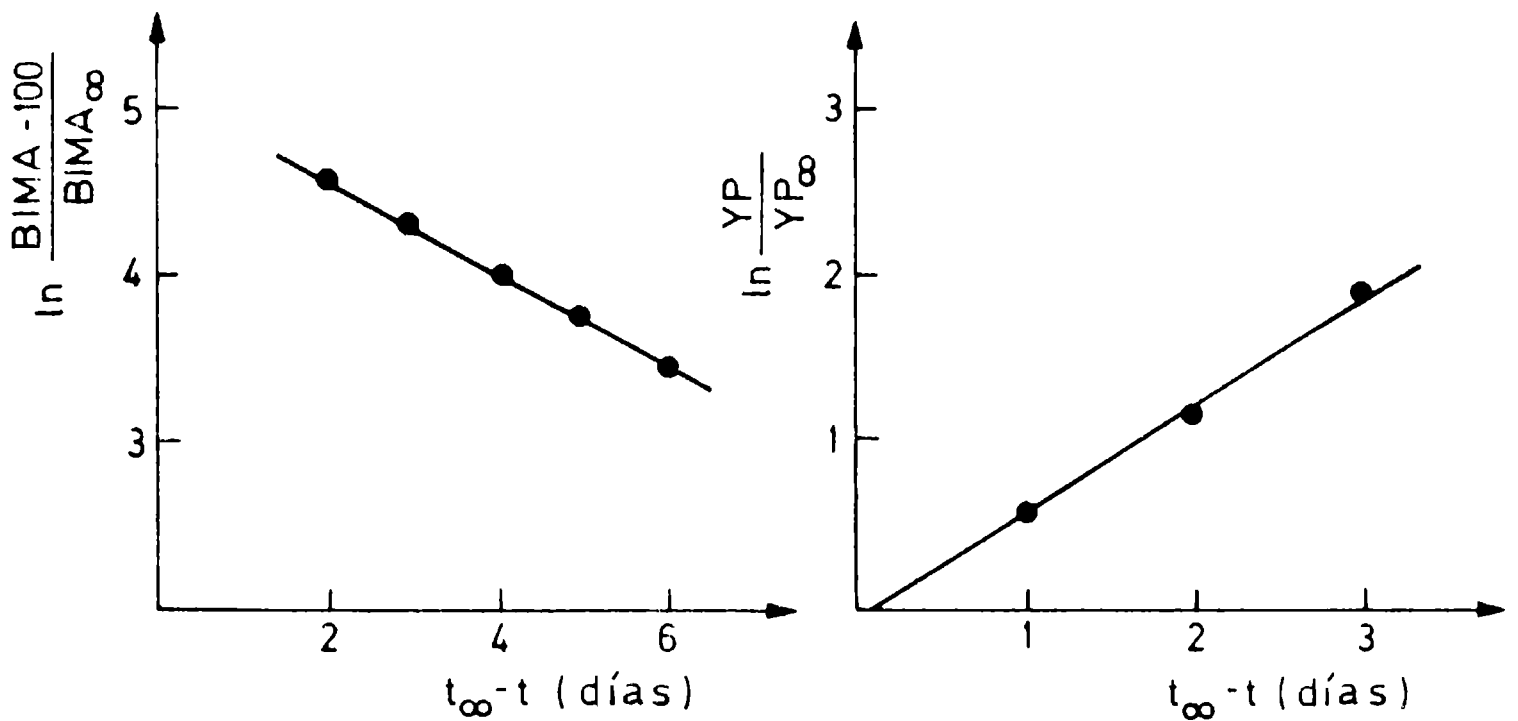


Fig. 18: Relación entre los distintos indicadores de maduración y el tiempo utilizando el modelo cinético propuesto. (a) Índice Bioquímico de Maduración Miofibrilar (BIMA), datos de Ouali (1984); (b) Fuerza Límite de Comportamiento Elástico (YP), datos de Locker y Wild (1982).

a 1°C durante 2, 9 y 16 días y señalaron que la carne almacenada durante 9 días era más tierna que la correspondiente a 2 días mientras que no se observaron diferencias significativas entre la ternura de carnes con 9 y 16 días de almacenamiento. Dransfield y col. (1980b) recomendaron tiempos de maduración de 14 días a temperaturas entre 2 y 4°C, George y col. (1980) 7 días a 1°C para carne no estimulada.

Los tiempos de maduración obtenidos en el presente estudio fueron:

- 1) 7 a 9 días a 0°C
- 2) 3 a 6 días a 4°C

Estos resultados concuerdan con las observaciones realizadas por Katsaras y col. (1984) utilizando microscopía electrónica de transmisión y de barrido. Estos autores encontraron que a partir del sexto día post-mortem a 2°C se debilitaba la cohesión intermiofibrilar debido a un colapsamiento parcial de las estructuras transversales (sistemas tubulares transvesales y discos Z), los puntos de conexión entre los filamentos de actina y las líneas Z estaban destruidos mientras que las fibras de colágeno y la membrana basal presentaban rupturas parciales.

En la determinación del tiempo de maduración deben tomarse en cuenta no solamente los cambios de ternura sino también el crecimiento microbiano; estableciendo 10^6 UFC/cm² (UFC = unidades formadoras de colonias) como límite de recuento microbiológico en carnes maduras, Zamora y Zaritzky (1985) recomendaron períodos de maduración máximos de 14 días a 0°C y 6 días a 4°C cuando el pH del músculo es menor a 6 y los recuentos iniciales son aproximadamente 10^4 UFC/cm². Teniendo en cuenta que en las muestras utilizadas la contaminación inicial fue aproximadamente

10^4UFC/cm^2 puede concluirse que dentro de los periodos de maduración analizados los niveles de contaminación no excedieron 10^5UFC/cm^2 , por lo tanto el producto madurado en estas condiciones se encuentra apto para la comercialización directa o procesos posteriores tales como la congelación.

3.2.2.6 Efecto de la velocidad de congelación y descongelación en la ternera

La Fig. 19 muestra el efecto de variaciones de la velocidad de congelación y descongelación en la ternera de M. semitendinoso bovino.

Los resultados del análisis estadístico indicaron que dentro de los rangos de velocidades estudiados ($t_{7a} = 2$ y 40 min.; $t_{7d} = 1$ y 40 min.) modificaciones en estos estos parámetros no afectaban la ternera ($P < 0.05$) confirmando los resultados informados por Pearson y Miller (1950) y Lee y col. (1950).

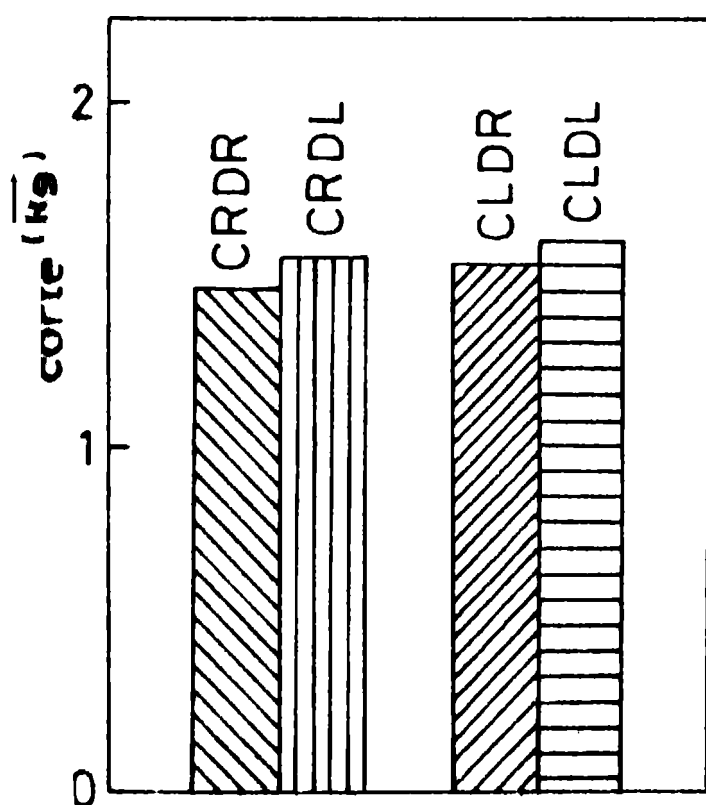


Fig. 19: Efecto de la velocidad de congelación y descongelación en la ternera cárnica. CR: congelación rápida; CL: congelación lenta; DR: descongelación rápida; DL: descongelación lenta.

3.2.2.7 Efecto de la velocidad de congelación, tiempo y temperatura de almacenamiento congelado y maduración previa en la ternera

La Tabla 8 muestra los valores de fuerza de corte correspondientes al comienzo y finalización del almacenamiento obtenidos en las distintas condiciones experimentales ensayadas.

TABLA 8

Efecto de la velocidad de congelación, tiempo y temperatura de almacenamiento y maduración previa en la fuerza de corte (kg) de M. Semitendinoso bovino.

T _a (°C)	carne sin madurar				carne madurada			
	CR		CL		CR		CL	
	t _o	t _r	t _o	t _r	t _o	t _r	t _o	t _r
-5	2.004 (0.224)	1.881 (0.207)	1.930 (0.210)	1.883 (0.250)	1.641 (0.251)	1.656 (0.189)	1.582 (0.231)	1.514 (0.178)
-10	1.803 (0.243)	1.905 (0.223)	1.876 (0.221)	1.823 (0.246)	1.451 (0.187)	1.522 (0.207)	1.532 (0.175)	1.611 (0.184)
-13	2.220 (0.290)	2.132 (0.230)	2.176 (0.243)	2.101 (0.230)	1.805 (0.221)	1.781 (0.177)	1.880 (0.204)	1.697 (0.189)
-25	1.758 (0.220)	1.630 (0.202)	1.932 (0.283)	1.887 (0.207)	1.385 (0.172)	1.412 (0.167)	1.426 (0.168)	1.389 (0.157)

CR = congelación rápida (t_{7a} = 2 min), CL = congelación lenta (t_{7a} = 40 min). t_o = comienzo del almacenamiento, t_r = 280 días de almacenamiento. Los valores entre paréntesis representan la desviación standard.

Los resultados del análisis estadístico indicaron la ternera de M. semitendinoso bovino no varió significativamente (P > 0.05).

durante el almacenamiento congelado independientemente de la temperatura de almacenamiento utilizada. Las diferencias en la fuerza de corte observada entre las muestras congeladas con y sin maduración previa resultó significativa ($P < 0.05$) a todas las temperaturas ensayadas.

3.3 Conclusiones

El modelo propuesto representa satisfactoriamente la evolución de la fuerza máxima en carnes crudas y cocidas durante el periodo de maduración. Este modelo representó también la relación de otros indicadores de maduración tales como el Índice bioquímico de fragmentación miofibrilar (BIMA) y el punto límite de comportamiento elástico (YP) con el tiempo de almacenamiento.

Los tiempos de maduración a 4°C resultaron dentro de un rango de 3 a 6 días, valores considerablemente menores que los informados en literatura; esto permite incrementar la calidad de los productos desde el punto de vista microbiológico y acelerar los procesos de comercialización. A 0°C el valor estimado fue de 7 a 9 días coincidente con el propuesto por otros investigadores.

Dentro del rango de velocidades de congelación y descongelación ensayadas ($t_{7c} = 2$ y 40 min; $t_{7d} = 1$ y 40 min), modificaciones en estos parámetros no afectaban la ternura de M. semitendinoso. Esta tampoco se vio afectada por la temperatura y el tiempo de almacenamiento congelado.

Los coeficientes de variación estimados para cada método instrumental mostraron que el método más conveniente era la cuchilla WB con carne cocida. Presenta además la ventaja con respecto a la de tracción que se pueden obtener mayor número de

muestras por músculo y una mayor facilidad en el corte de las mismas.

CAPITULO 4

COLORACION SUPERFICIAL DE CARNE BOVINA REFRIGERADA

4.1 Análisis de los métodos instrumentales para la medición del color superficial

El color es una experiencia subjetiva que puede ser descrita en términos de luminosidad y cromaticidad (Wyzsecky y Stiles, 1967). La luminosidad es el atributo que permite clasificar a una superficie de color equivalente a la sensación producida por un elemento gris en la escala del blanco al negro. La cromaticidad involucra dos características que son la longitud de onda (λ) dominante y la pureza. La primera corresponde a la sensación de color llamada matiz y la segunda a la saturación.

El matiz es la característica que permite identificar al rojo, verde, azul o a un intermedio. La saturación es una propiedad de la superficie coloreada que da la diferencia de color respecto al gris de igual luminosidad.

Existen diversas técnicas que permiten medir el color de los alimentos, una de las más utilizadas es la de Hunter (1958) donde el color está definido en términos de luminosidad (L), y coordenadas cromáticas a, del verde al rojo, y b, del azul al amarillo. Tanto esta técnica como los métodos espectrofotométricos son los medios más comunes para medir el color de la carne bovina. MacDougall (1982), Zaritzky y col. (1983) y Zamora y Zaritzky (1987a) determinaron las variaciones del color de la carne bovina refrigerada y congelada en términos de luminosidad y coordenadas cromáticas utilizando un colorímetro HunterLab.

Broumand y col. (1958) desarrollaron métodos espectrofotométricos que permitieron determinar la concentración de pigmentos musculares en extractos acuosos. La necesidad de extraer los pigmentos, fuente de considerables errores, motivó el uso de otras

técnicas tales como espectrofotometría de reflectancia difusa que es un ensayo no destructivo, de gran aplicación para el estudio del color en superficies opacas.

4.2 Determinación de la concentración de pigmentos musculares mediante técnicas de reflectancia difusa. Fundamentación del método

La teoría más aceptada acerca de la difusión de la luz en medios turbidos (sustancias capaces de dispersar y absorber parte de la luz que las atraviesa) fue desarrollada por Kubelka y Munk (Wendlandt y Hecht, 1966; Kortum, 1969) y es la más utilizada para medir el color de alimentos turbios o translúcidos.

En su tratamiento los autores representan el paso de la luz a través del medio turbio mediante dos flujos difusos que viajan en direcciones opuestas, cada uno cede parte de su luz al otro por dispersión en dirección contraria. Se considera que la muestra es un plano de caras paralelas, infinitamente largo pero de espesor limitado de manera de poder eliminar el efecto de los bordes. El espesor de la muestra considerada es chico comparado con el total pero grande respecto del diámetro de las partículas de pigmento de manera de tener que considerar únicamente su efecto promedio. Kubelka y Munk supusieron que las propiedades ópticas del material a cualquier longitud de onda podían ser descriptas por un coeficiente de dispersión (S) y uno de absorción (K). Estos dos coeficientes describen la cantidad de luz implicada en la absorción y dispersión por unidad de longitud del camino recorrido por el haz luminoso. Como cada haz atraviesa una pequeña distancia dentro de la muestra se supone que pierde una cantidad de luz

proporcional a su propia energía y a K por absorción y a S por dispersión en dirección opuesta. Cada flujo gana simultáneamente una cantidad de energía proporcional a S y a la energía del segundo flujo por dispersión hacia atrás del otro.

Se ha demostrado que en muestras opacas la relación de los coeficientes de dispersión y absorción es proporcional a la concentración de colorante en la muestra según:

$$K/S = kC \quad (8)$$

k = constante de proporcionalidad; C = Concentración de colorante

El valor de K/S está relacionado con la reflectancia a una dada longitud de onda (λ) mediante la siguiente ecuación:

$$K/S = (1 - R_{\infty})^2 / 2 R_{\infty} \quad (9)$$

donde R_{∞} representa la reflectancia de una muestra de espesor infinito. En el caso de la carne, la medición de su color implicaría la determinación de las concentraciones relativas de Mb, MbO₂ y MetMb. Dean y Ball (1960) desarrollaron una técnica para medir la concentración de pigmentos de la superficie cárnica basada en la relación de absorbancias de Broumand y col. (1958), utilizando espectrofotometría de reflectancia. Stewart y col. (1965) usaron espectrofotometría de reflectancia para determinar la concentración total de pigmentos musculares y el nivel de MetMb presente; Snyder (1965) ajustó las curvas espectrales a una reflectancia común a 525 nm de manera de superar el problema de la influencia de la matriz cárnica. Franke y Solberg (1971) midieron las concentraciones relativas de MetMb ajustando el espectro a un valor constante a 750 nm y midiendo la absorbancia a 632 nm; Van den Oord y Wesdorp (1971 a; b) utilizaron diferencias en absorbancias a 580 nm y 630 nm para determinar el contenido de MbO₂ y MetMb en muestras cuyo contenido de Mb era despreciable. Strange y

col. (1974) relacionaron las mediciones de reflectancia con parámetros triestímulo y los resultados de un panel entrenado; Eagerman y col. (1978) propusieron un método rápido para seguir los cambios debidos a la oxidación o reducción en la MetMb bovina basados en diferencias entre las reflectancias a 632 nm y 614 nm; Attrey y Sharma (1979) compararon los distintos métodos y llegaron a la conclusión que la relación K/S a 572 y 525 nm era la que daba resultados más consistentes para la determinación de MetMb; Krzywicki (1979) propuso un método para determinar las concentraciones relativas de los tres pigmentos usando espectrofotometría de reflectancia pero utilizando los coeficientes de absorción obtenidos por Broumand y col. (1958).

Bevilacqua y Zaritzky (1986) obtuvieron ecuaciones derivadas de la teoría de Kubelka Munk que permitieron evaluar las concentraciones relativas de los tres derivados mioglobínicos de músculo bovino mediante espectrofotometría de reflectancia.

Para aplicar la teoría de Kubelka Munk al tejido muscular, la carne puede considerarse como una matriz de material celular capaz de dispersar la luz, proteínas miofibrilares, tejido conectivo y pigmentos responsables de la absorción del haz luminoso que atraviesa la muestra (MacDougall, 1970). La intensidad de la luz reflejada y por consiguiente su color y apariencia estarán determinadas por la interrelación de los componentes del sistema que dispersan la luz y la concentración y propiedades de absorción de los pigmentos. Los pigmentos coloreados absorben la luz mientras que la estructura incolora y las proteínas miofibrilares absorben y dispersan la misma.

La función de Kubelka Munk $F(R_{\infty})$ puede expresarse como:

$$F(R_{\infty}) = (1 - R_{\infty})^2 / 2 (R_{\infty})$$

$$F(R_{00}) = \frac{K_{\lambda}^{Mb} C_{Mb} + K_{\lambda}^{MbO_2} C_{MbO_2} + K_{\lambda}^{MetMb} C_{MetMb} + K_{\lambda}^m C^m}{S_{\lambda}^{Mb} C_{Mb} + S_{\lambda}^{MbO_2} C_{MbO_2} + S_{\lambda}^{MetMb} C_{MetMb} + S_{\lambda}^m C^m} \quad (11)$$

donde K, S y C tienen los mismos significados que en la ecuación (10).

Considerando que la dispersión se debe únicamente a la matriz de las fibras ($S^m = S$), se obtuvo la siguiente expresión:

$$F(R_{00}) - F_0(R_{00})_{\lambda} = \frac{K_{\lambda}^{Mb} C_{Mb} + K_{\lambda}^{MbO_2} C_{MbO_2} + K_{\lambda}^{MetMb} C_{MetMb}}{S_{\lambda} C^m} \quad (12)$$

$$\text{donde } F_0(R_{00}) = K^m/S \quad (13)$$

Los espectros de reflectancia de la carne bovina muestran un mínimo aproximadamente a 730 nm (Krzywicki, 1979) que no depende de la concentración de pigmentos y puede ser considerado como K/S de la carne libre de pigmentos.

El análisis del espectro de reflectancia del tejido muscular está relacionado con cambios en la reflectancia a longitudes de onda específicas: 525 nm es un punto isobiéstico para los tres pigmentos, 572 nm es isobiéstico para MbO₂ y Mb y 473 nm es isobiéstico para MbO₂ y MetMb.

Escribiendo la Ec. (12) para $\lambda = 525$ nm y 572 nm y definiendo:

$$F_{\lambda} = F(R_{00})_{\lambda} - F_0(R_{00})_{730} \quad (14)$$

se obtuvieron las siguientes expresiones:

$$\Delta F_{525} = \frac{K_{525}^{Mb=MbO_2=MetMb} (C_{Mb} + C_{MbO_2} + C_{MetMb})}{S_{525} C^m} \quad (15)$$

$$\Delta F_{572} = \frac{K_{572}^{Mb=MbO_2} (C_{Mb} + C_{MbO_2}) + K_{572}^{MetMb} C_{MetMb}}{S_{572} C^m} \quad (16)$$

La Ec. (15) indica que ΔF_{525} es un indicador del contenido total de pigmentos y de la intensidad del color de la carne.

Definiendo la concentración fraccional de cada pigmento como:

$$x_1 = C_1/C_t \text{ con } C_t = C_{Mb} + C_{MbO_2} + C_{MetMb} \quad (17)$$

de las Ecs. (15) y (16) se puede obtener x_{MetMb} a partir de:

$$x_{MetMb} = \frac{(\Delta F_{572}/\Delta F_{525}) (K/S)_{525}^{Mb=MbO_2=MetMb} - (K/S)_{572}^{Mb=MbO_2}}{(K/S)_{572}^{MetMb} - (K/S)_{572}^{Mb=MbO_2}} \quad (18)$$

Escribiendo la Ec. (12) para $\lambda = 473 \text{ nm}$ y considerando la Ec. (15), la expresión para calcular x_{Mb} es la siguiente:

$$x_{Mb} = \frac{(\Delta F_{473}/\Delta F_{525}) (K/S)_{525}^{Mb=MbO_2=MetMb} - (K/S)_{473}^{MbO_2=MetMb}}{(K/S)_{473}^{Mb} - (K/S)_{473}^{MbO_2=MetMb}} \quad (19)$$

Las concentraciones relativas de MbO_2 pueden obtenerse de:

$$x_{Mb} + x_{MbO_2} + x_{MetMb} = 1 \quad (20)$$

Para controlar la validez de estas ecuaciones se obtuvo una expresión independiente para x_{MbO_2} , para ello se seleccionó una de las longitudes de onda características ($\lambda = 580 \text{ nm}$) del espectro de absorción de MbO_2 .

$$x_{MbO_2} = \frac{(\Delta F_{580}/\Delta F_{525}) (K/S)_{525}^{Mb=MbO_2=MetMb} + x_{MetMb}((K/S)_{580}^{Mb} - (K/S)_{580}^{MetMb}) - (K/S)_{580}^{Mb}}{(K/S)_{580}^{MbO_2} - (K/S)_{580}^{Mb}} \quad (21)$$

Utilizando espectros standard, Bevilacqua y Zaritzky (1986)

calcularon los valores de K/S de cada derivado de la Mb a distintas longitudes de onda. La inclusión de estos resultados en las Ecs. (18), (19) y (21) permitió obtener las siguientes expresiones para evaluar la concentración de pigmentos cárnicos:

$$x_{\text{MetMb}} = 1.58 - 1.05 \Delta F_{572} / \Delta F_{525} \quad (22)$$

$$x_{\text{Mb}} = 2.24 - 2.38 \Delta F_{473} / \Delta F_{525} \quad (23)$$

$$x_{\text{MbO}_2} = 1.685 x_{\text{MetMb}} + 1.85 \Delta F_{580} / \Delta F_{525} - 2.65 \quad (24)$$

4.3 Efecto de la temperatura, permeabilidad de película de envase y preservadores químicos (sorbato de potasio) en la coloración superficial de carne bovina.

4.3.1 Materiales y métodos utilizados

4.3.1.1 Muestras

Para estudiar el efecto del SorK en la concentración de pigmentos se utilizó músculo glúteo de novillo (peso de carcasa 240 kg) con 48 horas post-mortem a 4°C proveniente de un frigorífico local. El pH de dichos músculos se hallaba comprendido en un rango entre 5.5 y 5.8 medido con un electrodo de inserción INGOLD LOT 405 M4.

Las muestras de carne de 3.2 x 2.3 cm de sección y 2 cm. de espesor se cortaron de forma tal que las fibras musculares fueran paralelas a la superficie a ser analizada. Después del corte se procesaron de la siguiente forma:

- a) sin agregado de aditivos de manera de poder ser utilizadas como muestras de referencia.
- b) rociado con: 1) 12.5 ml de solución esterilizante compuesta por: 0.05g/100 ml polimixina, 0.1g/100 ml de eritromicina, 1g/100 ml de estreptomicina y 0.5g/100ml de actidione (músculo estéril); las muestras estériles se utilizaron en el análisis comparativo del efecto del crecimiento microbiano en la estabilidad del color.
- 2) 12.5 ml de una solución de SorK de las siguientes concentraciones: 2.5g/100 ml, 5g/100ml y 10 g/100 ml.

Estudios preliminares mostraron que la solución de antibióticos utilizada no afectaba la formación de MetMb en carne fresca (Ledward y col., 1977).

El extremo de la botella rociadora se mantuvo a 25 cm. de las muestras de carne; el rociado se realizó sobre todas las áreas expuestas dejándose escurrir durante 30 segundos.

4.3.1.2 Envasado

Se envasaron en dos tipos de películas de distinta permeabilidad: polietileno de baja densidad (espesor = 60 μ m, permeabilidad 8500 $\text{cm}^3 / \text{m}^2 \text{ atm día}$ a 23°C.) y EVA-SARAN-EVA (las características de esta película fueron descriptas en la Sec. 3.2.1.2). En todo momento se trató que el lapso transcurrido entre el corte, tratamiento y envasado fuese lo menor posible para evitar la conversión de la Mb.

Para el envasado se utilizó una envasadora Minidual MW 4880 (Schkolnik SAIC Buenos Aires) con un solo compartimiento a 4.5 mm Hg y termosellado.

4.3.1.3 Almacenamiento

Luego de envasadas las muestras se almacenaron en cámaras de aire estanco a 0°C y 4°C a oscuras. Las muestras envasadas en polietileno se colocaron de manera tal que las superficies expuestas estuvieran en contacto con aire para permitir la oxigenación.

Los tiempos de almacenamiento refrigerado se establecieron en base a períodos requeridos para que los recuentos microbianos aeróbicos totales alcanzaran un nivel de 10^7 UFC/cm² (t_{10^7}) para las muestras envasadas en polietileno y $10^{6.5}$ UFC/cm² ($t_{10^{6.5}}$) en el caso de EVA-SARAN-EVA (Zamora y Zaritzky, 1987a).

Durante el almacenamiento en condiciones aeróbicas se registró la evolución de la concentración de Mb, MbO₂ y MetMb sobre muestras envasadas en polietileno de manera de poder estudiar la influencia de la temperatura, tiempo y tratamiento con soluciones preservadoras en la evolución de los pigmentos.

En las condiciones experimentales descriptas, para carnes sin tratar de pH = 5.9 envasadas en polietileno el tiempo de almacenamiento fue 7 y 14 días a 4°C y 0°C respectivamente. En el caso de carne tratadas con SorK y a las mismas temperaturas, dichos períodos se extendían hasta 12 y 30 días.

Para estudiar el efecto del envasado al vacío en la capacidad de oxigenación de la Mb las muestras envasadas en EVA-SARAN-EVA y procesadas en la forma anteriormente descripta se al-

macenaron a las temperaturas antedichas durante:

- a) 14 y 30 días para muestras sin tratar
- b) 30 y 100 días para muestras tratadas con las soluciones preservadoras.

A lo largo del almacenamiento anaerobio las muestras se extrajeron de su envase y se mantuvieron en aire a 25°C durante 30 a 40 minutos de manera de permitir la oxigenación de la Mb, midiéndose la variación de los niveles de Mb, MbO₂ y MetMb.

4.3.1.4 Determinación de las concentraciones relativas de pigmentos musculares

La concentración relativa de pigmentos se determinó utilizando un espectrofotómetro VARIAN SUPERSCAN 3 equipado con accesorio para reflectancia difusa, los espectros de reflectancia se registraron entre 400 y 800 nm usando sulfato de bario como referencia.

Las muestras de carne se colocaron en portamuestras especiales con las fibras musculares paralelas a la superficie a ser analizada y se cubrieron con un vidrio óptico, (cuya absorbancia se consideró en cálculos posteriores) de manera que no quedara aire ocluido. El espesor de la muestra se seleccionó de manera de satisfacer los requerimientos para la medición de R_{∞} (R_{∞} es la reflectancia de una muestra cuyo espesor es lo suficientemente grande como para que un incremento de este no modifique el valor medio de la reflectancia)

Para determinar las concentraciones relativas de Mb, MbO₂ y MetMb se midió la reflectancia a longitudes de onda específicas: 473 nm, 525 nm, 572 nm, 580 nm, 630 nm y 780 nm utilizándose las

ecuaciones (22), (23) y (24) obtenidas por Bevilacqua y Zaritzky (1986) y explicadas en la sección 4.2.

4.3.1.5 Determinación del residuo de sorbato de potasio

El residuo de SorK se determinó por triplicado en muestras de 10 cm de diámetro y 1.5 cm de espesor mediante espectrofotometría ultravioleta luego de una extracción con éter etílico en medio ácido según el método de AOAC (1980). En las mediciones espectrofotométricas se utilizó un espectrofotómetro de doble haz UV-visible modelo UV-150 (Schimadzu Corp., Tokyo) determinándose la absorbancia a 250 nm. La concentración de SorK se controló a lo largo del almacenamiento y se expresó como ppm de ácido sórbico (SorH) por peso de muestra.

Para poder visualizar si la presencia del SorK producía interferencias en el espectro de reflectancia de los pigmentos se registró el espectro de absorción de una solución de 2 mg/g de Mb equina (Sigma Chem. Co. St. Louis, Missouri) y 5 g/100ml de SorK en solución Ringer (0.15M ClNa, 3mM ClK y 3mM Cl₂Ca) comparándolo con un espectro de Mb pura. Los resultados indicaron que el agregado de SorK no afectaba el espectro de reflectancia de los pigmentos musculares.

4.3.1.6 Análisis estadístico

Para estudiar el efecto de los tratamientos (soluciones de antibióticos y de distintas concentraciones de SorK) se realizó un diseño de bloques completos para cada temperatura de almacenamiento (0 y 4°C). Los datos experimentales se regresionaron

mediante los algoritmos de Marquardt (Draper & Smith, 1982) y Quasi-Newton (Wilkinson, 1986) con un programa de computadora, las curvas se compararon estadísticamente a través de una modificación del método de Neter y Wasserman (1974) (Apéndice 1) estableciendo la existencia de diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos.

4.3.2. Resultados y discusión

Las determinaciones del residuo de SorK en carne fueron: 340, 698 y 1325 ppm de SorH para soluciones de SorK de concentración 2.5, 5 y 10% respectivamente. No se detectaron diferencias significativas en el residuo de SorK entre las muestras de carne a lo largo del almacenamiento ($P < 0.05$).

4.3.2.1 Modificaciones de la concentración de Mb, MbO₂ y MetMb durante el almacenamiento aeróbico

Las Figs. 20 y 21 presentan la evolución de la concentración de los pigmentos durante el almacenamiento en polietileno a 0°C y 4°C respectivamente.

La forma de las curvas sugiere que la interconversión de pigmentos musculares responde a un modelo cinético complejo cuyo planteo requiere un análisis detallado de la información existente. Hood (1983) informó que el ciclo de color en la carne fresca es reversible para los tres pigmentos principales y especialmente para la interconversión de Mb y MbO₂.

Al ser expuesta al aire la Mb reducida reacciona rápidamente con el oxígeno dando un compuesto rojo brillante MbO₂. Este con-

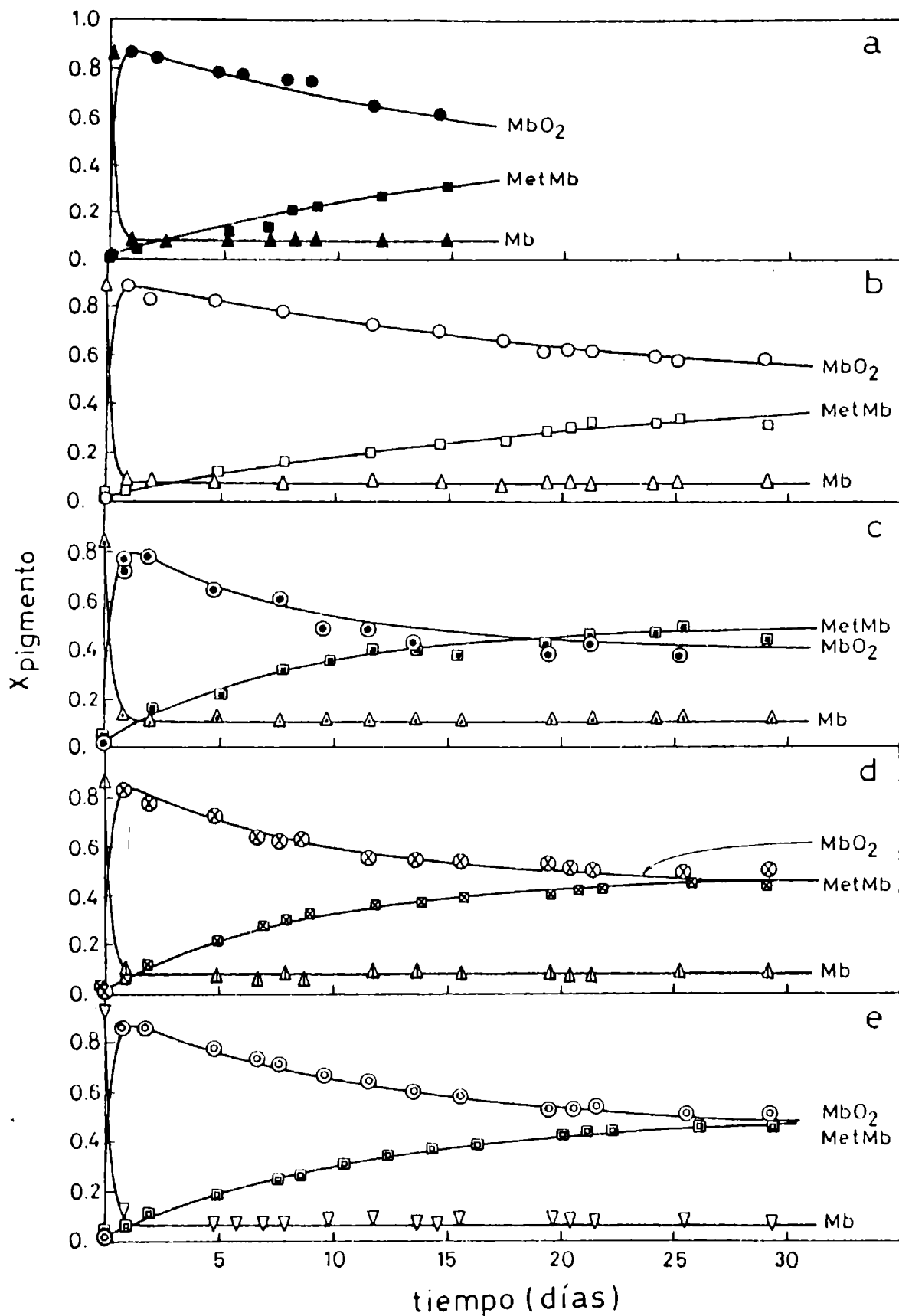


Fig. 20: Variaciones en las concentraciones relativas de pigmentos musculares durante el almacenamiento aerobico a 0°C (película de envase: polietileno). Cada punto corresponde al valor medio de 4 muestras, los errores relativos estaban dentro del 10 - 15%. (a) muestras sin tratar; (b) muestras estériles, (c) muestras tratadas con 340; (d) 698 y (e) 1325 ppm SorH. Las líneas llenas representan las concentraciones relativas predichas por el modelo cinético propuesto.

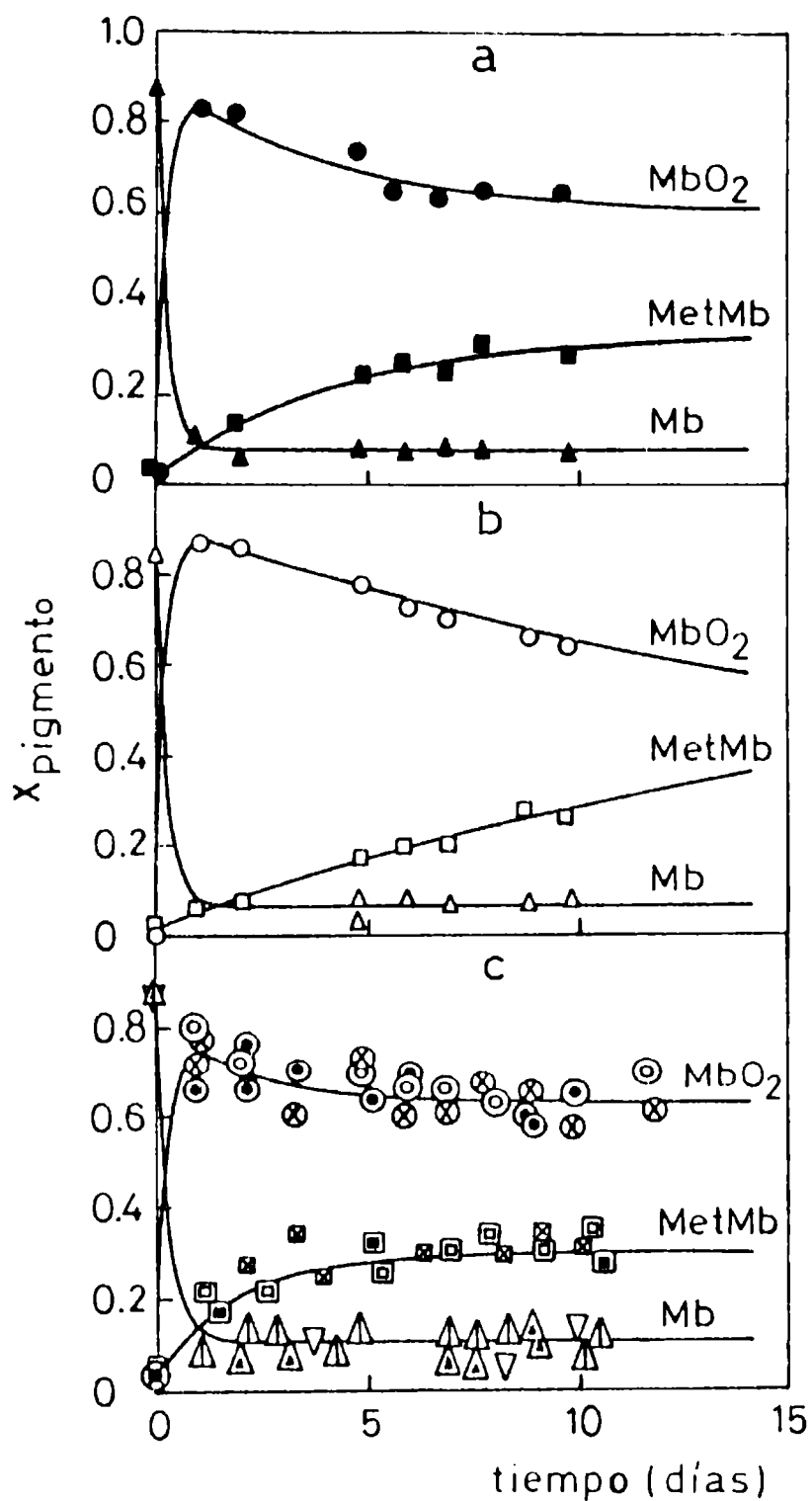


Fig. 21: Variaciones en las concentraciones relativas de pigmentos musculares durante el almacenamiento aeróbico a 4°C (película de envase: polietileno). Cada punto corresponde al valor medio de 3 muestras, los errores relativos estaban dentro del 10 - 15%. (a) muestras sin tratar; (b) muestras estériles, (c) muestras tratadas con (○□▲) 340, (⊗⊠▲) 688 y (⊙⊡▽) 1325 ppm SorH. Las líneas llenas representan las concentraciones relativas predichas por el modelo cinético propuesto.

plejo es estable en condiciones de altas concentraciones de oxígeno; cuando la presión parcial de oxígeno desciende por debajo de un determinado nivel se produce la desoxigenación parcial de la Mb y la resistencia de la mezcla Mb/MbO₂ a la oxidación disminuye en forma considerable (Livingston y Brown, 1981).

En literatura existen discrepancias acerca del mecanismo de formación de la MetMb; Fox (1968) informó que la interconversión de los pigmentos en presencia de oxígeno responde a un ciclo dinámico (Modelo 1), donde el oxígeno está asociándose y disociándose continuamente, no sabiéndose con exactitud si la oxidación del pigmento reducido se producía durante la asociación o disociación del oxígeno con el grupo hemo. Giddings y Markakis (1973) estudiaron la interacción de Mb y hemoglobina con oxígeno molecular y postularon un mecanismo de formación de MetMb con disociación de un radical hidroperóxido de la MbO₂ (Modelo 2). Otro camino para la autoxidación de la MbO₂ incluiría la reducción del oxígeno ligado a ión peróxido, uno de los electrones provendría del Fe²⁺ y el otro de un agente reductor presente en el sistema (Livingston y Brown, 1981). Ledward y col. (1971) sugirieron que la formación de MbO₂ y MetMb a partir de Mb correspondía a un sistema de reacciones simultáneas (Modelos 3 y 4). Brown y Mebine (1969) trabajando en soluciones a distintas presiones parciales de oxígeno presentaron un mecanismo para la autoxidación de MbO₂ que incluía un equilibrio entre Mb y MbO₂ y la formación irreversible de MetMb a partir de Mb (Modelo 4). Bevilacqua y Zaritzky (1986) consideraron que la autoxidación de la Mb durante el almacenamiento aeróbico de carne bovina procedía como una reacción irreversible con respecto a Mb no oxidada

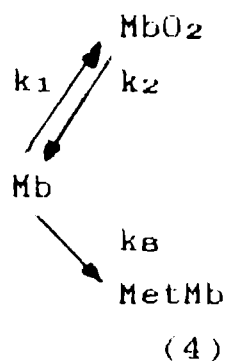
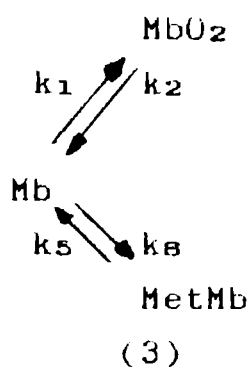
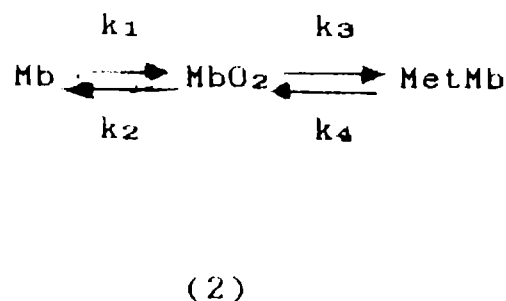
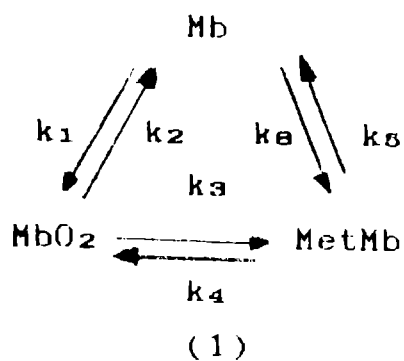
(Modelo 4). Livingston y Brown (1981) informaron que la desoxigenación de la Mb es un probable paso intermedio en el proceso de autoxidación debido a que la transferencia de un electrón del Fe^{2+} al oxígeno ligado para obtener el anión superóxido es termodinámicamente poco favorable (Modelos 3 y 4). O'Keefe y Hood (1982) informaron que la forma reducida del pigmento muscular se oxidaba con facilidad

Con respecto a la reversibilidad de la reacción de formación de MetMb, debe considerarse que la acumulación de dicho pigmento en la superficie cárnica depende de la velocidad de autoxidación de la Mb y de la efectividad de uno o varios sistemas enzimáticos para reducir la MetMb producida (Giddings, 1974; Hood, 1983). La existencia de un sistema enzimático reductor presente naturalmente en el músculo fue reconocida por Dean y Ball (1960) que informaron que la MetMb formada en la carne era reducida durante el almacenamiento aeróbico. Ledward (1970, 1971) y Ledward y col. (1977) indicaron que la autoxidación de la mioglobina es pseudo-reversible y que difería marcadamente de un músculo a otro debido a variaciones en la actividad del sistema enzimático reductor presente naturalmente en el tejido. Numerosos autores estudiaron posibles pasos enzimáticos para la reducción aeróbica de la MetMb (Cutaia y Ordal, 1964; Watts y col., 1966; Saleh y Watts, 1968). Hagler y col. (1979) señalaron la presencia de una metamioglobina reductasa específica en músculo cardíaco bovino capaz de reducir rápida y directamente la MetMb in vitro.

Estudios realizados por O'Keefe y Hood (1982) indican que la reducción de la metamioglobina era posible tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas. Watts y col. (1966), Van der Oord (1974) y O'Keefe y Hood (1982) informaron que la reducción

de metanioglobina se produciría una vez que el oxígeno se hubiese consumido totalmente.

Teniendo en cuenta los antecedentes en literatura se postularon los siguientes mecanismos:



Como los modelos (2), (3) y (4) son casos especiales del modelo (1) por lo tanto la descripción de las ecuaciones cinéticas se desarrolló únicamente para este último mecanismo. Para resolver el esquema propuesto se planteó una cinética de primer orden obteniéndose los siguientes balances de materia:

$$\frac{dx_{\text{Mb}}}{dt} = k_2 x_{\text{MbO}_2} - (k_1 + k_3) x_{\text{Mb}} + k_4 x_{\text{MetMb}} \quad (25)$$

$$\frac{dx_{\text{MbO}_2}}{dt} = k_1 x_{\text{Mb}} - (k_2 + k_3) x_{\text{MbO}_2} + k_4 x_{\text{MetMb}} \quad (26)$$

$$\frac{dx_{\text{MetMb}}}{dt} = k_3 x_{\text{Mb}} + k_2 x_{\text{MbO}_2} - (k_1 + k_4) x_{\text{MetMb}} \quad (27)$$

con las constantes de equilibrio:

$$K_1 = k_1/k_2 = MbO_{2eq}/Mb_{eq}; K_2 = k_3/k_4 = MetMb_{eq}/MbO_{2eq}$$

$$\text{y } K_3 = k_5/k_6 = Mb_{eq}/MetMb_{eq} \quad (28)$$

Considerando que x es la concentración relativa de cada pigmento a un dado tiempo se cumple que:

$$xMb + xMbO_2 + xMetMb = 1 \quad (29)$$

por lo tanto el número de ecuaciones puede ser reducido.

Los balances de materia correspondientes a los restantes esquemas propuestos pueden derivarse de las Ecs. (25) a (27) considerando nulas k_5 y k_6 para el modelo (2), k_3 y k_4 para el mecanismo (3) y k_3 , k_4 y k_5 en el caso del modelo (4). La integración de las ecuaciones diferenciales condujo a una expresión general (Aris, 1965) válida para cada pigmento del tipo:

$$x_i = A_{11} e^{(-L_1 t)} + A_{12} e^{(-L_2 t)} + A_{1eq} \quad (30)$$

donde A_{11} y A_{12} son las amplitudes, L_1 y L_2 las constantes de tiempo y A_{1eq} las concentraciones de equilibrio del componente i . El desarrollo matemático de la solución obtenida se presenta en el Apéndice 2.

L_1 y L_2 son las raíces de la siguiente ecuación de segundo orden:

$$L^2 + QL + M = 0 \quad (31)$$

$$\text{donde } Q = k_1 (1 + 1/K_1) + k_2 (1 + 1/K_2) + k_3 (1 + 1/K_3) \quad (32)$$

$$\text{y } M = k_2 k_3 (1 + 1/K_3 + 1/K_2 K_3) + k_1 k_3 (1 + 1/K_1 + 1/K_1 K_3) + k_1 k_2 (1 + 1/K_2 + 1/K_1 K_2) \quad (33)$$

Los datos experimentales de concentración de pigmento vs. tiempo de almacenamiento fueron satisfactoriamente ajustados a la Ec. (30). La determinación de las amplitudes y constantes de tiempo y sus respectivas desviaciones standard se realizaron mediante el algoritmo de Marquardt (Draper y Smith, 1981).

A partir de las ecuaciones (34), (35) y (36) se calcularon las constantes cinéticas correspondientes a la producción de MbO₂ y MetMb:

$$L_1 + L_2 = Q \quad (34)$$

$$L_1 - L_2 = (Q^2 - 4 M)^{1/2} \quad (35)$$

$$-L_1 A_{11} - L_1 A_{21} = dx_1/dt \quad \text{a } t = 0 \quad (36)$$

La elección del modelo se basó en la naturaleza fisicoquímica de los parámetros estimados. En un modelo mecanístico los parámetros están sujetos a determinadas restricciones: tanto las constantes cinéticas como las de equilibrio deben ser positivas y mostrar un comportamiento tipo Arrhenius con la temperatura, las energías de activación deben ser también positivas (Froment y Hostein, 1981).

Tomando en cuenta lo anteriormente expuesto los esquemas 1 y 2 fueron rechazados, el modelo 3 representaba adecuadamente la

interconversión de los pigmentos en músculo sin tratar almacenado a 4°C y el modelo 4 resultó apropiado para describir la formación de derivados mioglobínicos en carne sin tratar almacenada a 0°C, ya que en este caso no se alcanzaron condiciones de equilibrio.

La Tabla 9 presenta los valores de L1 y L2 y sus correspondientes errores pertenecientes a los modelos 3 y 4 a 0° y 4°C.

TABLA 9

Constantes de tiempo L1,2 (días⁻¹) correspondientes a la interconversión de pigmentos durante el almacenamiento de muestras envasadas en polietileno

	0°C		4°C	
	L1	L2	L1	L2
Sin Tratar	5.130 (0.500)	0.050 (0.012)	4.165 (0.844)	0.241 (0.030)
M. esteril	4.818 (0.540)	0.040 (0.001)	4.010 (0.474)	0.052 (0.015)
340 ppm	3.230 (0.480)	0.121 (0.013)	3.234 (0.272)	0.740 (0.074)
698 "	3.860 (0.529)	0.113 (0.008)	3.428 (0.233)	0.571 (0.075)
1325 "	3.780 (0.641)	0.086 (0.003)	4.062 (0.323)	0.486 (0.062)

Los valores entre paréntesis representan las desviaciones standard

La Tabla 10 muestra las constantes cinéticas calculadas correspondientes a la formación de MbO₂ y MetMb. De ella puede observarse que los tratamientos con distintas concentraciones de SorK produjeron un descenso de k₁. A 0°C no se observaron cambios significativos en los valores de k₂ mientras que a 4°C aumentó considerablemente; k₈ creció significativamente siendo este efecto más importante con el aumento de la temperatura. Esto implica una disminución de la estabilidad del complejo MbO₂ con el consiguiente aumento en la velocidad de formación de MetMb. En todos los casos los valores de k₅ fueron muy bajos indicando una baja actividad del sistema enzimático reductor del músculo.

TABLA 10

Constantes cinéticas (días⁻¹) para los modelos (3) y (4) durante el almacenamiento aeróbico

	0°C				4°C			
	k ₁	k ₂	k ₅	k ₈	k ₁	k ₂	k ₅	k ₈
Sin Tratar	4.420	0.730		0.030	3.550	0.777	0.018	0.079
M. estéril	4.193	0.644	0.003	0.021	3.512	0.514	0.003	0.036
340 ppm	2.675	0.620	0.009	0.056	2.584	1.162	0.056	0.227
698 "	3.382	0.635	0.009	0.053	2.732	1.099	0.041	0.168
1325 "	3.333	0.501	0.005	0.041	3.392	1.029	0.038	0.137

Existen otros criterios además del microbiano ya mencionado respecto de la vida útil de las carnes refrigeradas. Desde el punto de vista de la coloración superficial Van den Oord y Westdorp (1971b) afirmaron que aproximadamente a $x \text{ MetMb} = 0.5$ la

carne resulta inaceptable para la mayor parte de los consumidores. Hood y Riordan (1973) encontraron que a niveles de MetMb del 0.2 la relación de ventas de carne decolorada a roja brillante es aproximadamente 1:2.

Considerando que en envasado aeróbico de carnes sin tratar al alcanzar t_{10^7} (7 y 14 días a 4°C y 0°C respectivamente) el valor de xMetMb es aproximadamente 0.3; se utilizó dicho nivel como criterio de aceptabilidad. Si se comparan tanto a 0°C como a 4°C las curvas de formación de MetMb correspondientes a carnes sin tratar y con antibióticos se observa que las muestras estériles tienen mejor coloración, extendiéndose los períodos para alcanzar xMetMb = 0.3 a 10 y 20 días a 4°C y 0°C respectivamente. Este resultado estaría vinculado al efecto del crecimiento microbiano en la acumulación de MetMb ya que los recuentos en carne sin tratar para esos tiempos de almacenamiento son del orden de 10^8 UFC/cm² (Zamora y Zaritzky, 1987a).

En el caso de muestras tratadas con SorK, si bien los valores de t_{10^7} son mayores, lo cual implica una mayor vida útil desde el punto de vista microbiológico, los tiempos para alcanzar xMetMb = 0.3 decrecen resultando de 4 a 6 días a 4°C y 8 a 10 días a 0°C para las concentraciones de SorK ensayadas. Este fenómeno podría explicarse tomando en cuenta que, a pesar de que el SorK tiene efecto antimicrobiano, lo que llevaría a un mejoramiento del color, su acción en el sistema enzimático reductor del músculo (Sofos y Busta, 1983) afectarían la estabilidad de la MbO₂ formada.

Los resultados obtenidos muestran que para el almacenamiento aeróbico de carne bovina la utilización de este preservador resulta perjudicial ya que a pesar de que disminuye la velocidad

de crecimiento microbiano, el deterioro del color se acelera respecto al de los músculos sin tratar.

4.3.2.2 Efecto del tiempo de almacenamiento al vacío en la capacidad de oxigenación

El almacenamiento al vacío prolonga la vida útil de la carne fresca permitiendo una mayor flexibilidad en la comercialización del producto. Las Figs. 22 y 23 presentan la evolución de la concentración de MbO₂ durante la oxigenación de las muestras envasadas en EVA-SARAN-EVA para distintos períodos de almacenamiento previo al vacío (tps) a 0°C y 4°C respectivamente.

Debido a la afinidad de la Mb por el oxígeno, cuando se expone al aire, la MbO₂ se forma rápidamente (Hood, 1983); la reacción de oxigenación depende de la penetración de oxígeno en el tejido, la cual está gobernada por distintos factores tales como: temperatura, concentración de oxígeno en la superficie del tejido, crecimiento bacteriano, consumo de oxígeno por parte del músculo y coeficiente de difusión del oxígeno (Atkinson y Follet, 1973; Livingston y Brown, 1981).

Las curvas de oxigenación se compararon estadísticamente utilizando el método de Neter y Wasserman (1974) de manera de poder determinar la grado de significación de los tratamientos. El efecto del aumento del tps a 0°C y 4°C fue significativo ($P < 0.05$) en todos los casos conduciendo a menores niveles finales de MbO₂. Esto puede atribuirse a que durante la maduración disminuye la actividad del sistema enzimático reductor presente en la carne (Giddings, 1974). Giddings (1974) y Ledward (1985) informaron acerca de la pérdida de actividad del sistema enzimático reductor

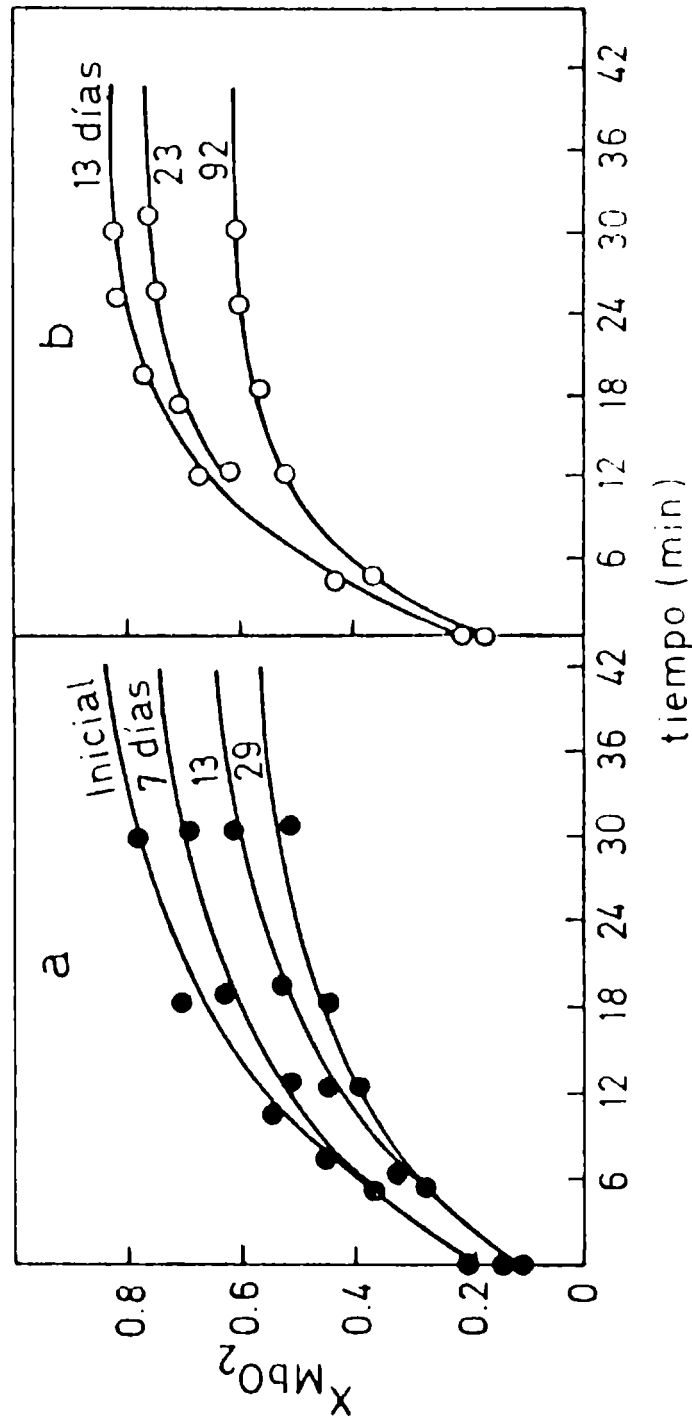
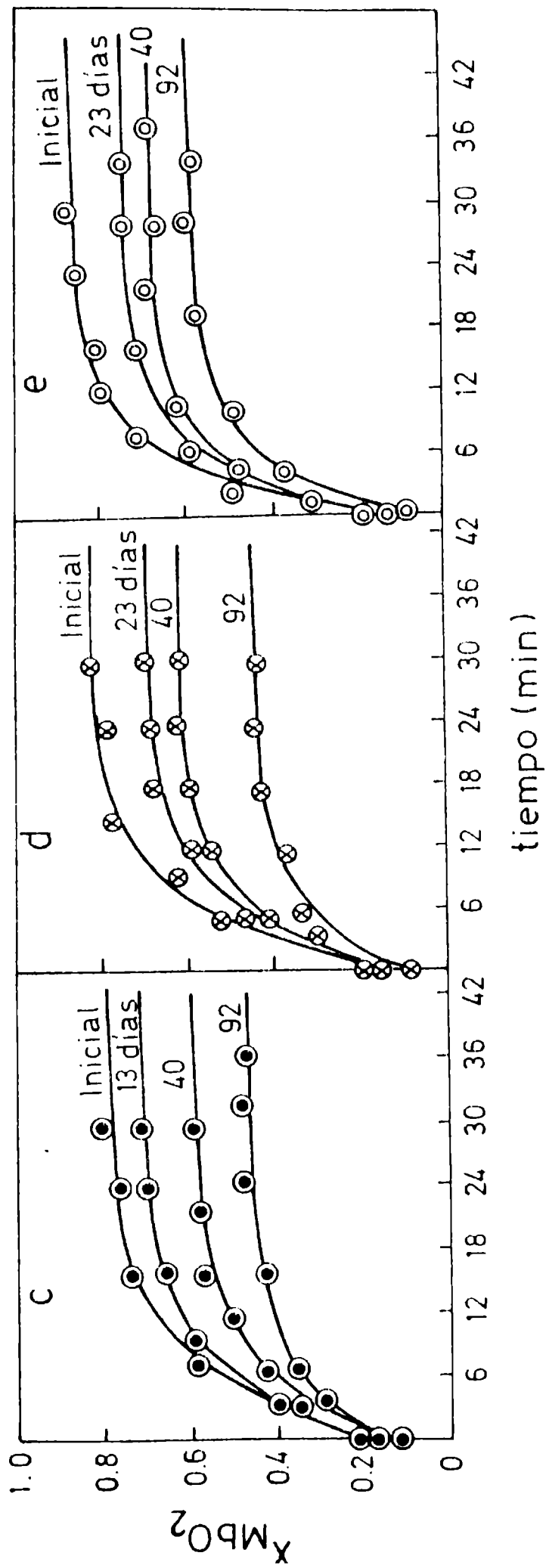


Fig. 22: Efecto del tiempo previo de almaceña
 miento al vacío (tps) en la velocidad de
 oxigenación. Condiciones de almacenamiento:
 película de envase EVA/SARAN/EVA, temperatu
 ra de almacenamiento $T_a = 0^\circ\text{C}$, temperatura
 de oxigenación = 25°C . Cada punto correspon
 de al valor medio de 4 muestras, los errores
 relativos se encuentran entre el 10 y 15%.
 Los valores de tps están indicados en
 cada curva. (a) muestras sin tratar;
 (b) muestras estériles, (c) muestras
 tratadas con 340; (d) 698 y (e) 1325 ppm SorH.
 Las líneas llenas representan las
 concentraciones relativas predichas por el
 modelo cinético propuesto.

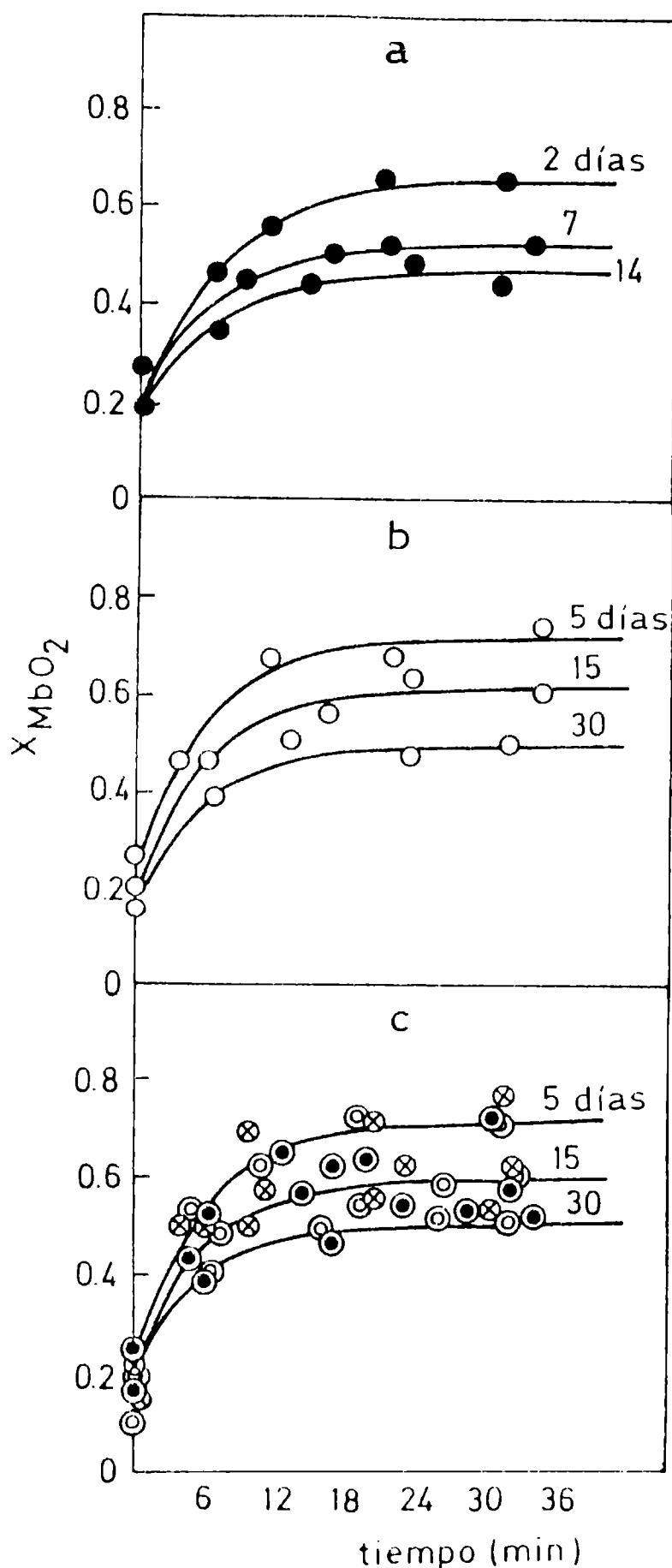


Fig. 23: Efecto del tiempo previo de almacenamiento al vacío (tps) en la velocidad de oxigenación. Condiciones de almacenamiento: película de envase EVA/SARAN/EVA, temperatura de almacenamiento $T_a = 4^\circ\text{C}$, temperatura de oxigenación $= 25^\circ\text{C}$. Cada punto corresponde al valor medio de 4 muestras, los errores relativos se encuentran entre el 10 y 15%. Los valores de tps están indicados en cada curva. (a) muestras sin tratar; (b) muestras estériles, (c) muestras tratadas con (●) 340; (⊗) 698 y (⊙) 1325 ppm SorH. Las líneas llenas representan las concentraciones relativas predichas por el modelo cinético propuesto.

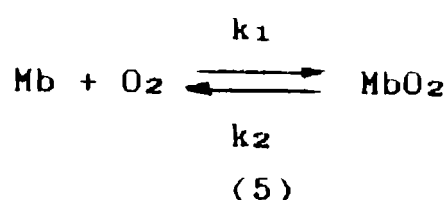
y lo atribuyeron a una combinación de factores que incluían el descenso del pH tisular, agotamiento de sustratos y cofactores necesarios y pérdida de la integridad estructural y propiedades funcionales de las mitocondrias (Giddings, 1974) favoreciendo un descenso de la estabilidad de la MbO₂.

Al comparar las curvas correspondientes a músculo estéril y sin tratar a iguales valores de tps, el primero presentó los mayores valores finales de concentración de MbO₂. Esto indicaría que la contaminación microbiana constituiría un factor adicional al tps en la disminución de la capacidad de oxigenación.

La diferencia entre las curvas de oxigenación correspondientes a curvas tratadas con SorK y sin tratar a las dos temperaturas de trabajo era significativa ($P < 0.05$). Así a 4°C y valores de tps = 7 días en carnes sin tratar y de 18 días en carnes tratadas independientemente del residuo de SorK presente se lograba un mismo porcentaje de MbO₂ ($xMbO_2 = 0.6$). A 0°C dicho nivel de MbO₂ se lograba con tps = 13 días (carne sin tratar), 34, 40 y 82 días para residuos de SorK de 340, 698 y 1325 ppm respectivamente. A 0°C las diferencias entre los valores finales de MbO₂ de muestras tratadas con distintos niveles de SorK eran significativas ($P < 0.05$) mientras que a 4°C y para los distintos tps ensayados no se observó un efecto semejante. Estas variaciones de comportamiento pueden explicarse teniendo en cuenta que el efecto del SorK en los microorganismos es más notorio a 0°C; a esta temperatura el tiempo necesario para alcanzar $10^{8.5}$ UFC/cm² es 30 días en carne sin tratar mientras que estos períodos se extienden a 50, 76 y 100 días para muestras con residuos de SorK de 340, 698 y 1325 ppm de SorH. A 4°C los valores de $t_{10^{8.5}}$ fueron: 12 días para músculo sin tratar y 15 a

20 días para muestras con SorK (Zamora, 1985). Puede observarse que el rango de $t_{10^{0.5}}$ es mayor a 0°C que a 4°C.

El proceso de oxigenación puede interpretarse como una reacción reversible de primer orden (George y Stratmann, 1952; Brown y Mebine, 1969) según:



$$K_1 = k_1/k_2 \quad (37)$$

Donde k_1 y k_2 son las constantes cinéticas directa e inversa para el proceso y K_1 la constante de equilibrio de la reacción, relacionada con la capacidad de oxigenación de la carne. Este mecanismo indica que la formación de MbO₂ depende de la concentración de Mb y de la presión parcial de oxígeno en el tejido ($p\text{O}_2$). Ledward (1984) informó que para $p\text{O}_2$ mayores de 30 mm Hg la velocidad de reacción era independiente de la presión parcial de oxígeno; George y Stratmann (1952) trabajando con soluciones de pigmentos informaron que para $p\text{O}_2$ mayores que 20 mm Hg, puede considerarse que K_1 es independiente de $p\text{O}_2$. Teniendo en cuenta esto se consideró que la cinética de la reacción de oxigenación podía ser considerada como de pseudo primer orden con respecto a Mb. Tomando $x_{\text{MetMb}} = 0$, se obtuvo la siguiente expresión integrada:

$$-\ln(x_{\text{Mb}} - x_{\infty\text{Mb}})/(x_{0\text{Mb}} - x_{\infty\text{Mb}}) = ((K_1 + 1) k_1 t)/K_1 \quad (38)$$

donde x_{Mb} = concentración relativa de Mb al tiempo t

$x_{0\text{Mb}}$ = concentración relativa inicial de Mb

x_{eMb} = concentración relativa en el equilibrio.

t = tiempo de oxigenación

La tabla 11 presenta las constantes cinéticas calculadas para los distintos tps y temperaturas de almacenamiento.

TABLA 11

Constantes cinéticas (min^{-1}) correspondientes el proceso de oxigenación de la Mb para distintos tiempos de almacenamiento al vacío previo (tps) en días.

	tps	k_1	k_2	tps	k_1	k_2
	0°C			4°C		
Sin Tratar	0	0.061	0.003	2	0.119	0.028
	7	0.056	0.011	7	0.106	0.041
	13	0.052	0.015	14	0.075	0.072
	29	0.041	0.026			
Músculo estéril	13	0.093	0.011	5	0.163	0.015
	23	0.085	0.019	15	0.149	0.029
	64	0.079	0.025	30	0.099	0.079
	98	0.072	0.032			
SorK 340 ppm	1	0.131	0.018	5	0.162	0.038
	13	0.117	0.032	18	0.140	0.060
	34	0.104	0.045	29	0.102	0.098
	98	0.076	0.073			
SorK 698 ppm	1	0.146	0.016	5	0.181	0.036
	13	0.134	0.029	18	0.159	0.056
	23	0.126	0.036	29	0.115	0.102
	40	0.112	0.050			
SorK 1390 ppm	92	0.084	0.078			
	1	0.181	0.015	5	0.213	0.028
	13	0.168	0.028	18	0.183	0.058
	23	0.161	0.035	29	0.131	0.109
	40	0.140	0.056			
	92	0.118	0.078			

Coincidentemente con las Figs. 22 y 23, en todos los casos a medida que aumenta tps disminuye k_1 y aumenta k_2 , es decir decrece la estabilidad del complejo MbO₂ lo que se refleja en la disminución de la constante de equilibrio (K_1).

Las Figs. 24(a y b) muestran la variación de K_1 con el tiempo de almacenamiento previo para los distintos tratamientos a 0°C y 4°C respectivamente. A residuos de SorK crecientes y para las dos temperaturas analizadas, el comportamiento de K_1 con tps correspondiente a muestras tratadas con SorK tendía a asemejarse al de músculo estéril.

A partir de los resultados obtenidos se observó que el empleo de soluciones de SorK en carne bovina envasada al vacío permite prolongar la vida útil desde el punto de vista microbiológico sin afectar en forma apreciable la capacidad de oxigenación.

4.4 Conclusiones

Se estableció un modelo cinético que permitió representar en forma adecuada el comportamiento de los pigmentos durante los procesos de oxidación y oxigenación y determinar el efecto del SorK en el proceso de interconversión.

El uso de SorK en carnes envasadas en polietileno resultó perjudicial desde el punto de vista de la coloración superficial ya que a pesar de que la carne se mantiene microbiológicamente apta ($N < 10^7$ UFC/cm²) se acelera la formación de MetMb.

En el caso de utilizar almacenamiento al vacío, el SorK prolonga la vida útil del producto tanto desde el punto de vista

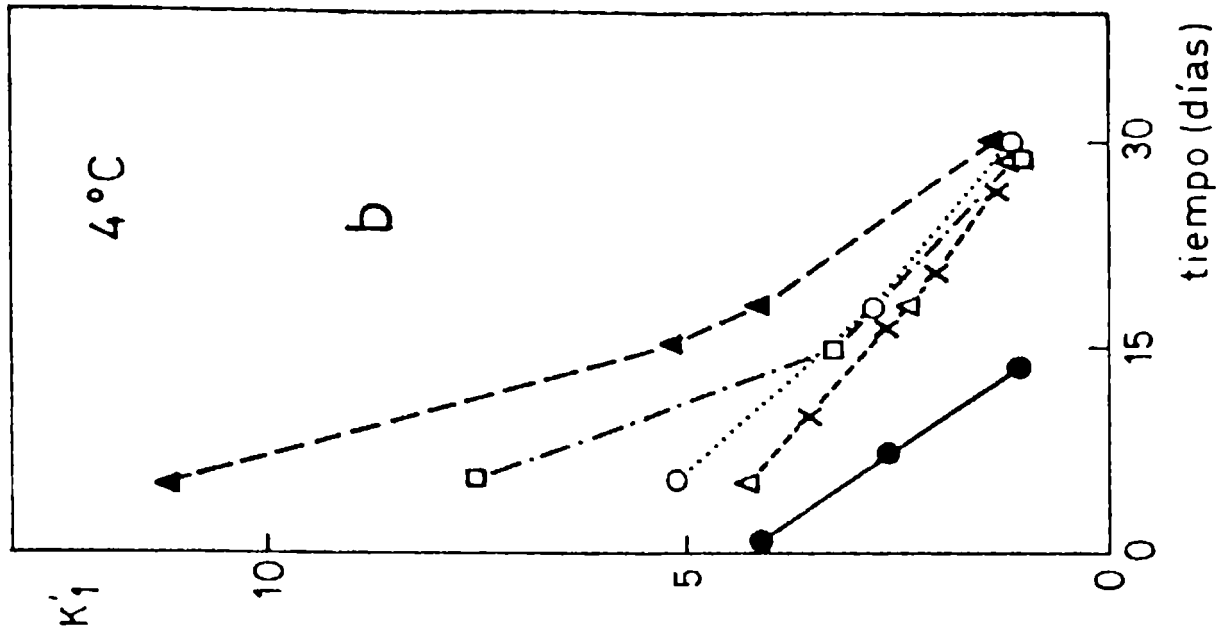
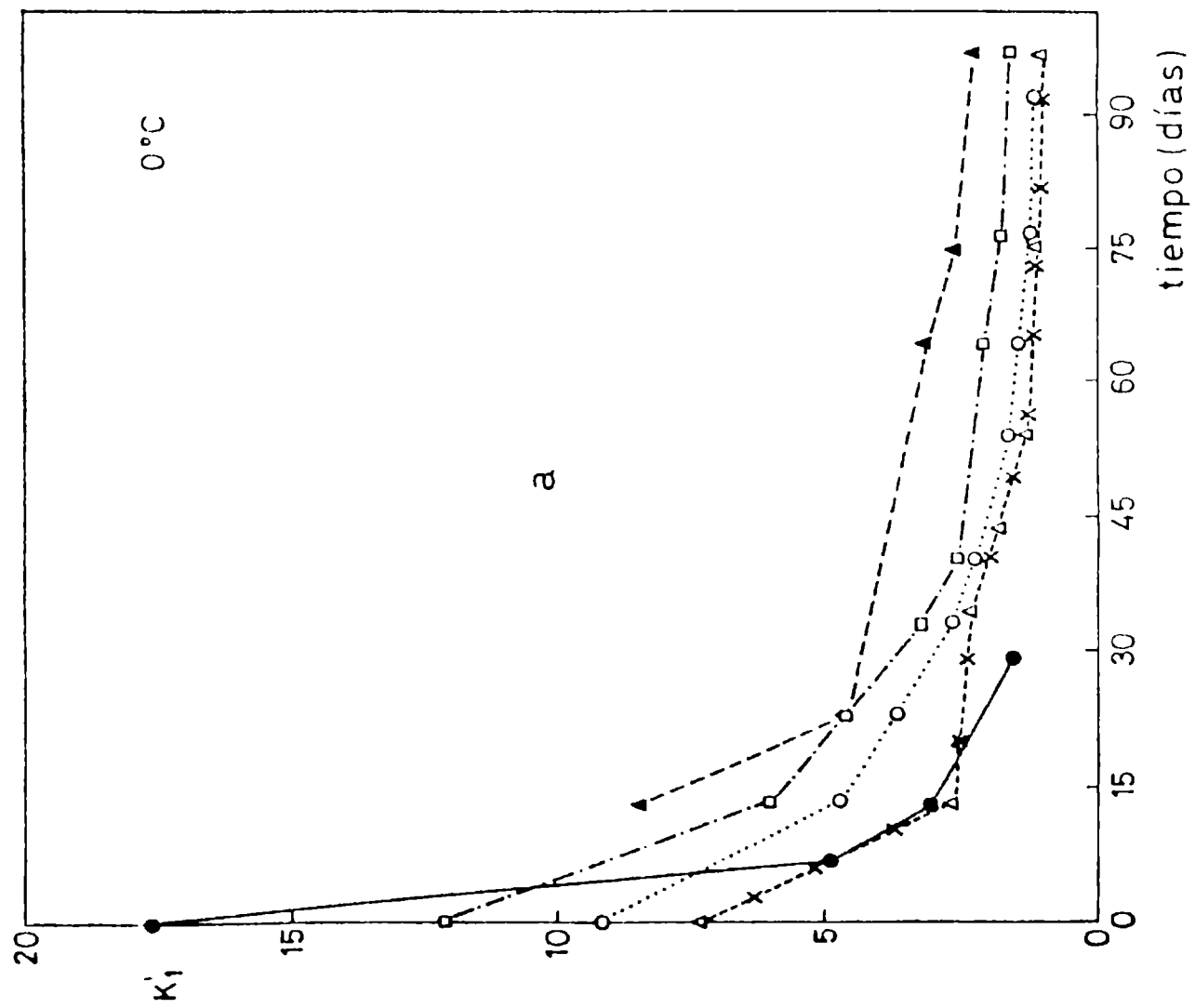


Fig. 24: Efecto del tiempo previo de almacenamiento al vacío (tps) en la constante de oxigenación K_j a: (a) 0°C y (b) 4°C. (●) muestras sin tratar, (▲) esterilizadas, (Δ) 340, (○) 690, (□) 1325 ppm SO_2H_2 .

microbiológico como de la estabilidad del color ya que no afecta la capacidad de oxigenación del tejido, obteniéndose apreciables ventajas con respecto a una mejora en la calidad del producto y mayor vida útil con el consiguiente aumento en el tiempo de comercialización.

CAPTULO 5

EFECTO DE LA CONGELACION Y
ALMACENAMIENTO CONGELADO EN LA
COLORACION SUPERFICIAL DE CARNE BOVINA
ENVASADA EN PELICULAS DE DISTINTA
PERMEABILIDAD GASEOSA

5.1 Introducción

Uno de los problemas más importantes en la comercialización de carne congelada es su coloración superficial (Taylor, 1984); durante el proceso de congelación, almacenamiento congelado y posterior exposición para la venta la carne bovina envasada en películas de alta permeabilidad gaseosa sufre alteraciones indeseables en su aspecto que motivan su rechazo por parte del consumidor.

La congelación parcial es una técnica de preservación utilizada con creciente éxito en la conservación de pescado (Uchiyama, 1979; Gibbard y col., 1981). Este método consiste en elevar las temperaturas de congelación y almacenamiento a valores entre -2 y -8°C . Los resultados obtenidos por distintos investigadores (Uchiyama, 1979; Gibbard, y col., 1981; Alemán y col. 1982) indicaron que el pescado preservado en estas condiciones no disminuía su calidad y que esta técnica resulta altamente recomendable debido a que permite además un considerable ahorro de energía (Alemán y col. 1982).

Los objetivos del presente estudio fueron:

- Analizar el efecto de la velocidad de congelación, descongelación y temperatura final de congelación en los niveles de Mb, MbO₂ y MetMb en muestras envasadas en películas de alta permeabilidad gaseosa.
- Determinar el efecto del tiempo y temperatura de almacenamiento congelado en las concentraciones relativas de pigmentos musculares de carne envasada en películas de distinta permeabilidad gaseosa (polietileno y EVA/SARAN/EVA).
- Desarrollar modelos cinéticos que representen el comportamiento

de los pigmentos durante los procesos de oxigenación y oxidación.

5.2 Materiales y métodos utilizados

5.2.1 Obtención de muestras y envasado

Tanto en la obtención de las muestras como en el envasado se procedió de igual forma que en el capítulo anterior, sección 4.3.1.1 y 4.3.1.2 sin agregado de preservadores.

5.2.2 Congelación y descongelación de las muestras

Las muestras envasadas se congelaron en un congelador a placas a velocidad y temperatura final controladas utilizando termocuplas de cobre-constantan conectadas a un Data Logger modelo 2240-C (John Fluke M. Fg. Co., Mountlake Terrace, WA). Las velocidades de congelación y descongelación se expresaron en términos de los tiempos característicos t_{70} y t_{7d} , explicados en la Sec. 3.2.1.3.

En el caso de muestras parcialmente congeladas la temperatura final de congelación (T_f) fue -5°C , por lo tanto las velocidades de congelación y descongelación se expresaron como t_{50} y t_{5d} respectivamente siendo t_{50} el tiempo necesario para que la temperatura cambie de -5°C a -1°C y t_{5d} el lapso transcurrido para el proceso inverso.

5.2.3 Estudio del efecto de la velocidad de congelación y descongelación

Siendo el color una propiedad superficial se seleccionaron para las muestras velocidades de congelación y descongelación típicas de la superficie externa de carnes procesadas en condiciones industriales.

Para estudiar la acción de la velocidad de congelación y descongelación sobre las concentraciones relativas de pigmentos musculares se utilizaron muestras envasadas en polietileno y congeladas hasta $T_f = -25^\circ\text{C}$ con: $t_{7c} = 27$ y 5 min, representativas del borde de piezas cárneas congeladas, y descongeladas a $t_{7d} = 36$ min (12hs. a 4°C) y 1 min (1h en baño de agua a 25°C). Las variaciones en la velocidad de congelación se lograron interponiendo láminas de acrílico de espesor variable entre las muestras y las placas del congelador.

Los tiempos de congelación superficial utilizados (t_{7c} entre 5 y 27 min.) son representativos del borde de piezas cárneas de diferente tamaño congeladas unidireccionalmente cubriendo un rango de coeficientes de transferencia calórica (h) característicos del procesamiento industrial.

Si se determina los valores adimensionales de tiempo de congelación (τ_{07}) para valores de t_{7c} entre 5 y 27 min.

$$\tau_{07} = \alpha_0 \tau_{07} / L^2 \quad (39)$$

donde α_0 es la difusividad térmica de la carne bovina sin congelar ($\alpha_0 = 1.258 \cdot 10^{-7} \text{ m}^2/\text{seg}$) y se consideran valores de L entre 1.5 y 10 cm, siendo L el semiespesor de la pieza cárnea para congelación

desde ambas caras o el espesor total para congelaciones desde una sola de las caras, resulta que los valores de $\tau_{0.7}$ se hallan comprendidos entre 1 y $3.7 \cdot 10^{-3}$.

De acuerdo a la Fig. 25 (Zaritzky y col. 1983) y a datos informados por Mascheroni y Calvelo (1980), este rango de $\tau_{0.7}$ corresponde a valores de Biot entre 1 y 10 ($Bi = h L/k_0$), variando las temperaturas iniciales entre 7 y 20°C y las temperaturas del medio refrigerante entre -25 y -40°C .

A partir del Bi se puede calcular los correspondientes valores de h , considerando que k_0 representa la conductividad térmica de la carne sin congelar ($k_0 = 0.464 \text{ W/m}^2 \text{ }^\circ\text{C}$). Los valores obtenidos para L entre 0.015 y 0.10 m y $Bi = 1$ se encontraban en un rango entre: 30.93 y $4.64 \text{ W/m}^2 \text{ }^\circ\text{C}$. En el caso de $Bi = 10$ y para el mismo intervalo de L , el valor de h resultó entre 309.3 y $46.4 \text{ W/m}^2 \text{ }^\circ\text{C}$.

Este rango de h es muy amplio y corresponde a condiciones de procesamiento industrial muy diversas. Salvadori y col. (1987), informaron valores de h entre 8.7 y $36 \text{ W/m}^2 \text{ }^\circ\text{C}$, para el caso de carne con y sin película protectora, congelada en túnel con velocidad de aire entre 1 y 6 m/seg; Para congelación en placas utilizando cartón corrugado como material de envasado, los mismos autores calcularon valores de $h = 11.2 \text{ W/m}^2 \text{ }^\circ\text{C}$, mientras que para carne envasada en papel de aluminio de 0.007 mm de espesor, $h = 370 \text{ W/m}^2 \text{ }^\circ\text{C}$.

Con respecto a las velocidades de descongelación ($t_{7.5} = 36$ y 1 min), éstas correspondían a típicas situaciones de descongelación del borde de la carne en cámaras refrigeradas a 4°C y en baño de agua fría.

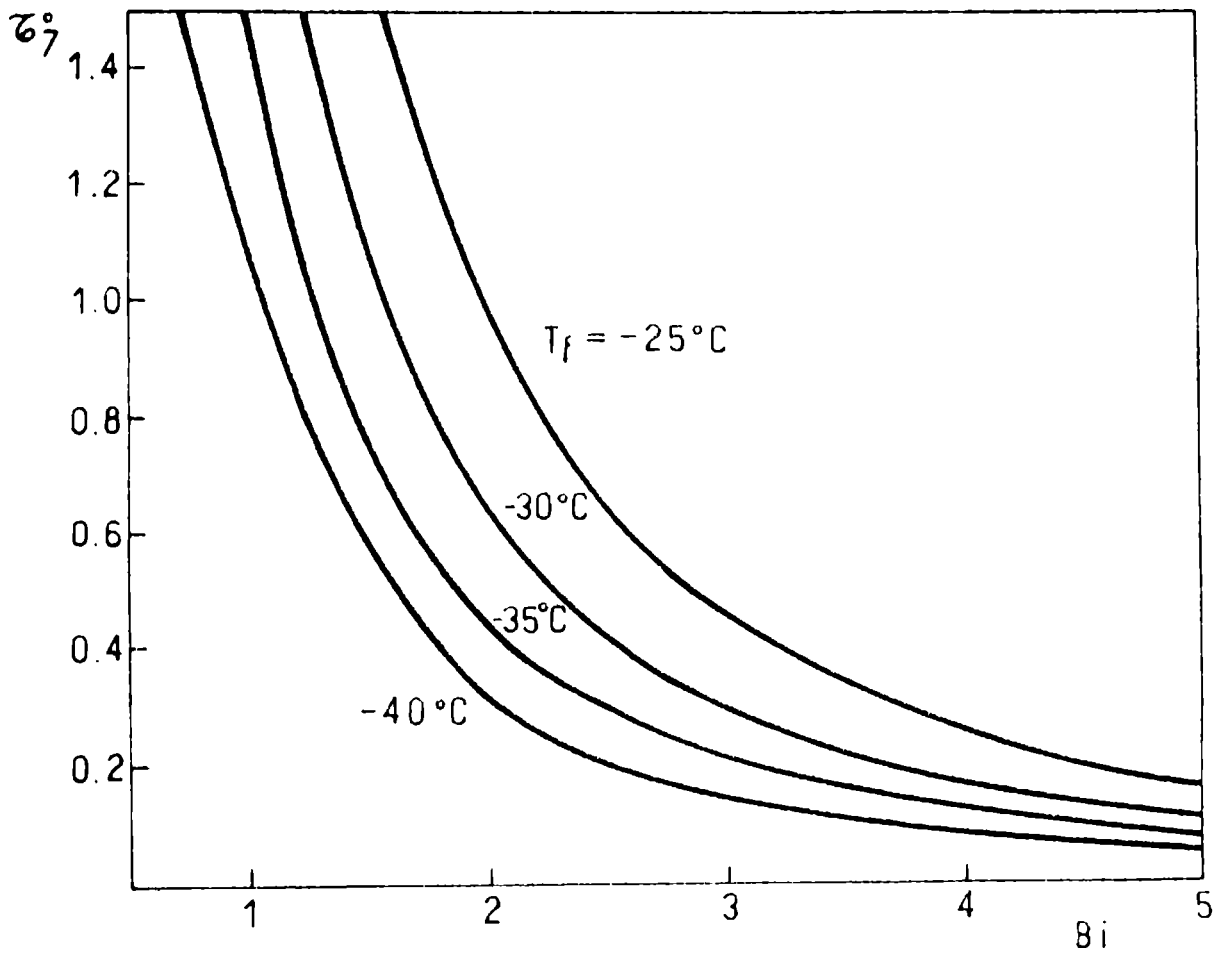


Fig. 25: Variación del tiempo característico de congelación adimensional evaluado en la superficie (τ_7) con la temperatura del medio refrigerante (T_f) y con el número de Biot para $T_{inicial} = 25^\circ\text{C}$.

5.2.4 Estudio del efecto de la temperatura final de congelación

La influencia de la temperatura final de congelación se estudió sobre muestras seccionadas en la forma anteriormente expuesta y envasadas en polietileno, congeladas con velocidad $t_{70} = 3$ min. hasta temperaturas finales comprendidas en un rango entre -5°C y -70°C . Posteriormente se descongelaron durante 12 horas a 4°C ($t_{74} = 36$ min) determinándose la concentración relativa de pigmentos musculares.

5.2.5 Influencia de la temperatura de almacenamiento y permeabilidad de la película de envase

Para analizar la evolución de las concentraciones relativas de Mb, MbO₂ y MetMb durante el almacenamiento congelado se utilizaron muestras provenientes de 11 animales envasadas en las dos películas, polietileno y E/S/E, congeladas con $t_{70} = 3$ min hasta $T_r = -25^{\circ}\text{C}$

Posteriormente se almacenaron en cámaras de aire estanco a oscuras de manera de evitar la fotooxidación de los pigmentos (MacDougall, 1982) a distintas temperaturas ($T_a = -5, -10, -13$ y -20°C) por lapsos comprendidos entre 150 y 400 días. En el caso de carne parcialmente congelada se mantuvo a $T_a = T_r = -5^{\circ}\text{C}$.

La selección de los tiempos de almacenamiento para muestras envasadas en polietileno y congeladas en la forma tradicional se basó en los datos de tiempo práctico de almacenamiento (PSL) informados por Van Arsdell (1968) y Jul (1984); en el caso de muestras parcialmente congeladas el tiempo de almacenamiento coincidió con la duración de la fase de latencia de los microor-

ganismos que desarrollan en las muestras.

Las muestras envasadas en polietileno se colocaron de forma tal que todas las áreas expuestas estuvieran en contacto con el aire de manera de permitir la oxigenación. Para el envasado aeróbico, se analizó directamente la evolución de los pigmentos musculares mientras que sobre las muestras de carne envasadas en E/S/E se estudió el efecto de la temperatura y tiempo previo de almacenamiento al vacío (tps) en la capacidad de oxigenación; para ello las muestras se extrajeron del envase y se mantuvieron en aire a temperatura ambiente (25°C) durante 30 a 40 minutos de manera de permitir la oxigenación de la Mb, registrándose durante dicho lapso las variaciones en los niveles de Mb, MbO₂ y MetMb.

5.2.6 Determinación de la concentración de pigmentos musculares

Las concentraciones relativas de pigmentos se determinaron sobre muestras previamente descongeladas en condiciones controladas (12 hs. a 4°C) mediante espectrofotometría de reflectancia utilizando la técnica explicada en la sección 4.3.1.4.

5.2.7 Análisis microbiológico

Los recuentos de microorganismos aeróbicos totales se realizaron utilizando Plate Count Agar (Oxoid) con posterior incubación a 30°C durante 3 días.

5.2.8 Análisis estadístico

El efecto de la velocidad de congelación y descongelación en la concentración de pigmentos se analizó utilizando un diseño factorial 2 x 2 con 10 replicados; estableciéndose la existencia de diferencias significativas entre tratamientos ($P < 0.05$).

Para estudiar la influencia del tiempo y temperatura de almacenamiento congelado en la evolución de Mb, MbO₂ y MetMb se siguió un diseño de bloques completos donde cada músculo se consideró como un bloque. El análisis cinético de los datos de concentración de pigmentos vs. tiempo se realizó usando el método integral. Los parámetros se estimaron mediante regresiones no lineales utilizando los métodos de Marquardt (Draper y Smith, 1981) y Quasi-Newton (Wilkinson, 1986) mediante un programa de computadora.

Las curvas de oxigenación se compararon estadísticamente utilizando una modificación del método de Neter y Wasserman (1974) (Apéndice 1) estableciendo la presencia de diferencias significativas entre los distintos tratamientos ensayados.

5.3 Resultados y discusión

5.3.1 Efecto de la velocidad de congelación y descongelación en la coloración superficial

La Fig. 26 presenta las concentraciones relativas de pigmentos musculares provenientes de muestras congeladas y descongeladas en forma inmediata y las correspondientes a carne bovina sometida a refrigeración a 4°C durante 24 hs.

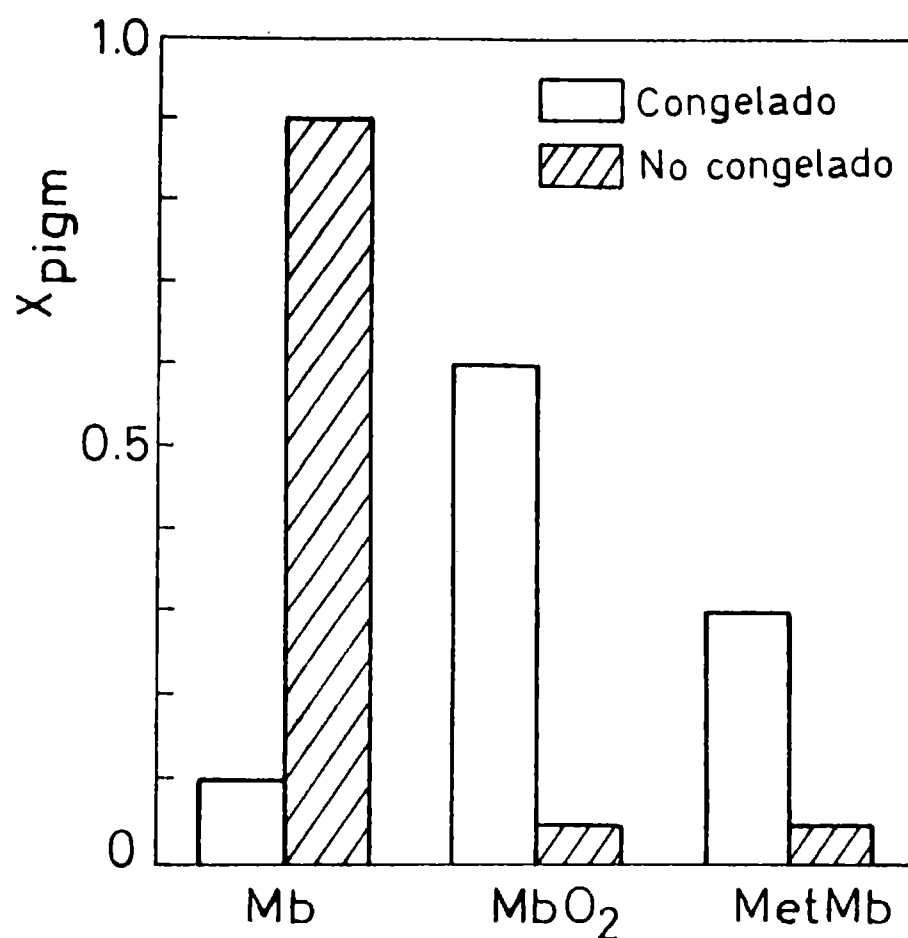


Fig. 28: Comparación entre las concentraciones relativas de pigmentos musculares de muestras congeladas y descongeladas y las provenientes de muestras no congeladas, refrigeradas a 4°C durante 24 hs. Película de envase: polietileno. Cada punto corresponde al valor medio de 10 replicados. Los errores relativos se encuentran entre el 10 y 20%.

Estos resultados indican que los procesos de congelación y descongelación aumentan la velocidad de producción de MetMb; Brown y Dolev (1963), trabajando con soluciones de MbO₂ bovina, arribaron a una conclusión similar. Fennema (1975b) señaló que la aceleración de reacciones durante la congelación era un hecho relativamente común y que se ha observado en el caso de reacciones de oxidación, de hidrólisis en catálisis ácida o alcalina, de insolubilización de proteínas. Este comportamiento podría explicarse teniendo en cuenta que durante la congelación se produce un aumento de la concentración de los solutos disueltos en la fase no congelada que en algunos casos supera el efecto depresor de la temperatura en la velocidad de reacción. Hood (1983) señaló que la concentración de electrolitos y la presencia de iones libres de metales de transición contribuía a la decoloración de carne bovina congelada. Ledward y MacFarlane (1971) informaron que el proceso de congelación-descongelación acelera la pérdida de nicotinamida adenosina dinucleótido (NAD) del músculo, mediador habitual de la reducción de MetMb. Por lo tanto la carne congelada pierde más rápidamente que la refrigerada la capacidad de reducción de la MetMb lo que se traduce en un aumento en la velocidad de formación de este pigmento.

La Tabla 12 muestra los valores de las concentraciones relativas de Mb, MbO₂ y MetMb obtenidas combinando dos velocidades de congelación y dos de descongelación.

TABLA 12

Concentraciones relativas de los pigmentos musculares de muestras congeladas y descongeladas a distintas velocidades

	CR DR	CR DL	CL DR	CL DL
xMb	0.070 (0.025)	0.070 (0.016)	0.060 (0.015)	0.055 (0.020)
xMbO ₂	0.590 (0.049)	0.630 (0.075)	0.570 (0.060)	0.610 (0.055)
xMetMb	0.330 (0.039)	0.290 (0.033)	0.310 (0.029)	0.280 (0.030)

CR = congelación rápida $t_{7c} = 5$ min, CL = congelación lenta $t_{7c} = 27$ min; DR = descongelación rápida $t_{7d} = 1$ min, DL = descongelación lenta $t_{7d} = 36$ min

Los resultados del análisis estadístico efectuado indicaron que en las condiciones experimentales ensayadas no había diferencia significativa ($P > 0.05$) en las concentraciones relativas de Mb, MbO₂ y MetMb obtenidas. Por lo tanto puede concluirse que dentro del rango de velocidades de congelación y descongelación utilizadas en este estudio, variaciones en estos parámetros no influyeron en la concentración relativa de pigmentos musculares de muestras envasadas en películas de alta permeabilidad gaseosa.

Jul (1984) informó que variaciones en la velocidad de congelación entre 0.2 cm/h (congelación lenta en aire estanco) y 5 cm/h (congelación rápida) no afectarían la carne bovina. Zaritzky y col. (1983) indicaron que altas velocidades de congelación provocaban la aparición de una coloración blanquecina en el hígado

congelado, pero que este efecto se atribuía a que los cristales pequeños formados durante la congelación rápida dispersan la luz en mayor grado que los cristales grandes provenientes de la congelación lenta, por lo tanto la carne bovina congelada rápidamente es opaca y pálida mientras que la que se congela en forma lenta es translúcida y oscura, sin embargo este efecto desaparece en el músculo descongelado.

5.3.2 Efecto de la temperatura final de congelación en las concentraciones relativas de pigmentos musculares

La Fig. 27 presenta la variación de la concentración de MetMb con la temperatura final de congelación. El análisis estadístico (ANAVA con ocho replicados para cada temperatura de trabajo) de los resultados indicó que esta influía en forma significativa ($P < 0.05$) en las concentraciones relativas de MetMb; el descenso de la temperatura final de congelación de -5°C a -70°C producía un incremento en el nivel de MetMb; este efecto resultaba particularmente notorio para temperaturas entre -5 y -25°C . Al respecto existe en literatura (Fennema, 1975b) evidencias de que reacciones no enzimáticas incrementan su velocidad con la congelación, atribuyéndose este comportamiento al aumento de la concentración de solutos en la fase no congelada para temperaturas de congelación entre -5 y -25°C . El grado de concentración depende principalmente de la temperatura de congelación y en menor grado de la velocidad de enfriamiento.

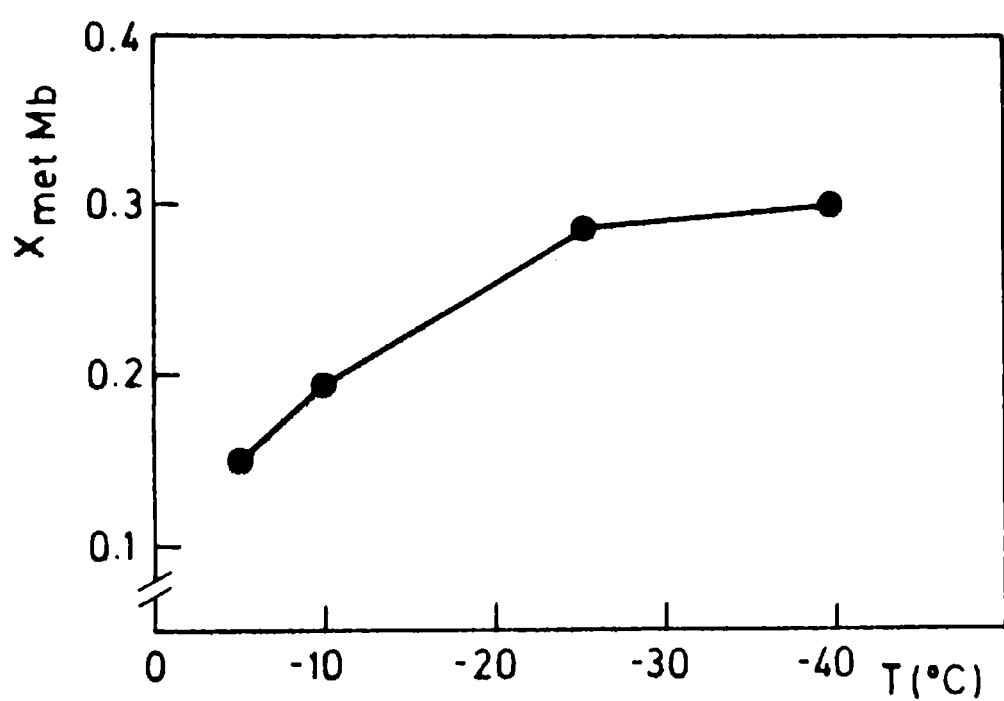


Fig. 27: Efecto de la temperatura final de congelación en la concentración relativa de MetMb. Cada punto corresponde al valor medio de 10 replicados. Los errores relativos se encuentran entre el 10 y 18%.

5.3.3 Evolución de las concentraciones relativas de pigmentos musculares durante el almacenamiento aeróbico de carne bovina sometida a congelación parcial

La Fig. 28 muestra la modificación de las concentraciones relativas de Mb, MbO₂ y MetMb de muestras envasadas en polietileno, parcialmente congeladas, es decir congeladas hasta $T_r = -5^{\circ}\text{C}$ y almacenadas en cámaras de aire estanco a esa temperatura. El tiempo de almacenamiento utilizado se determinó considerando el período durante el cual los microorganismos presentes en las muestras permanecieron en fase de latencia resultando este de 80 días.

A partir de la Fig. 28 puede observarse que el nivel de Mb desciende rápidamente hasta un valor constante ($x_{\text{Mb}} = 0.1$); MbO₂ alcanza el nivel máximo ($x_{\text{MbO}_2} = 0.7$) luego de tres días de almacenamiento, posteriormente disminuye hasta alcanzar valores de equilibrio. La concentración inicial de MetMb ($x_{\text{MetMb}} = 0.074$) resultó considerablemente menor que la correspondiente a muestras congeladas ($x_{\text{MetMb}} = 0.3$).

La interconversión de los pigmentos respondió al modelo cinético cíclico (1) propuesto por Fox (1966) y explicado en la sección 4.3.2.1. Puede observarse que a diferencia de lo que sucede en carne refrigerada, la formación de MetMb en muestras sometidas a congelación parcial, se produce no solo a partir de Mb sino también a partir de MbO₂.

Los datos experimentales fueron satisfactoriamente ajustados mediante regresiones no lineales a través de la Ec. (30) (Sec. 4.3.2.1).

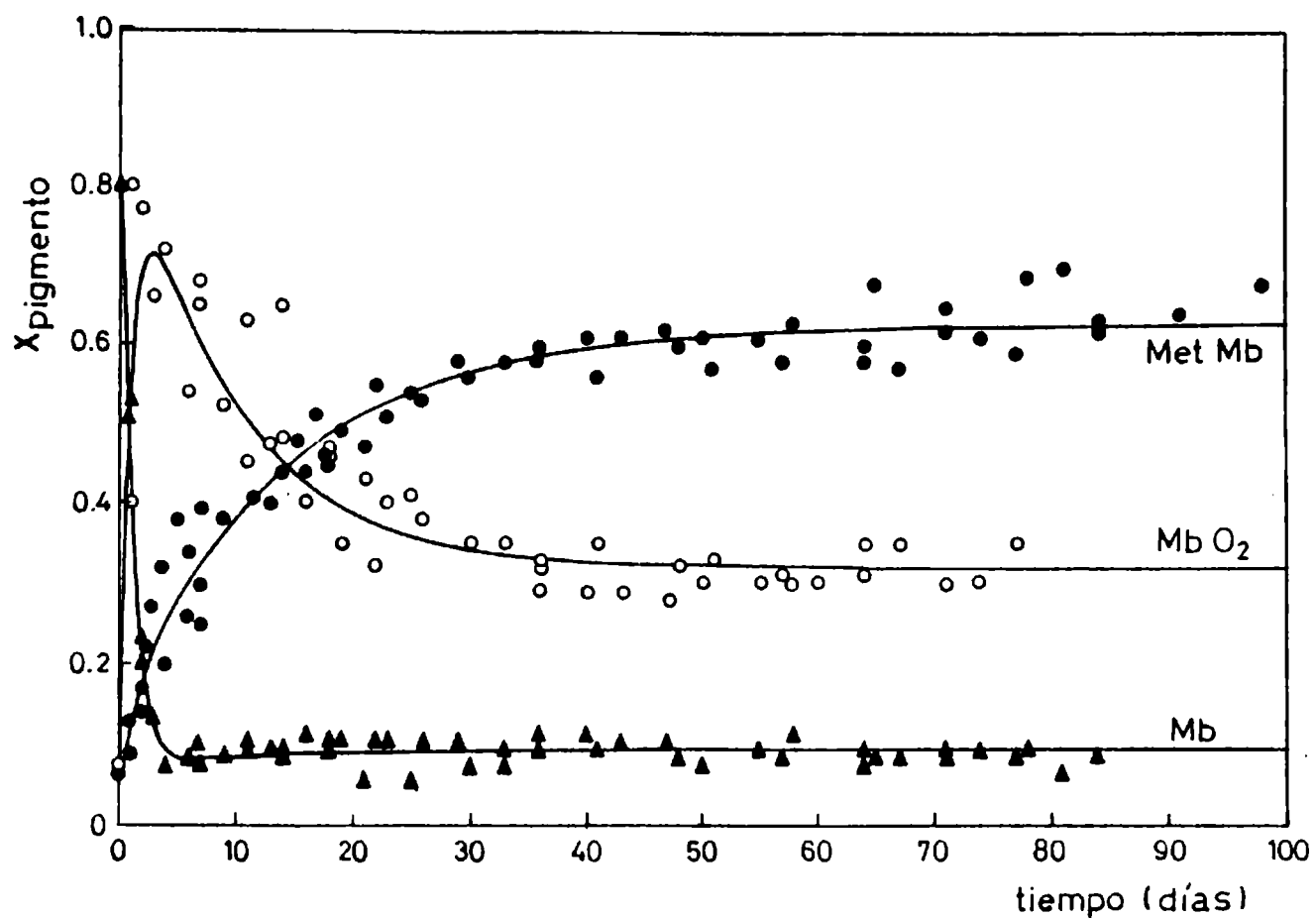


Fig. 28: Modificaciones en las concentraciones relativas de pigmentos musculares de muestras envasadas en polietileno y parcialmente congeladas. Número de animales $N = 3$. Las líneas llenas representan el comportamiento de los pigmentos predicho el modelo cinético propuesto.

$$x_1 = A_{11} e^{-L_1 t} + A_{12} e^{-L_2 t} + A_{1eq} \quad (30)$$

La Tabla 13 muestra los valores de concentraciones de equilibrio y constantes de tiempo con sus respectivas desviaciones standard

TABLA 13

Constantes de tiempo y concentraciones de equilibrio correspondientes a la interconversión de pigmentos de muestras parcialmente congeladas ($T_f = -5^\circ\text{C}$) durante el almacenamiento aeróbico

$A_{1eq} = 0.084$	(0.006)	$L_1 = 0.703$	días^{-1}	(0.065)
$A_{2eq} = 0.292$	(0.034)	$L_2 = 0.056$	días^{-1}	(0.005)
$A_{3eq} = 0.662$	(0.073)			

Los valores entre paréntesis corresponden a las desviaciones standard

Para calcular las constantes cinéticas k_1 , k_2 , k_3 , k_4 , k_5 y k_6 (Tabla 14) correspondientes a la oxigenación y autoxidación se utilizaron las ecuaciones (34), (35) y (36) de la Sec.4.3.2.1.

TABLA 14

Constantes cinéticas (días^{-1}) y de equilibrio correspondientes a la interconversión de pigmentos en muestras parcialmente congeladas ($T_f = -5^\circ\text{C}$).

$k_1 = 0.487$	$k_4 = 0.027$	$K_1 = 3.357$
$k_2 = 0.145$	$k_5 = 0.031$	$K_2 = 2.350$
$k_3 = 0.063$	$k_6 = 0.004$	$K_3 = 0.124$

Los valores de de las constantes cinéticas correspondientes a la oxidación de Mb (k_5 y k_6) y a la de MbO₂ (k_3 y k_4) indican que la formación de MetMb a partir de MbO₂ resultó más rápida que a partir de Mb.

Comparando los valores de las constantes cinéticas y de equilibrio obtenidos para carnes parcialmente congeladas con los correspondientes a muestras sin congelar y refrigeradas a 0 y 4°C presentados en el capítulo anterior (Sec. 4.3.2.1, Tabla 10) se puede observar que tanto k_1 como k_2 eran menores que las correspondientes a carne refrigerada a las dos temperaturas estudiadas, mientras que k_5 era comparable con la correspondiente a carne almacenada a 0°C ($k_5 = 0.03$ días⁻¹) y significativamente menor que k_5 a 4°C ($k_5 = 0.079$ días⁻¹). Esto implicaría que con respecto a carne refrigerada la congelación parcial hasta -5°C y posterior almacenamiento a la misma temperatura provoca un descenso de la estabilidad de la MbO₂ con el consiguiente aumento de la velocidad de formación de MetMb.

Cuando se compara la evolución de MetMb de carne no congelada (Figs. 20 y 21) con la correspondiente a muestras sometidas a congelación parcial (Fig. 28) se advierte que en las primeras el tiempo que tarda la concentración de MetMb en alcanzar el valor 0.3 (límite de aceptabilidad adoptado para carnes refrigeradas) fue 14 y 7 días a 0 y 4°C respectivamente mientras que en músculo parcialmente congelado dicho período fue de 9 días.

Para períodos menores de 15 días, la carne bovina refrigerada a las dos temperaturas ensayadas tiene mejor coloración, que la de las muestras parcialmente congeladas, atribuible a la menor concentración de MetMb presente. Sin embargo, para períodos de almacenamiento aeróbico de alrededor de 80 días la técnica de la

congelación parcial tiene innegables ventajas ya que permite incrementar la vida útil del producto desde el punto de vista microbiológico desde 14 días ($T_a = 0^\circ\text{C}$) a periodos cercanos a los tres meses con un considerable ahorro de energía (Aleman y col., 1982) encontrándose a dichos tiempos niveles de MetMb de 0.6.

5.3.4 Influencia de la temperatura y tiempo de almacenamiento aeróbico congelado en la concentración de pigmentos

Las Figs. 29 a, b, c y d muestran las modificaciones del nivel de pigmentos musculares durante el almacenamiento de muestras envasadas en polietileno, congeladas hasta -25°C y almacenadas a -5 , -10 , -13 y -20°C en condiciones aeróbicas respectivamente.

Los resultados experimentales indicaron que en todos los casos la concentración de Mb permanecía prácticamente constante desde el principio del almacenamiento y que tanto MbO2 como MetMb alcanzaron condiciones de equilibrio luego de 80 a 100 días de almacenamiento congelado.

Los datos experimentales fueron satisfactoriamente ajustados a través de las siguientes expresiones:

$$x_{\text{MbO}_2} = A_{21} e^{(-L t)} + A_{2e} \quad (40)$$

$$x_{\text{MetMet}} = A_{31} e^{(-L t)} + A_{3e} \quad (41)$$

La Tabla 15 presenta los valores de constantes de tiempo y concentraciones de equilibrio obtenidas.

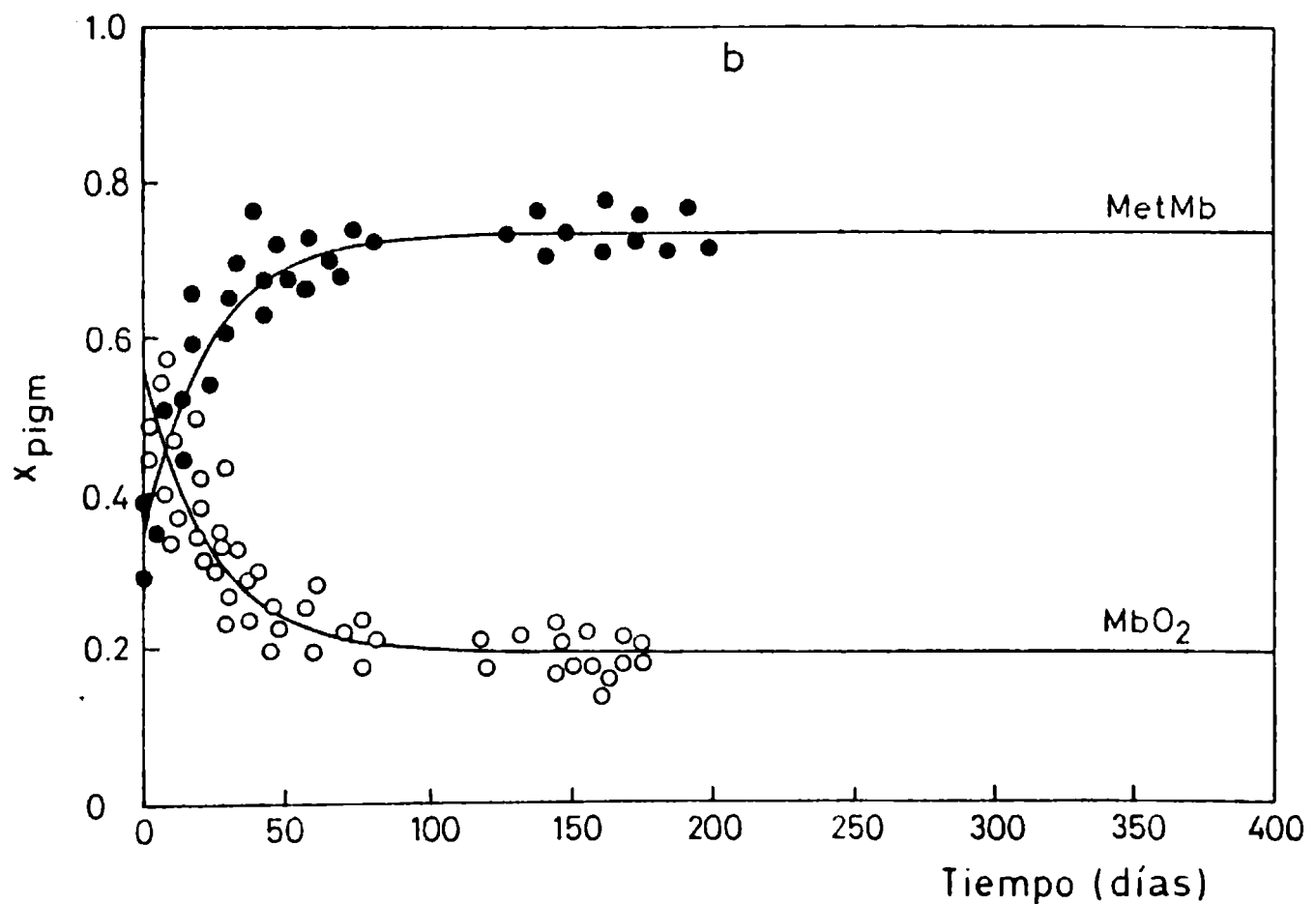
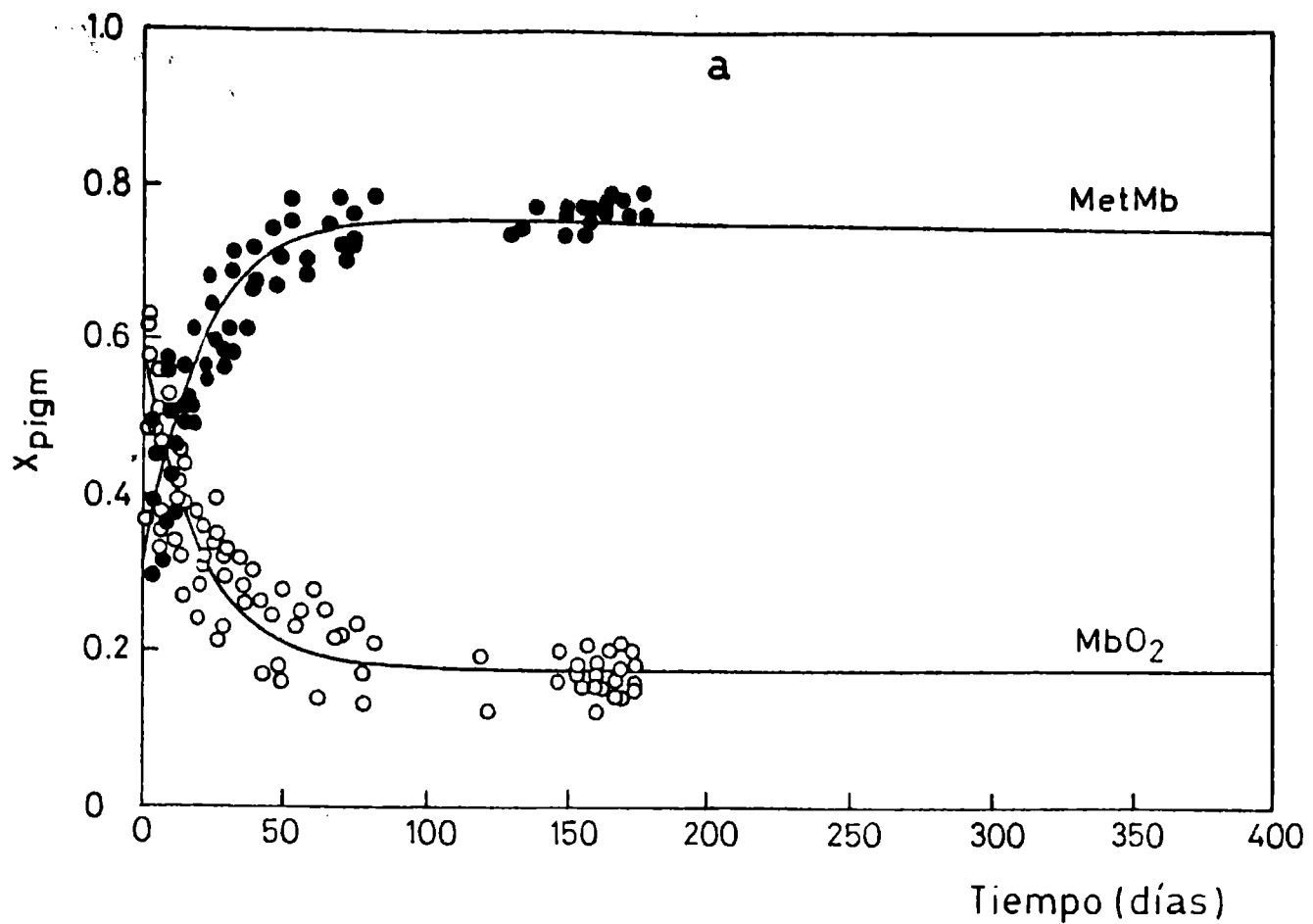


Fig. 29: Modificaciones en las concentraciones relativas de pigmentos musculares de muestras envasadas en polietileno congeladas hasta -25°C y almacenadas a: (a) -5°C , (b) -10°C , Número de animales $N = 11$. Las líneas llenas representan el comportamiento de los pigmentos predicho por el modelo cinético propuesto.

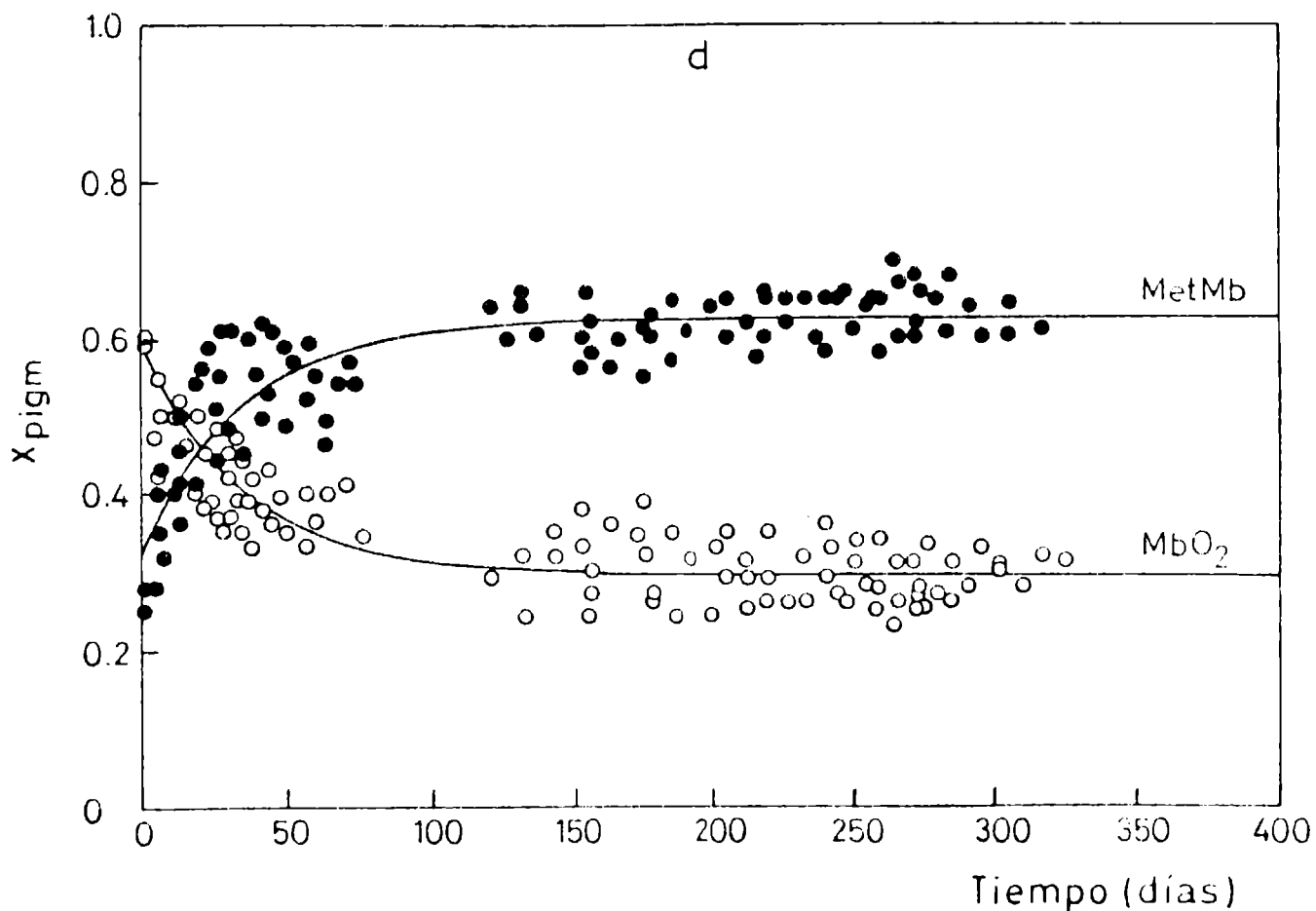
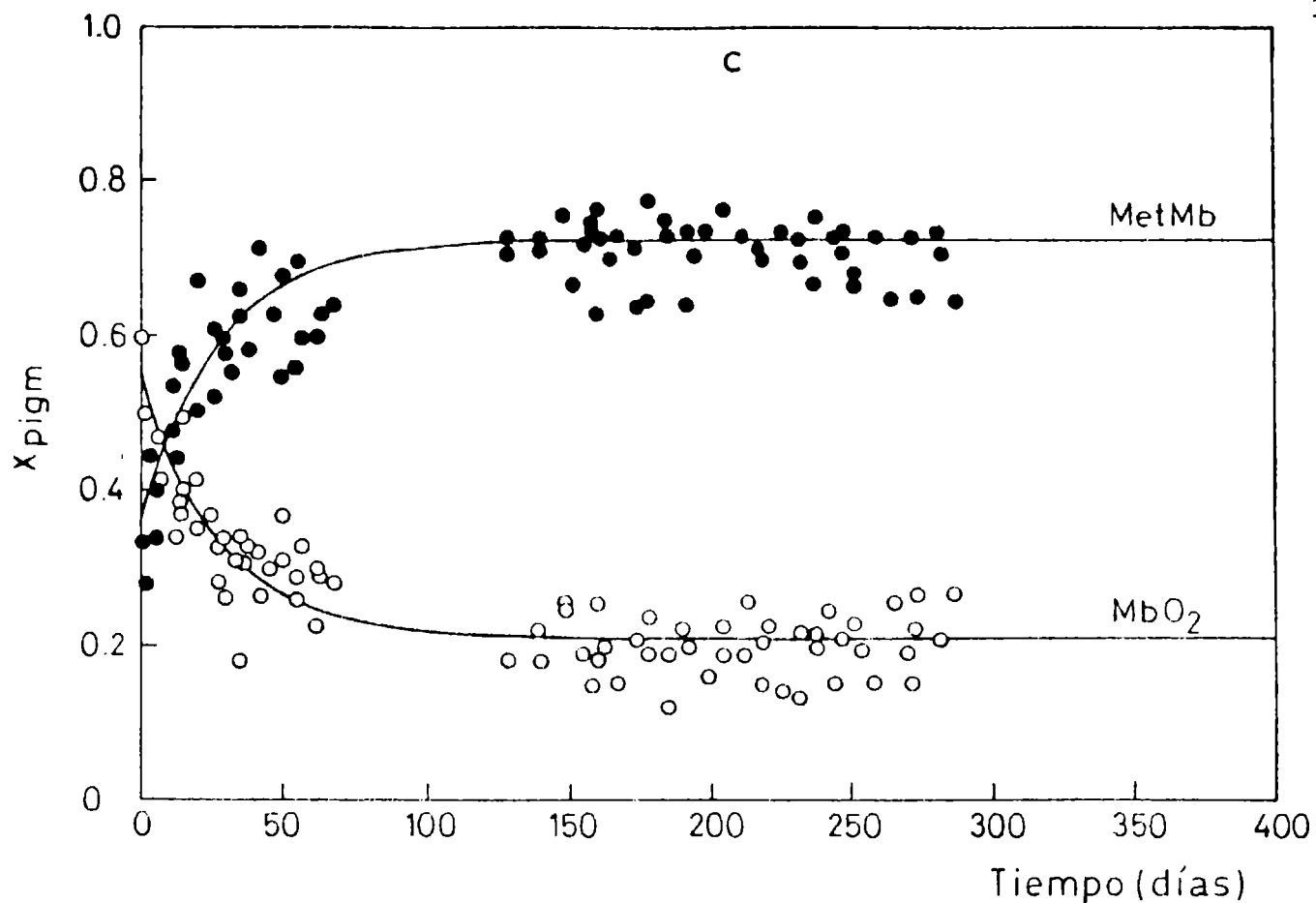


Fig. 29: Modificaciones en las concentraciones relativas de pigmentos musculares de muestras envasadas en polietileno congeladas hasta -25°C y almacenadas a: (c) -13°C y (d) -20°C . Número de animales $N = 11$. Las líneas llenas representan el comportamiento de los pigmentos predicho por el modelo cinético propuesto.

TABLA 15

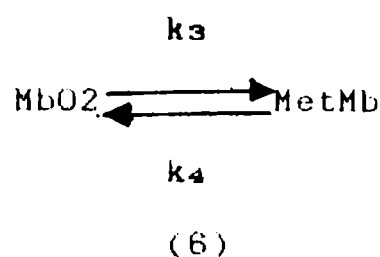
Constantes de tiempo (días)⁻¹ y concentraciones relativas de equilibrio de Mb, MbO₂ y MetMb durante el almacenamiento congelado de muestras envasadas en polietileno.

T(°C)	L	A _{1eq}	A _{2eq}	A _{3eq}
-5	0.049 (0.006)	0.071 (0.009)	0.175 (0.012)	0.752 (0.009)
-10	0.042 (0.005)	0.075 (0.008)	0.187 (0.015)	0.738 (0.008)
-13	0.036 (0.004)	0.080 (0.008)	0.210 (0.007)	0.727 (0.006)
-20	0.029 (0.004)	0.085 (0.013)	0.295 (0.007)	0.627 (0.006)

A_{1eq} = xMb_{eq}; A_{2eq} = xMbO_{2eq}; A_{3eq} = xMetMb_{eq}.

Los valores entre paréntesis representan las desviaciones standard

A partir de los resultados experimentales puede observarse que la oxigenación de la Mb tiene lugar durante el proceso de congelación/descongelación ya que la concentración de MbO₂ al comienzo del almacenamiento congelado correspondía al valor máximo alcanzado, permaneciendo constante durante todo el almacenamiento. Esto indicaría que la Mb prácticamente no interviene en la reacción de producción de MetMb. En consecuencia la interconversión de los pigmentos durante el almacenamiento congelado aeróbico podría representarse en forma simplificada según:



Aplicando una cinética de primer orden al modelo propuesto e integrando los balances correspondientes se obtuvo:

$$x_{\text{MetMb}} = \frac{k_3(1-A_{1\text{eq}})}{(k_3+k_4)} - \left(\frac{k_3(1-A_{1\text{eq}}) - (k_3+k_4)x_{\text{MetMb}_0}}{(k_3+k_4)} \right) e^{-(k_3+k_4)t} \quad (42)$$

donde x_{MetMb_0} corresponde a la concentración de MetMb al comienzo del almacenamiento congelado; la ecuación (42) concuerda con la expresiones de ajuste (40) y (41) tomando:

$$L = k_3 + k_4 \quad (43)$$

$$A_{31} = -\left(\frac{k_3(1-A_{1\text{eq}}) - (k_3+k_4)x_{\text{MetMb}_0}}{(k_3+k_4)} \right) \quad (44)$$

$$A_{3\text{eq}} = \frac{k_3(1-A_{1\text{eq}})}{(k_3+k_4)} \quad (45)$$

$$K_3 = k_3/k_4 \quad \text{siendo } 1-A_{1\text{eq}} = x_{\text{MetMb}_0} + x_{\text{MbO}_2_0} \quad (46)$$

La Tabla 16 muestra los valores de las constantes cinéticas (k_3 y k_4) y de equilibrio (K_3) calculadas a partir de las Ecs. (43) y (45).

TABLA 16

Constantes cinéticas y de equilibrio para la acumulación de MetMb durante el almacenamiento aeróbico de carne bovina congelada

T(°C)	k ₃ (días ⁻¹)	k ₄ (días ⁻¹)	K ₃
-5	3.971 10 ⁻²	9.252 10 ⁻³	4.297
-10	3.353 "	8.491 "	3.462
-13	3.351 "	8.073 "	3.462
-20	2.794 "	9.214 "	2.125

Con los valores de K₃ obtenidos y a partir de la ecuación de Van't Hoff se calculó la entalpía de reacción de la oxidación de la MbO₂: $\Delta H = 27.142$ kJ/mol. Este resultado indicó que la producción de MetMb correspondía a una reacción endotérmica por consiguiente la disminución de la temperatura de almacenamiento favorece la estabilidad del complejo MbO₂ a través de la reducción de la velocidad de autooxidación (k₃) sin afectar la actividad del sistema enzimático reductor (k₄). La energía de activación (E_a) para la formación de MetMb a partir de MbO₂ calculada fue 26.533 kJ/mol.

Chu y col. (1987) trabajando con carne reestructurada congelada hasta T_r = -34°C y posteriormente almacenada a -2°C postularon que la aceleración de la velocidad de formación de MetMb se debería a la formación de cristales y a la ruptura celular que permite que catalizadores de reacción entren en contacto con la

Mb. Sin embargo, a partir de los valores de energía de activación correspondiente a la oxidación de la MbO₂ calculados en este trabajo ($E_a = 26.533 \text{ KJ/mol}$) y los de recristalización del hielo en tejidos cárneos $E_a = 42.370 \text{ KJ/mol}$ (Martino y Zaritzky, 1988) se observó que éstos no eran comparables, lo que arrojaría dudas acerca de la validez de la teoría postulada por Chu y col. (1987).

El comportamiento de las constantes cinéticas k_3 y k_4 con la temperatura, obtenido en el presente estudio difiere del informado por Brown y Dolev (1963) y Zachariah y Saterlee (1973). Estos autores informaron que la velocidad de autooxidación de soluciones de MbO₂ congeladas hasta temperaturas finales entre -5 y -25°C y posteriormente almacenadas a la misma temperatura presentaba un ligero máximo entre -11 y -12°C . Estas diferencias de comportamiento se deberían al efecto de la temperatura final de congelación en la concentración relativa de MetMb, particularmente notorio para temperaturas entre -5 y -15°C . Este resultado puede ser explicado considerando que dentro de dicho rango es donde se observan las mayores variaciones en la concentración de solutos en la fase no congelada (Fennema, 1975b). Por lo tanto, las diferencias de comportamiento de las constantes cinéticas con la temperatura entre el presente estudio y el informado por Brown y Dolev (1963) y Zachariah y Saterlee (1973) podrían deberse a que estos autores no utilizaron la misma temperatura final de congelación con lo cual se enmascara el efecto de la temperatura final con el de la temperatura de almacenamiento.

Tomando $x_{\text{MetMb}} = 0.5$ como límite de aceptabilidad para carnes congeladas (Van den Oord y Wesdorp, 1971b), los resultados experimentales obtenidos en el presente trabajo indicaron que los periodos necesarios para alcanzar dicho nivel fueron: 14 días a -5

y -10°C , 16 días a -13°C y 32 días a -20°C . El límite de aceptabilidad utilizado para carne congelada resulta mayor que el correspondiente a carne refrigerada que era $x_{\text{MetMb}} = 0.3$, debido a que el proceso de congelación favorece la producción de altas concentraciones iniciales de MetMb ($x_{\text{MetMb}_0} = 0.3$).

A partir de estos resultados puede concluirse que la congelación y el almacenamiento de carnes congeladas envasadas en películas de alta permeabilidad produce coloraciones indeseables, alcanzando en cortos tiempos niveles de MetMb mayores que los valores límite aceptables.

Cuando se comparan los esquemas de interconversión de pigmentos de carne parcialmente congelada (Modelo 1, Sec. 4.3.2.1) con el de muestras congeladas hasta $T_r = -25^{\circ}\text{C}$ (Modelo 6) y almacenadas a diversas temperaturas, puede observarse un cambio en dichos modelos. La única reacción observada durante el almacenamiento de muestras congeladas hasta -25°C fue la autoxidación de la MbO_2 (Modelo (6)). La magnitud de este efecto depende principalmente de la temperatura final de congelación que gobierna el grado de concentración de los solutos en la fase no congelada. Zachariah y Saterlee (1973) estudiaron la estabilidad de las soluciones de MbO_2 porcina frente a la temperatura de congelación y observaron que su disminución producía un descenso significativo de la solubilidad de la molécula, particularmente notorio a temperaturas entre -5 y -17.5°C . A partir de estos resultados los autores postularon que el aumento de velocidad observado se debería a una acción combinada de la autoxidación y desnaturalización de la MbO_2 durante el almacenamiento congelado. Matsumoto (1979) informó que hay evidencia que la Mb de músculo de pescado se desnaturaliza durante el almacenamiento congelado

ocasionando la decoloración de músculos rojos.

De los valores de las constantes de equilibrio correspondientes a la autoxidación de MbO₂ de carne sometida a congelación parcial ($K_2 = 2.350$) y la congelada hasta -25°C y almacenada a -5°C , ($K_2 = 4.297$) se observó que la disminución de la temperatura final de congelación produce una caída de la estabilidad de la MbO₂ principalmente a través de la pérdida de actividad del sistema enzimático reductor representado por k_4 (Tablas 14 y 16). El descenso de la temperatura de almacenamiento atemperó la carne y afectó ya que disminuye la velocidad de autoxidación de la MbO₂ (k_3) sin afectar la actividad del sistema enzimático reductor (k_4), resultando que para muestras congeladas hasta -25°C y almacenadas a -20°C , los valores de K_2 ($K_2|_{-20} = 2.125$) son comparables a los de carne parcialmente congelada ($K_2 = 2.350$).

El efecto de la temperatura final de congelación y de almacenamiento explicado previamente se reflejó en la evolución de la concentración de MetMb para carne congelada hasta -5 y -25°C (Figs. 29a y d). Para tiempos de almacenamiento menores de 17 días la acción de la temperatura final de congelación en la velocidad de formación de MetMb es más importante que la de la temperatura de almacenamiento; los niveles de MetMb en muestras parcialmente congeladas resultaban menores que los correspondientes a carne congelada. Superado este periodo el efecto del descenso de la temperatura de almacenamiento es visible y se ve reflejado en el tiempo requerido para que $x_{\text{MetMb}} = 0.5$ (límite aceptable utilizado en carne congelada). En muestras semicongeladas ese periodo fue de 24 días mientras que para carne congelada y almacenada a -5°C y -20°C dichos periodos fueron 14 y 32 días respectivamente.

A partir de los resultados obtenidos se puede concluir que

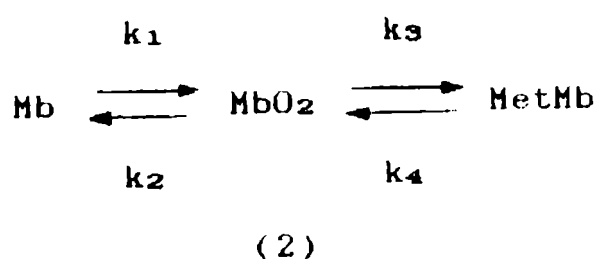
para períodos de almacenamiento del orden de 3 meses, la congelación parcial presenta innegables ventajas frente a la congelación tradicional; se obtienen productos de mejor coloración superficial y de buena calidad microbiológica lográndose además un ahorro energético importante.

5.3.5 Oxigenación de carne bovina envasada en películas de baja permeabilidad gaseosa

5.3.5.1 Carne sometida a congelación parcial

La Fig. 30 muestra la evolución de Mb, MbO₂ y MetMb durante la oxigenación a 25°C de muestras envasadas en E/S/E, congeladas parcialmente hasta -5°C, almacenadas a esa temperatura y descongeladas durante 12 hs. a 4°C.

Los datos experimentales fueron ajustados a través de un esquema de reacción similar al modelo (2) (Sección 4.3.2.1)



con las correspondientes constantes de equilibrio K₁ y K₂ anteriormente definidas:

$$K_1 = k_1/k_2 = A_{2e9}/A_{1e9} \quad K_2 = k_3/k_4 = A_{3e9}/A_{2e9} \quad (28)$$

Aplicando una cinética de primer orden al modelo propuesto se

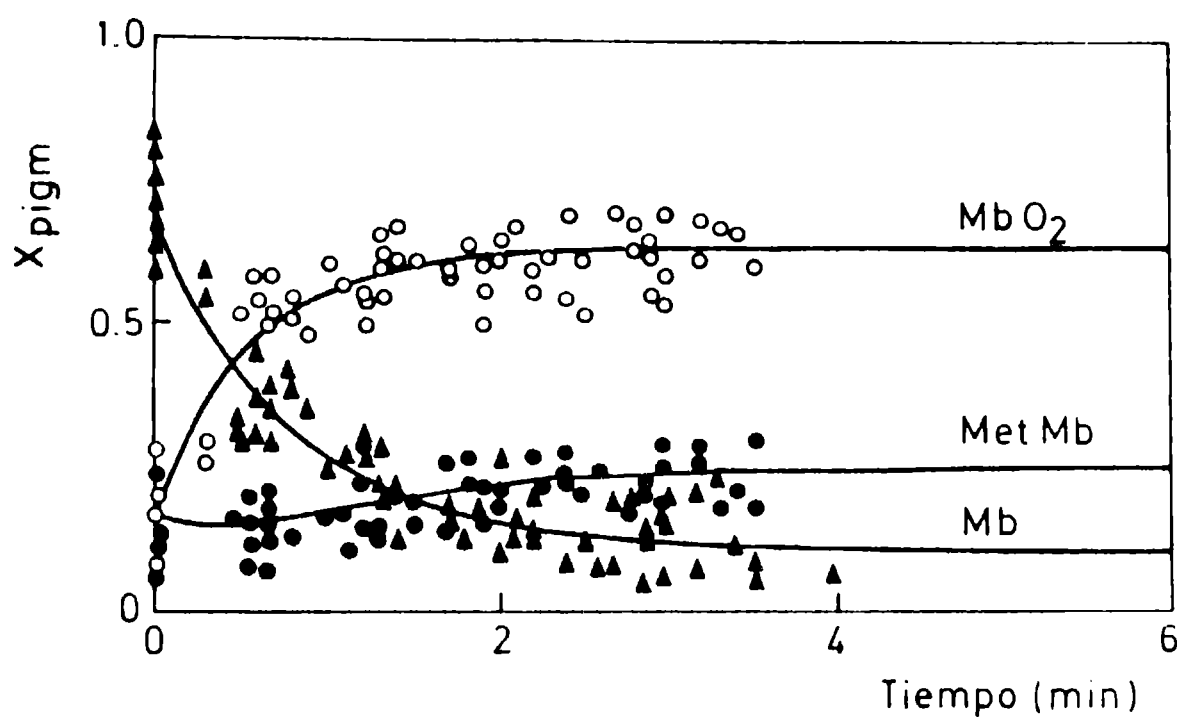


Fig. 30: Evolución de los pigmentos musculares durante la oxigenación de muestras envasadas en E/S/E, sometidas a congelación parcial y almacenadas por periodos comprendidos entre 2 y 45 días. Temperatura de oxigenación: 25°C. Las líneas llenas representan el comportamiento de los pigmentos predicho por el modelo cinético propuesto.

obtuvieron los siguientes balances de materia:

$$dx_{Mb}/dt = k_2 x_{MbO_2} - k_1 x_{Mb} \quad (47)$$

$$dx_{MbO_2}/dt = k_1 x_{Mb} - (k_2 + k_3) x_{MbO_2} + k_4 x_{MetMb} \quad (48)$$

$$dx_{MetMb}/dt = k_3 x_{MbO_2} - k_4 x_{MetMb} \quad (49)$$

La integración de las ecuaciones diferenciales (47) a (49) condujo a una expresión general para las concentraciones de pigmentos semejante a la Ec. (30), donde t representa el tiempo de oxigenación en minutos; esta ecuación ajustó satisfactoriamente los datos experimentales obtenidos.

La comparación estadística de las curvas obtenidas (Meter y Wasserman, 1974) indicó que no había efecto significativo del tiempo de almacenamiento al vacío previo (tps) por lo tanto los datos experimentales se agruparon de manera de obtener parámetros comunes para un tiempo de almacenamiento al vacío previo (tps) hasta 45 días. la Tabla 17 muestra los valores de las constantes de tiempo y concentraciones de equilibrio determinados.

TABLA 17

Concentraciones de equilibrio y constantes de tiempo correspondientes a la oxigenación de carne bovina parcialmente congelada.

$A_{1eq} = 0.104$ (0.014)	$L_1 = 0.121 \text{ min}^{-1}$ (0.013)
$A_{2eq} = 0.641$ (0.012)	$L_2 = 0.169 \text{ min}^{-1}$ (0.018)
$A_{3eq} = 0.255$ (0.018)	

Los valores entre paréntesis corresponden a las desviaciones standard.

A partir de las Ecs. (34), (35) y (36), considerando k_5 y k_6 nulas, se obtuvieron las siguientes expresiones

$$L_1 + L_2 = k_1 + k_2 + k_3 + k_4 \quad (50)$$

$$L_1 - L_2 = ((k_1+k_2+k_3+k_4)^2 - 4 k_1 k_3 (1 + 1/K_2 + 1/(K_1 K_2)))^{1/2} \quad (51)$$

que permitieron calcular los valores de las constantes cinéticas k_1 , k_2 , k_3 y k_4 correspondientes a la oxigenación de carne sometida a congelación parcial (Tabla 18)

TABLA 18

Constantes cinéticas y de equilibrio para la oxigenación de muestras parcialmente congeladas

$k_1 = 0.126 \text{ min}^{-1}$	$k_2 = 0.020 \text{ min}^{-1}$
$k_3 = 0.041 \text{ min}^{-1}$	$k_4 = 0.103 \text{ min}^{-1}$
$K_1 = 6.163$	$K_2 = 0.398$

Al comparar la ecuación cinética de interconversión de pigmentos propuesta para carne refrigerada (Modelo (5) Sec. 4.3.2.2) con el correspondiente a muestras parcialmente congeladas (Modelo (2)) pudo observarse el efecto acelerante de la congelación en la velocidad de autoxidación de la MbO₂ ya que en la oxigenación de muestras no congeladas la formación de MetMb no fue detectada mientras que en las muestras parcialmente congeladas la producción de MetMb alcanzo concentraciones finales de $x_{\text{MetMb}} = 0.255$.

Los niveles finales de MbO₂ alcanzados ($x_{\text{MbO}_2} \cong 0.65$) en carne parcialmente congelada y almacenada durante 45 días fueron similares a los correspondientes a carne refrigerada durante $t_{ps} = 2$ días a 4°C. Es decir que la congelación parcial de carne envasada al vacío permite obtener luego de 45 días de almacenamiento, productos de coloración semejante a los de carne no congelada almacenada durante 2 días a 4°C o 13 días a 0°C.

5.3.5.2 Carne congelada hasta -25°C

Las Figs. 31 a y b representan la variación de los pigmentos durante la oxigenación a 25°C de muestras envasadas previamente con E/S/E, congeladas hasta -25°C y almacenadas a -5 y -20°C durante 180 días, descongeladas y expuestas al aire. Curvas similares se obtuvieron para distintos valores de tps (tiempo de almacenamiento al vacío previo) a -5, -13 y -20°C

La interconversión de los pigmentos pudo interpretarse también mediante el modelo (2). Los datos experimentales fueron satisfactoriamente ajustados mediante expresiones semejantes a la Ec. (30). Las amplitudes, constantes de tiempo y concentraciones de equilibrio se determinaron siguiendo el mismo procedimiento que para carne parcialmente congelada. La Tabla 19 presenta los valores de constantes de tiempo y concentraciones de equilibrio obtenidos.

El efecto de la temperatura y el tiempo de almacenamiento previo en la concentración de equilibrio de MetMb no fue significativo; pudiendo observarse que estos valores resultan similares a los correspondientes a muestras envasadas en polietileno, congeladas y descongeladas en forma inmediata (Tabla 12). Para temperaturas de almacenamiento de -13 y -20°C y valores de tps inferiores a 210 días, los niveles finales de MbO₂ luego de la oxigenación eran comparables a las concentraciones relativas de dicho pigmento en muestras envasadas en películas de alta permeabilidad inmediatamente después de ser sometidas a un proceso de congelación y descongelación ($x_{MbO_2} = 0.6$).

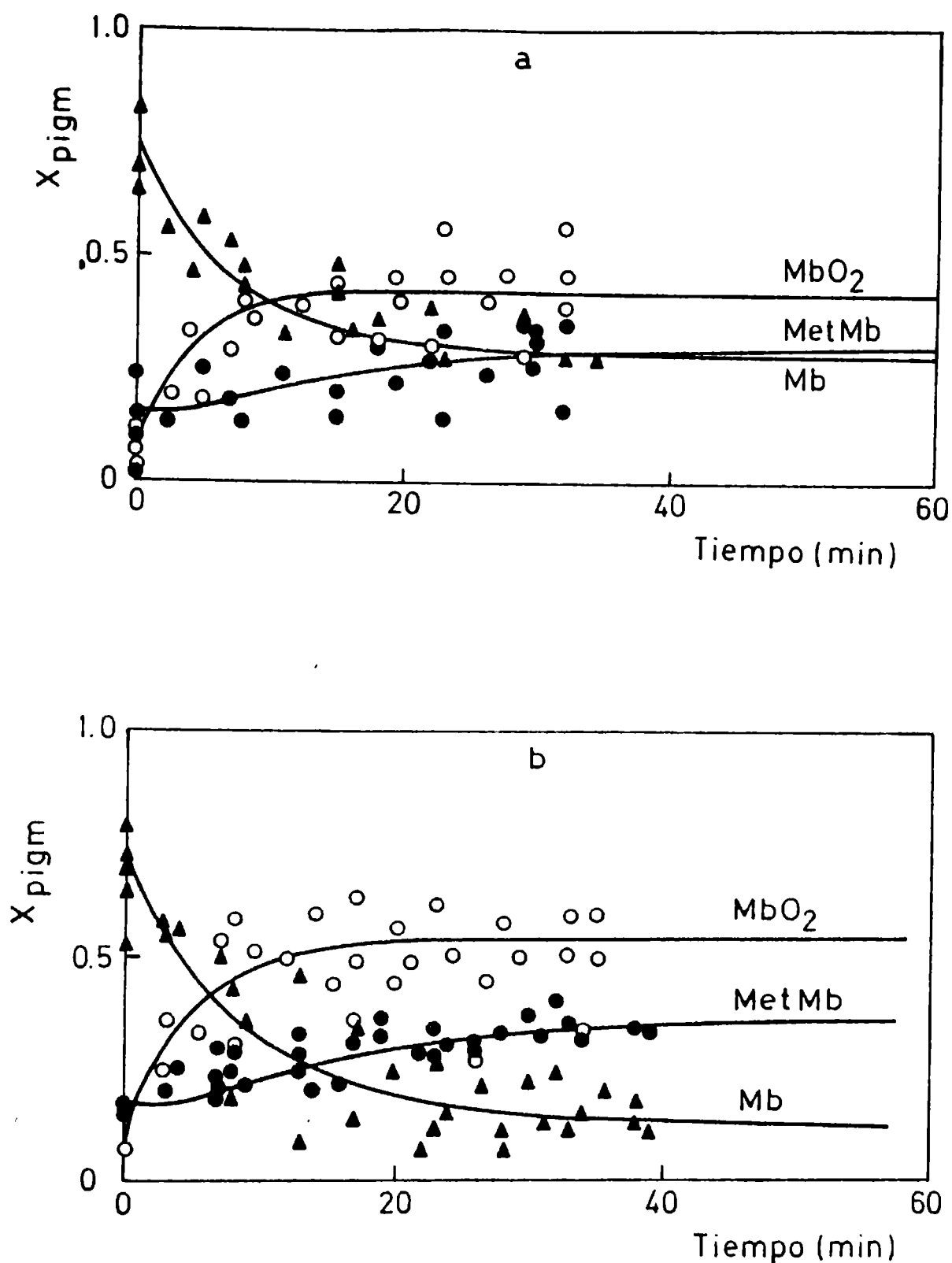


Fig. 31: Evolución de los pigmentos musculares durante la oxigenación de muestras envasadas en E/S/E, congeladas hasta $-25^\circ C$ y almacenadas durante 180 días. Temperatura de almacenamiento: (a) $-5^\circ C$, (b) $-20^\circ C$. Temperatura de oxigenación: $25^\circ C$. Las líneas llenas representan el comportamiento de los pigmentos predicho por el modelo cinético propuesto.

TABLA 19

Constantes de tiempo (min^{-1}) y concentraciones de equilibrio de los pigmentos musculares durante la oxigenación

T(°C)	tps	L1	L2	A1eq	A2eq	A3eq
-5	9	0.205 (0.065)	0.343 (0.090)	0.120 (0.032)	0.580 (0.021)	0.300 (0.032)
	30	0.115 (0.019)	0.195 (0.065)	0.150 (0.027)	0.564 (0.027)	0.330 (0.035)
	180	0.106 (0.045)	0.181 (0.038)	0.280 (0.060)	0.419 (0.103)	0.301 (0.029)
-13	30	0.111 (0.039)	0.188 (0.042)	0.120 (0.068)	0.563 (0.044)	0.320 (0.033)
	180	0.108 (0.026)	0.149 (0.070)	0.140 (0.032)	0.520 (0.035)	0.340 (0.042)
	210	0.090 (0.012)	0.130 (0.030)	0.150 (0.045)	0.520 (0.040)	0.330 (0.040)
	250	0.080 (0.009)	0.117 (0.027)	0.180 (0.023)	0.463 (0.054)	0.360 (0.040)
-20	30	0.098 (0.024)	0.197 (0.040)	0.117 (0.040)	0.553 (0.033)	0.330 (0.037)
	180	0.088 (0.027)	0.172 (0.050)	0.120 (0.040)	0.540 (0.039)	0.351 (0.034)
	210	0.090 (0.010)	0.151 (0.046)	0.132 (0.050)	0.530 (0.035)	0.340 (0.033)
	250	0.085 (0.015)	0.123 (0.022)	0.149 (0.044)	0.506 (0.043)	0.345 (0.034)
	390	0.082 (0.020)	0.106 (0.023)	0.170 (0.054)	0.500 (0.036)	0.330 (0.033)

A1eq = xMbeq; A2eq = xMbO2eq; A3eq = xMetMbeq; (L1,2) = días⁻¹
 tps = tiempo de almacenamiento previo al vacío en días.

Para calcular las constantes cinéticas k_1 , k_2 , k_3 y k_4 se utilizaron las expresiones (50) y (51); la Tabla 20 muestra los valores de constantes cinéticas y de equilibrio para el proceso de oxigenación para las distintas temperaturas y valores de tps.

TABLA 20

Constantes cinéticas y de equilibrio correspondientes a la interconversión de pigmentos durante la oxigenación.

T(°C)	tps	k_1	k_2	k_3	k_4	K_1	K_2
	9	0.268	0.053	0.074	0.150	5.067	0.493
-5	30	0.125	0.027	0.061	0.099	4.670	0.622
	180	0.095	0.063	0.059	0.084	1.496	0.702
-13	30	0.122	0.027	0.054	0.095	4.667	0.571
	180	0.110	0.027	0.050	0.078	4.130	0.640
	210	0.090	0.026	0.043	0.067	3.467	0.635
	250	0.083	0.032	0.034	0.043	2.555	0.783
-20	30	0.117	0.021	0.050	0.086	5.701	0.579
	180	0.102	0.023	0.050	0.080	4.510	0.630
	210	0.098	0.024	0.047	0.074	4.015	0.634
	250	0.092	0.024	0.043	0.065	3.852	0.663
	390	0.072	0.027	0.037	0.057	2.940	0.660

tps = tiempo de almacenamiento previo al vacío en días.

Constantes cinéticas $k_1 - k_4$ en (min^{-1})

A partir de los valores de las constantes cinéticas calculados se observó que el aumento del tiempo de almacenamiento a cada temperatura (-5, -13 y -20°C) produjo un descenso de la capacidad de oxigenación (K_1) a través de la disminución de k_1 y k_4 . Esto se reflejó en la reducción de x_{MbO_2eq} ; a valores de tps

similares el descenso de la temperatura de almacenamiento ocasionó un aumento en la estabilidad del complejo MbO₂. Este hecho era particularmente notorio a tps mayor de 30 días; para tps = 180 días, los niveles de MbO₂ a -5°C eran significativamente menores que los correspondientes a -13 y -20°C. Para temperaturas de almacenamiento de -20°C y 250 días de almacenamiento previo MbO₂eq eran ligeramente mayores que a -13°C. Los resultados obtenidos indican que para temperaturas de almacenamiento de -13 y -20°C la concentración de pigmentos luego de la oxigenación de carne envasada al vacío, congelada y almacenada por períodos mayores de 250 días se mantiene dentro de los valores límites aceptables. Al comparar las constantes cinéticas y de equilibrio correspondientes a carne congelada hasta -25°C (Tabla 20) con los de carne congelada hasta -5°C (Tabla 18), se observó que los valores de K₁ y K₂ en muestras parcialmente congeladas eran mayores que los correspondientes a carne congelada hasta -25°C, almacenada durante 30 días a -5 y -20°C. El descenso de la temperatura final de congelación acelera la velocidad de autoxidación de la MbO₂ (k₃) y, en menor medida, disminuye la actividad del sistema enzimático reductor del músculo (k₄). La disminución de la temperatura de almacenamiento a -20°C disminuye k₃ a valores comparables con los de muestras parcialmente congeladas sin modificar significativamente k₁, k₂, y k₄. Los niveles finales de MbO₂ en muestras semicongeladas fueron superiores a los correspondientes a músculo congelado y almacenado a las temperaturas ensayadas.

Los resultados obtenidos mostraron que dentro del período de almacenamiento estudiado (45 días) la coloración superficial luego de la oxigenación de carne bovina semicongelada es similar a la de carne congelada hasta -25°C y almacenada a -20°C durante 30 días

por lo tanto, para almacenamientos relativamente cortos (80 días) este método resulta más conveniente que el congelado tradicional, los productos obtenidos con esta técnica son de calidad similar en cuanto a color, el grado de contaminación es bajo con la ventaja de un menor costo de producción.

5.4 Conclusiones

Se analizó el comportamiento de los pigmentos musculares durante los procesos de oxigenación y oxidación de carne bovina congelada en forma total o parcial envasada en películas de distinta permeabilidad gaseosa, obteniendo modelos cinéticos que permitieron interpretar adecuadamente su comportamiento.

Dentro del rango de velocidades de congelación y descongelación utilizado en este estudio, modificaciones en estos parámetros no afectaron los niveles de Mb, MbO₂ y MetMb de muestras envasadas en películas de alta permeabilidad. El descenso de la temperatura final de congelación produjo un considerable incremento en los niveles finales de MetMb a través de la autooxidación de la MbO₂.

En las muestras envasadas al vacío la estabilidad del color fue mayor que en las que se utilizó películas de alta permeabilidad gaseosa. Los valores finales de MbO₂ luego de la oxigenación de muestras congeladas hasta -25°C se mantuvo prácticamente constante por períodos mayores de 200 días a -13 y -20°C mientras que los valores de MetMb fueron en todos los casos inferiores al límite de 0.5.

La coloración superficial de muestras parcialmente congeladas, envasadas en ambos tipos de películas y almacenadas

durante 80 días fue superior a la de muestras congeladas.

A partir de estos resultados puede concluirse que la comercialización de carne bovina envasada al vacío y congelada constituye un medio viable para la comercialización de carne en estado congelado; se obtiene un considerable aumento de la estabilidad del color y ofrece además considerables ventajas potenciales en términos de costo y aumento de la calidad.

CAPITULO 6

CONCLUSIONES

-El análisis de la variación de ternera durante la maduración de carnes envasadas al vacío a distintas temperaturas permitió obtener una ecuación exponencial que puede ser usada en forma efectiva para cuantificar los cambios de ternera en carnes crudas y cocidas. Este modelo representó también satisfactoriamente la dependencia con el tiempo de otros indicadores de maduración tales como el Índice Bioquímico de Fragmentación Miofibrilar (BIMA) y el Punto Límite de Comportamiento Elástico (YP).

-Los tiempos de maduración obtenidos a 4°C (3 a 6 días) resultaron considerablemente menores que los informados en literatura lo que posibilita la obtención de productos de mejor calidad microbiológica acelerando los procesos de comercialización. A 0°C el valor estimado fue de 7 a 9 días.

-Variaciones en las velocidades de congelación y descongelación así como la temperatura y tiempo de almacenamiento congelado no produjeron modificaciones en la ternera de carne bovina congelada con y sin maduración previa.

-El análisis comparativo de los métodos instrumentales utilizados en la medición de la ternera cárnica (tracción y cuchilla Warner-Bratzler) permitió determinar las ventajas e inconvenientes de cada uno. Los coeficientes de variación estimados señalaron la conveniencia de utilizar la cuchilla WB con carne cocida que presenta además la ventaja con respecto al método de tracción que se pueden obtener mayor número de muestras por músculo siendo mayor facilidad en el corte de las mismas.

-El proceso de interconversión de los pigmentos musculares en carne bovina refrigerada y congelada en forma total ($T_f = -25^{\circ}\text{C}$) y parcial ($T_f = -5^{\circ}\text{C}$) fue modelado mediante ecuaciones cinéticas que representaron satisfactoriamente el comportamiento de los pigmentos durante los procesos de oxigenación y oxidación.

-La formación de MbO₂ y MetMb en carne envasada en polietileno y refrigerada a las temperaturas ensayadas, respondía a un esquema de reacciones reversibles simultáneas a partir de la Mb. En las muestras tratadas con SorK se observó un considerable incremento de la velocidad de formación de MetMb.

-El tratamiento con SorK en carnes envasadas en polietileno resultó perjudicial desde el punto de vista de la coloración superficial ya que a pesar de que la carne se mantiene microbiológicamente apta ($N < 10^7$ UFC/cm²) se acelera la formación de MetMb.

-En el caso de utilizar almacenamiento al vacío, el SorK prolonga la vida útil del producto tanto desde el punto de vista microbiológico como de la estabilidad del color ya que no afecta la capacidad de oxigenación del tejido, obteniéndose apreciables ventajas con respecto a la calidad del producto debido al considerable incremento en la vida útil del producto obtenido.

-Las velocidades de congelación y descongelación utilizadas son típicas de la superficie externa de carnes procesadas en condiciones industriales. Variaciones en estos parámetros no in-

fluyeron significativamente en las concentraciones relativas de los pigmentos musculares (Mb, MbO₂ y MetMb).

-Modificaciones en la temperatura final de congelación produjeron cambios en el modelo cinético propuesto. En carne parcialmente congelada se estableció un modelo reversible cíclico en el cual la autooxidación de la MbO₂ era más rápida que la oxidación de la Mb. Cuando la temperatura final de congelación descendió a -25°C se observó un notable incremento de la oxidación de la MbO₂ atribuido al aumento de la concentración de solutos en la fase no congelada; de forma tal que la única reacción detectada durante el almacenamiento congelado fue la producción de MetMb a partir de MbO₂.

-El aumento del tiempo previo de almacenamiento al vacío produjo un descenso en la capacidad de oxigenación de la muestra debido a la pérdida de actividad del sistema enzimático reductor presente naturalmente en el músculo.

-Durante la oxigenación de muestras refrigeradas, se observó solamente la formación de MbO₂; mientras que en muestras congeladas hasta -5 y -25°C, el modelo propuesto para la interconversión de los pigmentos musculares correspondía a un sistema de reacciones reversibles en serie.

-El uso de técnicas de envasado al vacío para almacenar carne bovina congelada condujo a un aumento en la estabilidad del color; la concentración de equilibrio de MbO₂ luego de la oxigenación de muestras congeladas hasta -25°C se mantuvo

prácticamente constante por periodos mayores de 200 días a -13 y -20°C mientras que los valores de MetMb fueron en todos los casos inferiores al límite de 0.5.

-La coloración superficial de muestras parcialmente congeladas envasadas en ambos tipos de películas fue superior a la de muestras congeladas en la forma tradicional considerando un periodo de almacenamiento inferior a 80 días.

-El estudio de las modificaciones de la concentración de pigmentos musculares (Mb, MbO₂ y MetMb) durante el almacenamiento refrigerado y congelado tanto en forma total como parcial, de carnes bovinas envasadas en películas de alta y baja permeabilidad gaseosa permitió determinar desde el punto de vista de la coloración superficial, periodos de aceptabilidad para estos productos, posibilitando así el incremento de su calidad y una mayor flexibilidad en su comercialización.

Ma. Lourenço

BIBLIOGRAFIA

- Aleman, M. P., Kakuda, K. y Uchiyama, H. 1982. Partial freezing as a mean of keeping freshness of fish. Bull. Tokai Reg. Fish. Res. Lab. 106: 11.
- AOAC. 1980. "Official Methods of Analysis" W. Horwitz, ed. Method 20: 104. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC.
- Aris, R. 1965. Introduction to the Analysis of Chemical Reactors. Prentice Hall Inc. (Ed.) Englewood Cliffs, New Jersey.
- Atkinson, J. L. and Follet, M. J. 1973. Biochemical studies on the discoloration of fresh meat. J. Food. Technol. 8: 51.
- Attrey, D. P. y Sharma, T. R. 1979. Estimation of fresh mutton color by reflectance spectrophotometry. J. Food Sci. 44: 918.
- Bendall, J. R. 1980. The electrical stimulation of carcasses of meat animals. En "Developments in meat science 1". Lawrie, R. A. (Ed.) p. 37. Applied Science Publishers Ltd. London, England.
- Bevilacqua, A. E. and Zaritzky, N. E. 1986. Rate of pigment modifications using reflectance spectrophotometry. J. Food Proc. and Preserv. 10: 1.
- Bevilacqua, A. E. and Zaritzky, N. E. 1988. Oxygen difussion in meat tissues. Int. J. Heat Mass Transfer. 31: (5), p.923.
- Bourne, M. C. 1982. Effect of temperature on firmness of raw fruits and vegetables. J. Food Sci. 47: 440.
- Bouton, P. E., Carroll F. D., Fischer, A. L., Harris, P. V. y Shorthose, W. R. 1973a. Influence of pH and fiber contraction state upon factors affecting tenderness of bovine muscle. J. Food Sci. 38: 404.
- Bouton, P. E., Carroll F. D., Fischer, A. L., Harris, P. V. y Shorthose, W. R. 1973b. Effect of altering ultimate pH on

- bovine muscle tenderness. J. Food Sci. 38: 216.
- Bouton, P. E., Fischer, A. L., Harris, P. V. y Baxter, R. L. 1973c. A comparison of the effect of some post-slaughter treatments on the tenderness of beef. J. Food Technol. 8: 39.
- Bouton, P. E., Harris, P. V. 1972a. A comparison of some objective methods to assess meat tenderness. J. Food Sci. 37: 218.
- Bouton, P. E., Harris, P. V. 1972b. The effect of cooking temperature and time on some mechanical properties of meat. J. Food. Sci. 37:140.
- Bouton, P. E., Harris, P. V. 1972c. The effect of some post slaughter treatments on the mechanical properties of bovine and ovine muscles. J. Food Sci. 37: 539.
- Bouton, P. E., Harris, P. V. y MacFarlane, J. J. 1982. Influence of pH on the Warner-Bratzler shear properties of mutton. Meat Sci. 6: 27.
- Bouton, P. E., Harris, P. V. y Shorthose, W. R. 1972. The effect of ultimate pH on ovine muscle holding capacity. J. Food Sci. 37: 351.
- Bouton, P. E., Harris, P. V. y Shorthose, W. R. 1975a. Possible relationships between shear, tensile and adhesion properties of meat and meat structure. J. Texture Studies. 6: 297.
- Bouton, P. E., Harris, P. V. y Shorthose, W. R. 1975b. Changes in shear parameters of meat associated with structural changes produced by aging, cooking and myofibrillar contraction state. J. Food Sci. 40: 1122.
- Box, G. P., Hunter, W. H. y Hunter, J. S. 1978. Statistic for Experimenters. J. Wiley & Sons (Eds.) New York.
- Brooks, J. 1935. The oxidation of haemoglobin to methaemoglobin by oxygen-II. The relation between the rate of oxidation and the

- partial pressure of oxygen. Proc. R. Soc. London Ser.. B 118, 560.
- Broumand, H., Ball, C. O. y Stier, E. F. 1958. Factors affecting the quality of prepackaged beef IIe. Determining the proportions of heme derivatives in fresh meat. Food Techn. 12: 65.
- Brown, W. D. and Dolev, A. 1963. Effect of freezing on autoxidation of oxymyoglobin solutions. J. Food Sci. 28: 211.
- Brown, D. W. and Mebine, B. L. 1968. Autoxidation of oxymyoglobins. J. Biol. Chem. 244 : 6696.
- Carroll, R.J., Cavanaugh, J. R. y Rorer, F. P. 1981. Effect of frozen storage on the ultrastructure of bovine muscle. J. Food Sci. 46: 1091.
- Castro, C. E. 1971. Theory of hemeprotein reactivity. J. Theor. Biol. 33: 475.
- Cheftel, J. C. y Cheftel, H. 1976. Los principales sistemas bioquímicos alimentarios. Comportamiento durante los tratamientos. Carne y pescado. En "Introducción a la bioquímica y tecnología de alimentos". Vol. I. pp. 65. Editorial Acribia, Zaragoza, España.
- Cheng, C. S. y Parrish, F. C. 1977. Molecular changes in the salt-soluble myofibrillar proteins of bovine muscle. J. Food Sci. 43: 461.
- Chu, Y. H., Huffman, G. R., Trout, G. R. y Egbert, W. R. 1987. Color and color stability of frozen restructured beef steaks: effect of sodium chloride, tripolyphosphate, nitrogen atmosphere and processing procedures. J. Food Sci. 52: 869.
- Clark, D. S. and Lentz, C. P. 1972. Use of carbon dioxide for extending shelf-life of prepackaged beef. Can. Inst. Food

- Sci. Technol. J. 5: 175.
- Culler, R. D., Parrish, Jr. F. C., Smith, G. C. y Cross, H. R. 1978. Relationship of myofibrillar fragmentation index to certain chemical, physical and sensory characteristics of bovine longissimus muscle. J. Food Sci. 43: 1177.
- Currie, R. W. y Wolf, F. H. 1980. Rigor related changes in mechanical properties (tensile and adhesive) and extracellular space in beef muscle. Meat Sci. 4: 123.
- Cutaia, A. J. and Ordal, Z. J. 1964. Pigment changes in anaerobically packaged ground beef. Food Technol. 18: 163.
- Davey, C. L. Y Gilbert, K. V. 1969. The effect of sample dimensions on the cleaving of meat in the objective assesment of tenderness. J. Food Technol. 4: 7.
- Davey, C. L. Y Gilbert, K. V. 1976. The temperature coefficient of beef aging. J. Sci. Fd. Agric. 27: 244.
- Dayton, W. R., Goll, D. E., Zeece, M. C., Robson, R. M. y Reville, W. J. 1976. Biochem. 15: 2150. Citado en: Penny, I. F. "Developments in Meat Science. 1". Lawrie, R. A. (Ed.) p. 115. Applied Science Publishers Ltd. London, England.
- Dean, R. W. and Ball, C. O. 1960. Analysis of the myoglobin fractions on the surfaces of beef cuts. Food Techn. 14,468.
- Dransfield, E., Jones, R. C. D. y MacFie, H. J. H. 1980a. Quantifying changes in tenderness during storage of beef. Meat Sci. 5: 131.
- Dransfield, E., Jones, R. C. D. y MacFie, H. J. H. 1980b. Tenderizing in M. Longissimus dorsi of beef, veal, rabbit, lamb and pork. Meat Sci. 5: 138.
- Draper, N. and Smith, H. 1981. "Applied Regression Analysis". 2nd. John Wiley & Sons. N. Y. Chichester, Brisbane, Toronto,

Singapore.

- Draudt, H. N. 1972. Changes in meat during cooking. Proc. 25th. Ann. Reciprocal Meat Conf. of the American Meat Sci. Assoc. Iowa State Univ. 243. National Livestock and Meat Board. Chicago Ill.
- Eagerman, B. A., Clydesdale, F. M. y Francis, F. J. 1978. A rapid reflectance procedure for following myoglobin oxidative or reductive changes in intact beef. J. Food Sci. 43: 468.
- Effenberg, G. Y Schotte, K. 1972. Verpackung von Fleisch und Fleischwaren. Verlag der Rhein Hessischen Druckwertstatte Alzey.
- Eino, M. F. y Stanley, D. W. 1973a. Catheptic activity, textural properties and surface ultrastructures of post-mortem beef muscle. J. Food Sci. 38: 45.
- Eino, M. F. y Stanley, D. W. 1973b. Surface ultrastructure and tensile properties of cathepsin and collagenase treated muscle fibers. J. Food Sci. 38: 51.
- FAO/OMS. 1974. Joint Expert Committee on Food Additives-17th. Report. Who Techn. Rep. Ser., No. 539. World Health Organization, Geneva.
- Fennema, O. R. 1973. Nature of the freezing process. En: "Low temperature preservation of foods and living matter".
- Fennema, O. R., Powrie, W. D. y Marth, E. H. (Eds.) pp. 197.
- Fennema, O. R. 1975a. Activity of enzymes in partially frozen aqueous systems. En "Water relations of foods". Duckworth, R. B. (Ed.) p. 397. Academic Press, London, New York.
- Fennema, O. R. 1975b. Reaction kinetics in partially frozen aqueous systems. En "Water relations of foods". Duckworth, R. B. (Ed.) p. 539. Academic Press, London, New York.

- FIDE (Fundación de investigaciones para el desarrollo). 1985.
Coyuntura y desarrollo. 81: 38.
- Field, R. A., Nelms, G. E. y Schoonver, C. O. 1968. J. Animal Sci.
En: "Low temperaure preservation of foods and living matter".
Fennema, O. R., Powrie, W. D. y Marth, E. H. (Eds.) pp. 283.
- Fox Jr., J. B. 1966. The chemistry of meat pigments. J. Agric.
Food Chem. 14: 247.
- Franke, W. C. y Solberg, M. 1971. Quantitative determinations of
metmyoglobin and total pigment in an intact meat sample using
reflectance spectrophotometry. J. Food Sci. 36: 515.
- Froment, G. F. and Hosten, L. H. 1981. "Catalysis-Science and
Technology". John R. Anderson and Michel Boudart (Eds).
Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York.
- George, A. R., Bendall, J. R. y Jones, R. C. D. 1980. The
tenderizing effect of electrical stimulation of beef
carcasses. Meat Sci. 4: 51.
- George, P. and Stratmann, C. J. 1952. The oxidation of myoglobin
to metmyoglobin by oxygen. II. The relation between the first
order rate constant and the partial pressure of oxygen.
Biochem. J. 51: 418.
- Gibbard, G., Lee, F., Gibbard, S. y Bilinsky, E. 1981/84.
Transport of salmon over long distances by partial freezing
in RSW vessels. En "Advances in the refrigerated treatment of
fish". Commissions C2-D1-D2-D3, Boston (USA) 1981/84.
International Institute of Refrigeration (Ed.) p. 285. Paris.
- Hiddings, G. G. 1974. Reduction of ferrinyoglobin in meat. CRC
Crit. Rev. Food Technol. 5: 143.
- Hiddings, G. G. 1977. The basis of color in muscle foods. CRC
Crit. Rev. Food Science and Nutrition. Abril: 81.

- Giddings, G. G. and Markakis, P. 1973. On the interaction of myoglobin and hemoglobin with molecular oxygen and its lower oxidation states and with cytochrome c. *J. Food Sci.* 38: 705.
- Gotoh, T. y Shikima, K. 1976. Generation of the superoxide radical during autoxidation of oxymyoglobin. *J. Biochem.* 80: 397.
- Greer, G. G. 1982. Mechanism of beef shelf life extension by sorbate. *J. Food Protect.* 45: 82.
- Hagler, L., Coppes Jr., R. I., and Herman, R. H. 1979. Metanyoglobin reductase. Identification and purification of a reduced nicotinamide adenine dinucleotide-dependent enzyme from bovine heart which reduces metanyoglobin. *J. Biol. Chem.* 254: 6505.
- Harris, P. V. 1976. Structural and other aspects of meat tenderness. *J. Texture Studies*, 7: 49.
- Himmelblau, D. H. 1970. *Process Analysis by Statistical Methods.* J. Wiley & Sons (Eds.) New York.
- Hiner, H. L. 1951. Proc. 2nd. Meat Industry Res. Conf. Am. Meat Inst. Found., En: "Low temperaure preservation of foods and living matter". Fennema, O. R., Powrie, W. D. y Marth, E. H. (Eds.) pp. 283.
- Hood, D. E. 1980. Factors affecting the rate of metanyoglobin accumulation in pre-packaged beef. *Meat Sci.* 4: 247.
- Hood, D. A. 1983. The chemistry of vacuum and gas packaging of meat. En "Recent advances in the chemistry of meat". Bailey, A. J. (Ed.) ARC Meat Research Institute. The Royal Society of Chemistry. Burlington House, London W1V 0BN.
- Hood, D. E. and Riordan, E. B. 1973. Discoloration in pre-packaged beef: measurement by reflectance spectrophotometry and shopper discrimination. *J. Food Technol.* 8: 33.

- Hubbard, B. D. y Lazarides, E. 1978. J. Cell Biol. En: Developments in meat science. Vol. 1. pp. 115.
- Hunt, M. C. y Hedrick, B. 1977. Chemical, physical and sensory characteristics of bovine muscles from four quality groups. J. Food Sci. 42: 716.
- Jul, M. 1984. The Quality of Frozen Foods, pp. 33-43, Academic Press, London NW1.
- Kastner, C. L. y Henrickson, R. L. 1969. Providing uniform meat cores for mechanical shear force measurements. J. Food Sci. 34: 603.
- Katsaras, K., Teztlaff, G. y Budras, K. D. Morphological changes in beef musculature during aging. Fleischwirtschaft. 64: (10), 1222.
- Khan, A. W. 1977. Some factors causing variation in the texture of similar muscles from comparable animals. Meat Sci. 1: 169.
- Kortum, G. 1969. "Reflectance Spectroscopy". Springer-Verlag, New York.
- Krzywicki, K. 1979. Assesment of relative content of myoglobin, oxymyoglobin and metmyoglobin at the surface of beef. Meat Sci. 3: 33.
- Lanier, T. C. Carpenter, J. A., and Toledo, R. T. 1977. Effects of cold storage environment on color of exposed lean beef surfaces. J. Food Sci. 42: 860.
- Larmond, E., Petrosovits, A. y Hill, P. 1969. Aplication of multiple paired comparisons in studying the effects of aging and finish on beef tenderness. Can. J. Animal Sci. 49: 51.
- Law, H. M. Yang S. P., Mullins A. M. y Fielder, M. M. 1967. J. Food Sci. 32: 637. En: "Low temperaure preservation of foods and living matter". Fennema, O. R., Powrie, W. D. y Marth, E.

- H. (Eds.) pp. 283.
- Lawrie, R. A. 1974. *Ciencia de la carne*. Ed. Acribia. Zaragoza, España.
- Ledward, D. A. 1970. Metamyoglobin formation in beef stored in carbon dioxide enriched and oxygen depleted atmospheres. *J. Food Sci.* 35: 33.
- Ledward, D. A. 1971. Some observations on myoglobin and lipid oxidation in frozen beef. *J. Food Sci.* 36: 987.
- Ledward, D. A. 1984. Haemoproteins in meat and meat products. En "Developments in Food Proteins". Hudson, B. J. F. (Ed.) Elsevier Applied Science Publishers LTD. Ripple Road, Barking, Essex, England.
- Ledward, D. A. 1985. Post-slaughter influences on the formation of metmyoglobin in beef muscles. *Meat Science.* 15: 149.
- Ledward, D. A. and Macfarlane, J. J. 1971. Some observations on myoglobin and lipid oxidation in frozen beef. *J. Food Sci.* 36: 987.
- Ledward, D. A., Nicol, D. J., and Shaw, M. K. 1971. Microbiological and colour changes during ageing of beef. *Food Technol. (Australia).* 1: 30.
- Ledward, D. A., Smith, C. G., Clarke, H. M., and Nicholson, M. 1977. Relative role of catalysts and reductants in the formation of metamyoglobin in aerobically stored beef. *Meat Sci.* 1: 149.
- Lee, H. M., Brooks, R. F., Pearson, A. M. Miller, J. I. y Volz, F. 1950. *Food Res.* 15: 8. Citado en: "Low temperature preservation of food and living matter". Fennema, O. R., Powrie, W. D. y Marth, E. H. (Eds.) Marcel Dekker, Inc., New York. p. 283.

- Lentz, C. P. 1979. Effect of light intensity and other factors on the color of frozen prepackaged beef. *Can. Inst. Food Sci. and Technol.* 12: 47-50.
- Livingston, D. J. and Brown, W. D. 1981. The chemistry of myoglobin and its reactions. *Food Technol.* 5: 244.
- Locker, R. H. y Daines, G.J. 1973. The effect of repeated freeze-thaw cycles on tenderness and cooking loss in beef. *J. Sci. Fd. Agric.* 24: 1273.
- Locker, R. H., Daines, G. J., Carse, W. A. and Leet, N. G. 1977. Meat tenderness and the gap filaments. *Meat Sci.* 1: 87.
- Locker, R. H. y Leet, N. G. 1976. Histology of highly stretched beef muscle. II. Further evidence for the location and nature of gap filaments. *J. Ultrastructure Res.* 55: 157.
- Locker, R. H. y Wild, D. J. C. 1982. A machine for measuring yield point in raw meat. *J. Texture Studies.* 13: 71.
- MacBride, M. A. y Parrish, Jr. F. C. 1977. The 30 K dalton component of tender bovine longissimus muscle. *J. Food Sci.* 42: 1627.
- MacDougall, D. B. 1970. Characteristics of the appearance of meat I. The luminous absorption scatter and internal transmittance of the lean of bacon manufactures from normal and pale pork. *J. Sci. Food Agric.* 21: 568.
- MacDougall, D. B. 1971. The effect of time and storage temperature on consumer quality. 17th. European Meeting of Meat Research Workers. Bristol 8:1.
- MacDougall, D. B. 1982. Changes in color and opacity of meat. *Food Chemistry.* 9, 75-88.
- Mackenzie, A. P. 1975. The physico-chemical environment during freezing and thawing of biological material. En "Water

- relations of foods". Duckworth, R. B. (Ed.) pp. 477. Academic Press, London, New York.
- Marsh, B. B., Lockner, J. V. y Kragness, D. 1980. Effects of early post-mortem pH and temperature on beef tenderness. *Meat Sci.* 5: 479.
- Martino, M. N. y Zaritzky, N. E. Ice crystal size modifications during frozen beef storage. *J Food Sci.* En prensa.
- Mascheroni, R. H. y Calvelo, A. 1980. Relationship between heat transfer parameters and the characteristic damage variable for the freezing of beef. *Meat Sci.* 4: 267.
- Matsumoto, J. J. 1979. Denaturation of fish muscle proteins during frozen storage. En: "Proteins at low temperatures". Fennema, O. (Ed.) p. 205. *Adv. in Chemistry Series*, Washington D. C.
- Neter, J. and Wasserman, W. 1974. "Applied Linear Statistical Models". D. Pirchard Irwin Inc., Homewood, IL.
- Nottingham, P. M. 1982. Microbiology of carcass meats. En "Meat microbiology". Brown, M. H. (Ed.) p. 13. Applied Science Publishers Ltd. London, England.
- O'Keefe, M. and Hood, D. E. 1980-81a. Anoxic storage of fresh beef. 1: Nitrogen and carbon dioxide storage atmospheres. *Meat Sci.* 5: 27.
- O'Keefe, M. and Hood, D. E. 1980-81b. Anoxic storage of fresh beef. 2: Colour stability and weight loss. *Meat Sci.* 5: 267.
- O'Keefe, M. and Hood, D. E. 1982. Biochemical factors influencing metamyoglobin formation on beef from muscles of differing colour stability. *Meat Sci.* 7: 209.
- Olson, D. G. y Parrish Jr., F. C. 1977. Relationship of myofibrillar fragmentation index to measures of beefsteak tenderness. *J. Food Sci.* 42: 506.

- Olson, D. G., Parrish Jr., F. C., Dayton, W. R. y Goll, D. E. 1977. Effect of postmortem storage and calcium activated factor on the myofibrillar proteins of bovine skeletal muscle. J. Food Sci. 42: 117.
- Olson, D. G., Parrish Jr., F. C., y Stromer, M. A. 1976. Myofibrillar fragmentation index and shear resistance of three bovine muscle during postmortem storage. J. Food Sci. 41: 1036.
- Ordoñez, J. A. y Ledward, D. A. 1977. Lipid and myoglobin oxidation in pork stored in oxygen- and carbon dioxide-enriched atmosphere. Meat Sci. 1: 41.
- Ouali, A. 1984. Sensitivity of ionic strength of Mg-Ca enhanced ATPase activity as an index of myofibrillar aging of beef. Meat Sci. 11: 79.
- Pearson, A. M. y Miller, J. I. J. Animal Sci. 9: 13. en: "Low temperature preservation of food and living matter". Fennema, O. R., Powrie, W. D. y Marth, E. H. (Eds.) p. 283. Marcel Dekker, Inc., New York.
- Penny, I. F. 1974. The action of a muscle proteinase on the myofibrillar proteins of bovine muscle. J. Sci. Food Agric. 25: 1273.
- Penny, I. F. 1980. The enzymology of conditioning. En "Developments in meat science 1". Lawrie, R. A. (Ed.) p. 115. Applied Science Publishers Ltd. London, England.
- Penny, I. F. y Dransfield, E. 1979. Relationship between toughness and Troponin T in conditioned beef. Meat Sci. 3: 121.
- Penny, I. F. y Ferguson-Pryce, R. 1979. Measurement of autolysis on beef muscle homogenates. Meat Sci. 3: 121.
- Pierson. M. D., Collins-Thompson, D. L., and Ordal, Z. J. 1970.

- Microbiological, sensory and pigment changes of aerobically and anaerobically packaged beef. *Food Technol.* 24:117.
- Pool, M. F. y Klose, A. A. 1968. The relation of force to sample dimensions in objective measurements of tenderness of poultry meat. *J. Food Sci.* 34: 524.
- Powrie, W. D. 1973. Characteristics of food myosystems and their behavior during freezing preservation. p. 302. En: "Low temperature preservation of food and living matter".
- Fennema, O. R., Powrie, W. D. y Marth, E. H. (Eds.) Marcel Dekker, Inc., New York.
- Price, J. F. y Schweigert, B. S. 1976. Introducción. En "Ciencia de la carne y de los productos cárneos". Price, J. F. y Schweigert, B. S. (Eds.) p.624. Editorial Acribia, Zaragoza, España.
- Quinn, J. R., Raymond, A. P. y Larmond, E. 1979. Instrumental measurement of wiener texture. *J. Can. Inst. Sci. Technol. Aliment.* 12 (3): 154.
- Riedel, L. 1957. Kalorimetrische untersuchungen über das gefrieren von fliesh. *Kaltetechnik* 9: 38.
- Robach, D.L. y Costilow, R. N. 1961. Role of bacteria in the oxidation of myoglobin. *Appl. Microbiol.* 9: 529.
- Saleh, B. and Watts, B. M. 1968. Substrates and intermediates in the enzymatic reduction of metanyoglobin in ground beef. *J. Food Sci.* 33: 353.
- Salvadori, V. O., Reynoso, R. O., de Michelis, A. y Mascheroni, R. H. 1988. Freezing time predictions for regular shaped foods: a simplified graphical method. *Int. J. Refrig.* 10: 357.
- Saterlee, L. D. and Hansmeyer, W. 1974. The role of light and surface bacteria in the color stability of prepackaged beef.

- J. Food Sci. 39: 305.
- Smith, M. C., Judge, M. D. y Stadelman, W. S. 1969. J. Food Sci. 34: 42. En: "Low temperature preservation of food and living matter". Fennema, O. R., Powrie, W. D. y Marth, E. H. (Eds.) Marcel Dekker, Inc., New York.
- Snyder, H. E. 1965. Analysis of pigments at the surface of fresh beef with reflectance spectrophotometry. J. Food Sci. 30: 457.
- Snyder, H. E. y Skrdlant, H. B. 1966. The influence of metallic ions on the autoxidation of oxymyoglobin. J. Food Sci. 31: 1966.
- Sofos, J. N. and Busta, F. F. 1983. "Antimicrobials in foods". A. L. Branen and P. M. Davidson". (Eds.) Maroel Dekker Inc. N. Y.
- Stanley, D. W. 1974. The influence of aging on the texture and stucture of beef muscle. Proc. Meat Ind. Res. Conf., Am. Meat Inst. Found., 109.
- Stanley, D. W. 1976. The texture of meat and its measurement. En "Rheology and texture in meat quality". deMan, J. H., Voisey, P. W., Rasper, V. F. and Stanley, D. W. (Eds). p. 405. The AVI publishing Company, Inc. Westport, Connecticut.
- Stanley, D. W. 1983. Relation of structure to physical properties of animal material. En: "Pysical properties of foods". Peleg, M. and Bagley, E. B. (Eds.) AVI Publishing Co. Inc. Westport, Connecticut.
- Stanley, D. W. y Brown, R. G. 1973. The fate of intramuscular connective tissue in aged beef. Proc. Meat Res. Workers, p. 231.
- Stanley, D. W., Pearson, G. P. y Coxworth, V. E. 1971. Evaluation

- of certain physical properties of meat using the universal testing machine. *J. Food Sci.* 39: 256.
- Stewart, M. R., Zipser, M. W. y Watts B. M. 1965. The use of reflectance spectrophotometry for the assay of raw meat pigments. *J. Food Sci.* 30: 464.
- Strange, E. D., Benedict, R. C., Ginger, R. E. Metzger, V. G. and Swift, C. E. 1974. Simplified methodology for measuring meat color. *J. Food Sci.* 39: 988.
- Suzuki A. Nonami, Y. y Goll, D. E. *Agric. Biol Chem. En:*
"Developments in meat science 1". Lawrie, R. A. (Ed.) p. 115.
Applied Science Publishers Ltd. London, England.
- Szczesniak, A. S. y Torgeson, K. W. 1965. Methods of meat texture measurement viewed from the background of factors affecting tenderness. *En: "Advances in Food Research". Vol. 14.*
Chichester, C. V., Mrak, E. M. y Stewart, G. F. (Eds.) p. 33.
Academic Press, New York.
- Taylor, A. A. 1985. Packaging fresh meat. *En "Developments in meat science 3".* Lawrie, R. A. (Ed.) p. 89. Applied Science Publishers Ltd. London, England.
- Uchiyama, H. 1978. A survey of fish freshness in Thailand. SEAFDEC Training Department, Current Technical paper N°7.
- Valin, C., Touraille, C., Ouali, A. y Lacourt, A. 1981. Influence de la stimulation électrique sur la maturation et les qualités organoleptiques de la viande de boeuf. *Sci. Aliments.* 1: 467.
- Van Arsdel. W.B., 1968. Quality and Stability of Frozen Foods. Wiley-Interscience (Ed). pp. 186-197
- Van den Oord, A. H. A. 1974. The biochemical reduction of metanyoglobin and the colour stability of prepackaged beef.

- Fleischwirtschaft 54: 1803.
- Van Den Oord, A. H. A. y Wesdorp, J. J. 1971a. Analysis of pigments in intact beef samples. J. Food Technol. 6: 1.
- Van Den Oord, A. H. A. y Wesdorp, J. J. 1971b. Colour rating and pigment composition of beef. J. Food Technol. 6: 15.
- Voisey, P. W. y Larmond, E. 1974. Examination of factors affecting performance of the Warner-Bratzler shear test. Can. Inst. Food Sci. Technol. J. 7: 243.
- Voisey, P. W. y Larmond, E. 1977. The effect of deformation rate on the relationship between sensory and instrumental measurements of meat tenderness by the Warner-Bratzler method. Can. J. Food Sci. Technol. 10: 307.
- Voyle, C. A. 1981. Scanning electron microscopy in meat science. Scanning Electron Microsc. 1981/III, p. 405. En "Physical properties of foods". p. 195. Peleg, M. and Bagley, E. B. (Eds.) AVI Publishing Co. Inc. Westport, Connecticut.
- Wagner, J. R. y Añón, M. C. 1985. Effect of freezing rate on the denaturation of myofibrillar proteins. J. Fd. Technol. 20: 735.
- Wagner, J. R. y Añón, M. C. 1986a. Effect of frozen storage on protein denaturation in bovine muscle. I. Myofibrillar ATPase activity and differential scanning calorimetric studies. J. Fd. Technol. 21: 9.
- Wagner, J. R. y Añón, M. C. 1986b. Effect of frozen storage on protein denaturation in bovine muscle. II. Influence on solubility, viscosity and electrophoretic behaviour of myofibrillar proteins. J. Fd. Technol. 21: 547.
- Watts, B. M., Kendrick, J., Ziser, M. W., Hutchins, B. K. and Saleh, B. 1966. Enzymatic reductions pathways in meat. J.

- Food Sci. 31: 855.
- Weaver, R., Oudega, B. y Van Gelder, B. F. 1973. Generation of superoxide radicals during autoxidation of mammalian oxyhemoglobyn. Biochim. Biophys. Acta 302: 475.
- Wendlandt, W. N. and Hecht, H. G. 1966. "Reflectance Spectroscopy". Interscience Publishers, New York.
- Wilkinson, L. 1986. "Systat: The System for Statistics". Systat Inc., (Ed.) Evanston, IL.
- Wyszecki, G. y Stiles, W.S. 1967. Color science: Concepts and methods, quantitative data and formulas. New York, John Wiley & Sons, Inc. p. 229.
- Wu, J. J., Dutson, T. R. y Carpenter, Z. L. 1981. Effect of post mortem time and temperature on the release of lysosomal enzymes and their possible effect on bovine connective tissue components of muscle. J. Food Sci. 46: 1132.
- Yates, L. D., Dutson, T. R., Caldwell, J. S. y Carpenter, Z. L. 1983. Effect of temperature and pH on the postmortem degradation of myofibrillar proteins. Meat Sci. 9: 157.
- Zachariah, N. Y. and Saterlee, L. D. 1973. Effect of light, pH and buffer strength on the autoxidation of porcine, ovine and bovine myoglobins at freezing temperatures. J. Food Sci. 38, 418
- Zamora, M. C. 1985. Acción combinada de películas plásticas y preservadores químicos en el almacenamiento de carne bovina refrigerada. Tesis doctoral. Centro de Investigación y Desarrollo en Criotecología de Alimentos CIDCA. Universidad Nacional de La Plata. La Plata.
- Zamora, M. C. and Zaritzky, N. E. 1985. Modeling of microbial growth in refrigerated packaged beef. J. Food Sci. 50: 1003.

- Zamora, M. C. and Zaritzky, N. E. 1987a. Potassium sorbate inhibition of microorganisms growing in refrigerated beef. J. Food Sci. 52: 257.
- Zamora, M. C. and Zaritzky, N. E. 1987b. Antimicrobial activity of undissociated sorbic acid in vacuum-packaged beef. J. Food Sci. 52:1449.
- Zaritzky, N. E., Añón, M. C. and Calvelo, A. 1983. Rate of freezing effect on the colour of frozen beef liver. Meat Science, 7, pp. 299-312.

APENDICE 1.

Análisis de la existencia de diferencias significativas entre dos regresiones lineales (Neter y Wasserman, 1974)

Dadas las regresiones lineales correspondientes a los tratamientos 1 y 2 con n_1 y n_2 datos experimentales respectivamente

1) Se calcula la suma de cuadrados de cada regresión:

$$SCT_1 = \sum_{i=1}^{n_1} (y_{pred.11} - y_{exp.11})^2; \quad \phi = n_1 - 2$$

$$SCT_2 = \sum_{i=1}^{n_2} (y_{pred.12} - y_{exp.12})^2; \quad \phi = n_2 - 2$$

2) Se determina la regresión lineal de los tratamientos 1 y 2 combinados, calculándose la suma de cuadrados correspondiente:

$$SCT_{1-2} = \sum_{i=1}^{n_1+n_2} (y_{pred.1} - y_{exp.1})^2;$$

3) Cálculo del estadístico F:

$$F_{exp} = ((SCT_{1-2} - (SCT_1 + SCT_2))/2) / (SCT_1 + SCT_2)/(n_1 + n_2 - 4)$$

4) El F_{exp} debe compararse con F_{teor} al nivel de significación adecuado teniendo en cuenta que los grados de libertad (ϕ) son:

$$\phi_{numerador} = 2$$

$$\phi_{denominador} = n_1 + n_2 - 4$$

En el caso que $F_{exp} < F_{teor}$, se acepta la hipótesis nula, es decir que las dos regresiones presentan diferencias significativas.

APENDICE 2

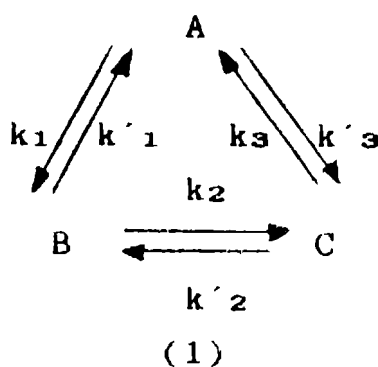
Solución analítica del modelo cíclico (Aris, 1965)

Considerando el siguiente sistema de reacciones (Modelo (1)) en el equilibrio se establece que:

$$b/a = K_1 = k_1/k'_1 \quad c/b = K_2 = k_2/k'_2 \quad a/c = K_3 = k_3/k'_3 \quad (54)$$

$$\text{entonces } K_1 K_2 K_3 = 1 \quad (55)$$

$$\text{y } k_1 k_2 k_3 = k'_1 k'_2 k'_3 \quad (56)$$



Considerando $a + b + c = 1$ y una cinética de primer orden los balances de materia resultaron:

$$da/dt = -(k_1 + k'_3)a + k'_1b + k_3c \quad (57)$$

$$db/dt = k_1a - (k'_1 + k_2)b + k'_2c \quad (58)$$

$$dc/dt = k'_3a + k_2b - (k'_2 + k_3)c \quad (59)$$

Se trata de encontrar una combinación lineal de a , b y c para la cual las ecuaciones diferenciales sean más simples. En particular deben encontrarse valores de α , β y Φ tal que si:

$$g = \alpha a + \beta b + \Phi c \quad (60)$$

$$\text{entonces} \quad dg/dt = L g \quad (61)$$

Sustituyendo en la Ec. (61) la expresión de g (Ec. (60)) y utilizando las Ecs. (57) a (59), α , β y Φ deben ser tales que:

$$-\alpha (k_1 + k'_3) + \beta k_1 + \Phi k'_3 = L\alpha \quad (62)$$

$$\alpha k'_1 - \beta (k'_1 + k_2) + \Phi k_2 = L\beta \quad (63)$$

$$\alpha k_3 + \beta k'_2 - \Phi (k'_2 + k_3) = L\Phi \quad (64)$$

Las expresiones (62) a (64) son ecuaciones simultáneas y homogéneas para α , β y Φ y no tienen solución (excepto $\alpha = \beta = \Phi = 0$) a no ser que el determinante de los coeficientes sea nulo.

$$\begin{vmatrix} L + k_1 + k'_3 & -k_1 & -k'_3 \\ -k'_1 & L + k'_1 + k_2 & -k_2 \\ -k_3 & -k'_2 & L + k'_2 + k_3 \end{vmatrix} = 0 \quad (65)$$

La solución para (65) es una expresión cúbica en L que puede escribirse como:

$$L (L^2 + Q L + M) = 0 \quad (66)$$

$$\text{donde } Q = k_1 (1 + 1/K_1) + k_2 (1 + 1/K_2) + k_3 (1 + 1/K_3) \quad (67)$$

$$\text{y } M = k_2 k_3 (1 + 1/K_3 + 1/K_2 K_3) + k_1 k_3 (1 + 1/K_1 + 1/K_1 K_3) + k_1 k_2 (1 + 1/K_2 + 1/K_1 K_2) \quad (68)$$

Las raíces de la ecuación son $L = 0$, $L = -L_1$ y $L = -L_2$; las raíces L_1 y L_2 corresponden al factor cuadrático). Con estos valores de L_1 y L_2 y a partir de las Ecs. (62) a (64) se pueden obtener α , β y Φ a partir de las Ecs. (62) a (64); de esta manera resulta:

$$g_1 = \alpha_1 a + \beta_1 b + \Phi_1 c = g_{10} e^{-L_1 t} \quad (69)$$

$$g_2 = \alpha_2 a + \beta_2 b + \Phi_2 c = g_{20} e^{-L_2 t} \quad (70)$$

$$g_3 = a + b + c = 1 \quad (71)$$

Las ecuaciones precedentes pueden resolverse para a , b y c siendo la solución de la forma:

$$a(t) = A_{10} e^{0t} + A_{11} e^{-L_1 t} + A_{12} e^{-L_2 t} \quad (72)$$

$$b(t) = A_{20} e^{0t} + A_{21} e^{-L_1 t} + A_{22} e^{-L_2 t} \quad (73)$$

$$c(t) = A_{30} e^{0t} + A_{31} e^{-L_1 t} + A_{32} e^{-L_2 t} \quad (74)$$

donde los subíndices 1, 2 y 3 representan a los componentes del sistema a , b y c respectivamente. Las constantes A_1 , A_2 , B_1 , B_2 , C_1 y C_2 se determinan a partir de los valores iniciales de a , b y c .