

TESIS DE MAESTRÍA
TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS

“Efecto de la aplicación de tratamientos
térmicos asistidos por altas presiones
hidrostáticas sobre los parámetros
tecnológicos, de color y textura de músculo
Superficial pectoralis bovino”

Autor: Vet. Eric Alexander Wilder
Director de Tesis: Dra. Natalia Szerman
Codirector: Dr. Sergio Ramón Vaudagna

Buenos Aires - 2020

A mi familia y a mi novia, Sabrina Barmak, por todo
el apoyo para emprender este desafío.

Agradecimientos

En primer lugar, a la Dra. Natalia Szerman, por su paciencia, consejos y enseñanzas, sin los cuales no podría haber realizado la presente Tesis. Al Tec. Luis Claudio Sanow por su constante apoyo y predisposición para la realización de las distintas etapas experimentales, al Dr. Sergio Vaudagna por otorgarme la posibilidad aprender y realizar esta experiencia en el INTA, a Ms. Ana María Sancho por sus conocimientos e indispensables aportes para el tratamiento estadístico de los datos. A mi compañera Antonella Andreone por la colaboración y compañerismo durante la etapa experimental y a todo el equipo del Instituto Tecnología de Alimentos (ITA) de INTA Castelar.

Índice

Lista de abreviaturas	5
Resumen.....	6
Palabras clave: Altas presiones hidrostáticas, carne bovina, color, rendimiento, textura, tratamiento térmico.	6
Abstract.....	7
Capítulo I: Antecedentes	8
1. Introducción	8
2. Altas presiones hidrostáticas	9
2.1. <i>Reseña histórica</i>	9
2.2. <i>Definición y principios básicos</i>	10
2.3. <i>Tipos de equipos de APH</i>	11
2.3.1 <i>Tipos de compresión</i>	12
2.3.2 <i>Funcionamiento del equipo de APH Stansted Fluid Power</i>	14
3. Etapas del proceso con APH	19
4. Evolución de la presión y la temperatura durante el procesamiento con APH	20
5. Definición de carne y corte anatómico utilizado.....	22
5.1. <i>Estructura del músculo esquelético</i>	22
5.2. <i>Parámetros de estudio</i>	25
6. Principales efectos de la aplicación de APH en carnes rojas	32
7. Objetivo general	34
Capítulo II: Materiales y métodos	35
1. Materia prima	35
2. Diseño experimental.....	35
3. Preparación de las muestras	36
4. Aplicación de los tratamientos de APH	37
5. Cocción.....	38
6. Análisis de las muestras	38
6.1. <i>Determinación de pH</i>	38
6.2. <i>Pérdidas de peso y rendimiento total</i>	38
6.3. <i>Humedad expresable</i>	39
6.4. <i>Parámetros cromáticos</i>	39
6.5. <i>Resistencia al corte</i>	40
6.6. <i>Análisis del perfil de textura</i>	40
7. Análisis estadístico.....	40
Capítulo III: Resultados y discusión	42
1. Variación de pH	42
2. Pérdidas de peso y rendimiento total.....	45
2. Humedad expresable	50
3. Parámetros cromáticos	52
4. Resistencia al corte.....	59
5. Análisis de perfil de textura	61
6. Selección de los valores óptimos de los parámetros del proceso utilizando la función deseabilidad.....	63
Capítulo IV: Conclusiones.....	65
Anexo.....	72
1. Evolución de la temperatura y la presión durante los tratamientos.....	72
2. Evolución de la temperatura durante la cocción	75

Índice de Tablas

Tabla 1: Valores codificados y reales de los factores nivel de presión y temperatura.....	36
Tabla 2: Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de segundo orden correspondiente a las variaciones de pH luego del tratamiento APH (ΔpH_{APH}) y luego de la cocción (ΔpH_C) de músculos <i>Superficial pectoralis</i> bovinos tratados con APH.	43
Tabla 3: Coeficientes de regresión para los modelos de regresión correspondientes a las variaciones de pH luego del tratamiento APH (ΔpH_{APH}) y luego de la cocción (ΔpH_C) de músculos <i>Superficial pectoralis</i> bovinos tratados con APH.	43
Tabla 4: Análisis de varianza (ANOVA) para el modelo de segundo orden correspondiente a la pérdida de peso luego del tratamiento de APH (PP_{APH}) y luego de la cocción (PP_C), rendimiento total (RT) y humedad expresable (HE) de músculos <i>Superficial pectoralis</i> bovinos tratados con APH.....	46
Tabla 5: Coeficientes de regresión para los modelos de regresión correspondientes a la pérdida de peso luego del tratamiento de APH (PP_{APH}) y luego de la cocción (PP_C) rendimiento total (RT) y humedad expresable (HE) de músculos <i>Superficial pectoralis</i> bovinos tratados con APH.....	47
Tabla 6: Análisis de varianza (ANOVA) modelo de segundo orden correspondientes a los parámetros cromáticos luego del tratamiento de APH (L^*_{APH} , a^*_{APH} y b^*_{APH}) y luego de la cocción (L^*_C , a^*_C y b^*_C) de músculos <i>Superficial pectoralis</i> tratados con APH.	53
Tabla 7: Coeficientes de regresión para los modelos de regresión correspondientes a los parámetros cromáticos luego del tratamiento de APH (L^*_{APH} , a^*_{APH} y b^*_{APH}) y luego de la cocción (L^*_C , a^*_C y b^*_C) de músculos <i>Superficial pectoralis</i> tratados con APH.	54
Tabla 8: Análisis de varianza (ANOVA) modelo de segundo orden correspondientes a la resistencia al corte (RC) y los parámetros de textura (dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad) de músculos <i>Superficial pectoralis</i> bovino tratados con APH.	59
Tabla 9: Coeficientes de regresión para los modelos de regresión correspondientes a resistencia al corte (RC) y los parámetros de textura (dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad) de músculos <i>Superficial pectoralis</i> bovino tratados con APH.....	60

Índice de Figuras

Figura 1: Esquema de equipo APH de compresión directa. Figura adaptada de Elamin <i>et al.</i> (2015).	13
Figura 2: Esquema de equipo discontinuo de APH, de compresión indirecta. Figura adaptada de Somerville (2009).....	14
Figura 3: Imagen del equipo de APH marca Stansted Fluid Power Ltd. modelo Iso-Lab System FPG9400:922. A: Módulo de control. B: Módulo prensa. C: Módulo de servicio.....	15
Figura 4: Imagen del módulo de control del equipo de APH marca Stansted Fluid Power Ltd. modelo Iso-Lab System modelo FPG9400:922.	16
Figura 5: Módulo prensa del equipo de APH marca Stansted Fluid Power Ltd. modelo Iso-Lab System modelo FPG9400:922. A) Cilindro de alta presión, B) Canasta para la carga de muestras.	17
Figura 6: Módulo de servicio del equipo de APH marca Stansted Fluid Power Ltd. modelo Iso-Lab System modelo FPG9400:922. A) Panel de control, B) Intensificadores, C) bombas de baja presión para el fluido de compresión, D) Válvulas de descompresión, E) Tanque de calentamiento del fluido de compresión.	18
Figura 7: Gráficos de presión-tiempo y temperatura-tiempo típicos durante un tratamiento con APH (Nguyen y Balasubramaniam, 2011).....	21

Figura 8: Esquema de estructura macroscópica de músculo estriado. Adaptado de Arenas (2011)	23
Figura 9: Sarcómero observado por microscopía electrónica. (Listrat <i>et al.</i> , 2016). A: Banda A I: Banda I, M: Línea M, Z: Línea Z.	24
Figura 10: Esquema de estructura de un sarcómero. Adaptado de https://biologydictionary.net/myofibril/	25
Figura 11: Analizador de textura marca Stable Micro Systems modelo TA.TX plus equipado con celda de Warner-Bratzler de cuchilla triangular	27
Figura 12: Analizador de textura marca Stable Micro Systems modelo TA.TX plus equipado con accesorio cilíndrico para ensayo TPA.	28
Figura 13: Esquema de un gráfico de fuerza en función del tiempo obtenido luego de la prueba de doble compresión.	29
Figura 14: Espacio de color CIELab (Minolta).	32
Figura 15: Muestras acondicionadas e identificadas previo a su almacenamiento	35
Figura 16: Superficie de respuesta del efecto de la temperatura y presión sobre la diferencia de pH luego de tratamiento APH (ΔpH_{APH}). -o- valores experimentales.	44
Figura 17: Superficie de respuesta del efecto de la temperatura y el nivel de presión sobre la pérdida de peso luego de tratamiento con APH (PP_{APH}). -o- valores experimentales.	47
Figura 18: Superficie de respuesta del efecto de la temperatura y el nivel de presión sobre la pérdida de peso luego de la cocción (PP_c). -o- valores experimentales.	48
Figura 19: Superficie de respuesta del efecto de la temperatura y el nivel de presión sobre el rendimiento total (RT). -o- valores experimentales.	50
Figura 20: Superficie de respuesta del efecto de la temperatura y el nivel de presión sobre la humedad expresable (HE). -o- valores experimentales.	51
Figura 21: Superficie de respuesta del efecto de la temperatura y el nivel de presión sobre los parámetros cromáticos L^*_{APH} (a) a^*_{APH} (b) y b^*_{APH} (c) -o- valores experimentales.	55
Figura 22: Fotografías de las muestras de carne: a) luego del tratamiento de APH, b) luego de la cocción	58
Figura 23: Superficie de respuesta del efecto de la temperatura y el nivel de presión sobre la resistencia al corte (RC). -o- valores experimentales.	61
Figura 24: Superficie de respuesta del efecto de la temperatura y el nivel de presión sobre la dureza (N). -o- valores experimentales.	62
Figura 25: Perfiles de los valores predichos y deseabilidad para las variables rendimiento total (RT), resistencia al corte (RC) y dureza, y los parámetros cromáticos L^*_{APH} , a^*_{APH} , L^*_c y a^*_c .	64

Lista de abreviaturas

AMSA: American Meat Science Association (Asociación Americana de Ciencia de la Carne).

APH: Altas presiones hidrostáticas.

HE: Humedad expresable.

INTA: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.

IPCVA: Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina.

ITA: Instituto Tecnología de Alimentos.

MPa: Mega pascales.

N: Newton.

PMT: Punto Mínimo de Tratamiento.

PLC: Programmable Logic Controller (Controlador Lógico Programable).

PP_{APH}: Pérdida de peso del tratamiento de APH

PP_C: Pérdida de peso luego de la cocción.

RC: Resistencia al corte.

RT: Rendimiento total.

SCADA: Supervisory Control And Data Acquisition (Supervisión, Control y Adquisición de Datos).

TPA: Texture Profile Analysis (Análisis de Perfil de Textura).

$\Delta p_{H_{APH}}$: Variación de pH luego del tratamiento APH

Δp_{H_c} : Variación de pH luego de cocción.

Efecto de la aplicación de tratamientos térmicos asistidos por altas presiones hidrostáticas sobre los parámetros tecnológicos, de color y textura de músculo *Superficial pectoralis* bovino

Resumen

La aplicación de altas presiones hidrostáticas (APH) causa distintas modificaciones en la matriz cárnica lo que permitiría desarrollar productos innovadores. Entre estos, los productos listos para cocinar o consumir con ternura asegurada podrían ser una oportunidad para agregar valor a determinados cortes. El objetivo del presente Trabajo de Tesis fue evaluar el efecto de la aplicación de tratamientos térmicos asistidos por APH sobre los parámetros tecnológicos (variación de pH, rendimiento total, humedad expresable), cromáticos y de textura de músculo *Superficial pectoralis* bovino. Se aplicó un diseño de optimización de Red de Doehlert para estudiar el nivel de presión (100–500 MPa) y la temperatura durante la etapa de mantenimiento (30–70°C). Las variables respuesta de mayor interés (rendimiento total, resistencia al corte, dureza, y los parámetros cromáticos L* y a* luego del tratamiento de APH) se analizaron utilizando la función deseabilidad y se concluyó que con la aplicación de un tratamiento a una temperatura de 42°C con un nivel de presión de 100 MPa se obtendría un producto que cumpla con las necesidades planteadas.

Palabras clave: Altas presiones hidrostáticas, carne bovina, color, rendimiento, textura, tratamiento térmico.

Effect of the application of thermal treatments assisted by high hydrostatic pressures on the technological, color and texture parameters of *Superficial pectoralis* bovine muscle

Abstract

The application of high hydrostatic pressure causes different modifications in the meat matrix, which would allow the development of innovative products. Among these, ready-to-cook or consume products with assured tenderness could be an opportunity to add value to specific cuts. The objective of this thesis was to evaluate the effect of the application of thermal treatments assisted by high hydrostatic pressure on the technological (pH variation, total yield, expressible moisture), chromatic and texture parameters of bovine *Superficial pectoralis* muscle. A Doehlert experimental design was applied to study the pressure level (100–500 MPa) and the temperature during holding time (30–70 °C). Analyzing together the response variables of most significant interest (total yield, shear force, hardness, and L* and a* color parameters) using the desirability function, it was determined that a treatment with a temperature of 42 °C with a pressure level of 100 MPa would allow obtaining a product that meets the stated needs.

Keywords: High hydrostatic pressure, beef, color, yield, texture, thermal treatment.

Capítulo I: Antecedentes

1. Introducción

La carne bovina es un producto comercializado a nivel mundial. En este contexto, Argentina cumple un papel destacado como proveedor, siendo sus principales destinos la Federación Rusa, China, Israel, Chile y Alemania, entre otros. Esta posición permitió, durante el año 2018, un ingreso de divisas por alrededor de U\$S 2.3 millones (IPCVA, 2019). Por lo tanto, la cadena productiva se ha consolidado gracias a esa situación, sumado a que ha logrado mantener el consumo interno (56,5 Kg/hab./año promedio, años 2016-2018) (IPCVA, 2019). Sin embargo, la cadena productiva de la carne se enfrenta a un mercado con márgenes estrechos, aumento de la competencia por la aparición de productos sustitutos elaborados a partir de proteínas vegetales o bien por el desarrollo de carne creada en laboratorios (Bonny *et al.*, 2015; Mattick y Allenby, 2012), además de cambios en los patrones de consumo (Cummins y Lyng, 2017). Esto implica un desafío para el sector. Con este marco, la aplicación de nuevas tecnologías para el desarrollo de productos cárnicos innovadores es una oportunidad para lograr mayor competitividad.

Tal como se mencionó en el párrafo previo, en las últimas décadas los consumidores han modificado sus hábitos de consumo y exigencias en relación a inocuidad y calidad de los alimentos. Esto ha generado una creciente demanda de alimentos con mínimo contenido de aditivos, apariencia fresca y “natural” (INTA, 2018). Como respuesta, tanto las empresas procesadoras de alimentos como el sector de ciencia y tecnología han desarrollado y optimizado nuevas tecnologías de procesamiento. Entre ellas, la tecnología de altas presiones hidrostáticas (APH) es la que alcanzó una mayor aplicación comercial. Actualmente, a nivel internacional se comercializan numerosos alimentos tratados con esta tecnología entre los que se encuentran derivados de productos frutihortícolas (bebidas y jugos, batidos, purés, etc.), cárnicos y de la pesca, sopas, salsas y condimentos (Elamin *et al.*, 2015). En relación a los productos cárnicos, la tecnología de APH se aplica con éxito en el procesamiento de productos curados cocidos o secos

y productos cárnicos listos para consumir, con el fin de mejorar su calidad higiénico-sanitaria y extender su vida comercial.

En este contexto, la aplicación de la tecnología APH es una alternativa interesante para el desarrollo de nuevos productos preparados en base a carne vacuna de bajo valor comercial. La aplicación de APH en carne y productos cárnicos da como resultado cambios en los parámetros de calidad, tales como el color, la textura y la capacidad de retención de agua, sin presentar modificaciones importantes en el valor nutricional (Elamin *et al.*, 2015; Guillou *et al.*, 2016). En nuestro país, un relevamiento del IPCVA (Instituto de Promoción de la Carne Vacuna Argentina), del año 2005, indicó que el 66% de la carne en los hogares se consume en forma de bifos o churrascos; por lo tanto, estos deben ser tiernos y con alta capacidad de retención de agua. Además, desde el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca y el IPCVA se impulsa la faena de animales de mayor peso, lo cual también podría derivar en carne menos tierna. Diversos estudios realizados en cortes cárnicos *post-rigor mortis* indicaron que la aplicación de tratamientos térmicos a temperaturas moderadas asistidos con APH mejoraron la terneza de los mismos (Bhat, Morton, Mason, y Bekhit, 2018).

Teniendo en cuenta los antecedentes previamente mencionados, la aplicación de tratamientos térmicos asistidos con APH permitiría el desarrollo de nuevos productos preparados en base a carne vacuna de bajo valor comercial, asegurando su terneza. Por lo tanto, en el presente estudio se propone el desarrollo de productos cárnicos refrigerados que presenten una mejora de su textura aplicando tratamientos térmicos, a temperaturas moderadas, asistidos por tratamientos con APH.

2. Altas presiones hidrostáticas

2.1. Reseña histórica

La primera aplicación de APH en alimentos fue realizado en 1899 en la estación experimental agrícola de la Universidad de West Virginia por Bert Hite (1899) aplicado en leche (Elamin *et al.*, 2015). En ese ensayo, por efecto de la presión aplicada se logró la reducción de microorganismos preservando los alimentos tratados. Otros estudios posteriores realizados en distintos productos, incluyendo cárnicos, lácteos, frutas y hortalizas, aportaron datos sobre el efecto de preservación de los mismos debido a la aplicación de altas presiones (Knorr, 1995). Diversos estudios determinaron que la presión altera el desarrollo y supervivencia microbiana. La exposición a altas presiones produce daño a la membrana celular, desnaturalización de proteínas, cambios en actividad enzimática y en la conformación de ribosomas (Guillou *et al.*, 2016). Asimismo, se

demonstró que las esporas microbianas eran más resistentes que las células vegetativas a los efectos de APH (Sale *et al.*, 1970). A pesar de los potenciales beneficios para prolongar la vida útil de los alimentos y disminuir la carga microbiana, el procesamiento de alimentos con APH permaneció principalmente dentro del ámbito de interés académico debido al costo y a las dificultades técnicas de procesar a la escala necesaria para que sea económicamente rentable (Ma y Ledward, 2013). Recién a partir de 1982, la Universidad de Delaware, EEUU, inició la línea de investigación correspondiente a la aplicación de APH en alimentos (Hoover *et al.*, 1989) y en 1986 en la Universidad de Kyoto, Japón. En este contexto, se crea la Sociedad Japonesa para las Altas Presiones y, en 1990, se lanzan al mercado los primeros productos comerciales. En los años sucesivos, se han llevado adelante numerosas actividades académicas y comerciales, principalmente en países desarrollados de América, Asia y Europa, y se han lanzado al mercado de forma exitosa productos lácteos, frutihortícolas, cárnicos y de la pesca tratados con APH.

La prueba del éxito de la aplicación industrial y comercial de las APH en alimentos se evidencia con la estadística de los equipos de escala industrial instalados a nivel internacional (superando en 2018 los 450 equipos). En el continente americano se encuentran instalados el 57% (54% en EEUU y México y 3% en Latinoamérica), seguido por Europa con el 25%, Asia y Oceanía con el 12 y 6 % respectivamente y África con el 1% (Tonello, 2018).

2.2. Definición y principios básicos

En la industria alimentaria, el procesamiento con APH consiste en la aplicación a un alimento envasado en un envase flexible y hermético de presiones elevadas (entre 100 y 600 MPa) durante un período corto de tiempo (<10 min) (Elamin *et al.*, 2015). La aplicación comercial más utilizada de la tecnología APH es la “pasteurización fría”. Este tratamiento permite la eliminación de microorganismos patógenos vegetativos (responsables de enfermedades transmitidas por alimentos), la reducción de microorganismos alteradores y la inactivación de ciertas enzimas, con efecto mínimo sobre los atributos sensoriales y las propiedades nutricionales de los alimentos (Szerman *et al.*, 2012).

Los principios generales que explican el comportamiento de los alimentos bajo los efectos de las altas presiones se presentan a continuación:

- Principio de Le Chatelier: este principio expresa que “si se presenta una perturbación externa sobre un sistema en equilibrio, el sistema se ajustará de tal manera que se cancele parcialmente dicha perturbación en la medida que el sistema alcanza una nueva posición

de equilibrio”. En el caso particular de alimentos sometidos a APH este principio indica que el sistema experimentará una reducción del volumen cuando es sometido a presión y viceversa (Yordanov y Angelova, 2010).

- Principio isostático: la Ley de Pascal enuncia que la presión ejercida en un fluido incompresible y en equilibrio es transmitida de forma uniforme en todas direcciones y de forma instantánea. De esta forma, la presión es transmitida al alimento de forma quasi-instantánea y uniforme en todo el producto sin gradientes de presión, independientemente de la forma y tamaño del mismo (Guillou *et al.*, 2017).
- Principio de ordenamiento microscópico: este principio enuncia que a temperatura constante, un aumento de la presión incrementa el grado de ordenamiento de las moléculas de una sustancia (Benet, 2005). Por lo tanto, la presión y la temperatura ejercen fuerzas antagónicas sobre la estructura molecular y las reacciones químicas.

Si un alimento contiene suficiente humedad, la presión no lo dañará a nivel macroscópico, siempre y cuando la presión se aplique de manera uniforme en todas las direcciones. El siguiente ejemplo describe ese comportamiento: una uva se puede aplastar fácilmente al presionarla entre los dedos, esto es ejerciendo presión a lo largo de un eje. Sin embargo, si la uva se coloca en agua en el interior de una botella flexible sellada y se expone a una presión uniforme, esta mantiene su forma independientemente de lo fuerte que la botella se apriete. En este caso, la presión transmitida desde la pared de la botella a través del agua se aplica uniformemente alrededor de la fruta. De manera similar, la presión no produce daño en la mayoría de los alimentos procesados por alta presión, siempre y cuando el alimento no tenga una estructura porosa. Las burbujas de aire colapsan por efecto de la presión debido a las diferencias entre la compresibilidad del aire y el agua, y a menos que el alimento sea perfectamente elástico y contenga al aire, este no recuperará su tamaño y forma originales (Balasubramaniam *et al.*, 2008).

2.3. Tipos de equipos de APH

Actualmente, los equipos para el procesamiento de alimentos con APH se pueden clasificar en: semi-continuos y discontinuos (por lote o *batch*) (Elamin *et al.*, 2015). A continuación, se describen las principales características de los equipos semi-continuos y los discontinuos ya que son los más utilizados:

- Equipos semi-continuos: este tipo de equipos se utilizan para tratar alimentos líquidos. En un sentido estricto son equipos discontinuos (*batch*) combinados para procesar el producto

de forma continua desde el punto de vista operativo. Emplea en forma combinada dos o más cilindros de alta presión, para que de forma global permita procesar el producto de forma continua y permitir un flujo continuo de ingreso y egreso del producto sin tratar y procesado, respectivamente. Consiste en una cámara de compresión que contiene un pistón libre. Una bomba de baja presión se utiliza para llenar la cámara de compresión. A medida que la cámara se llena, el pistón se desplaza. Cuando se completa el llenado, la llave de ingreso se cierra y se introduce agua de proceso a alta presión por sobre el pistón libre para comprimir el alimento. Luego de un tiempo apropiado de proceso, el sistema se descomprime por liberación de la presión del agua de proceso. El alimento líquido tratado se descarga desde la cámara a un tanque de mantenimiento aséptico a través de una llave de descarga aséptica. El alimento líquido tratado puede ser envasado asépticamente (Farkas y Hoover, 2000). En este se aplica una forma particular del sistema de compresión directa (ver ítem 2.3.1).

- Equipos discontinuos (*batch* o lotes): son los más utilizados. Generalmente, se emplean para tratar alimentos sólidos, envasados en envases flexibles y herméticos, o alimentos semi-sólidos o líquidos en botellas o *pouches* plásticos. Actualmente, la empresa Hiperbaric® se encuentra comercializando una línea de equipos específicos, tales como los modelos Hiperbaric 525 Bulk e Hiperbaric 1050 Bulk para procesamiento en lotes de líquidos a granel, como jugos (Hiperbaric, 2020). Estos equipos están compuestos por una cámara cilíndrica de compresión, con un sistema de cierre hermético; una bomba de baja presión que comprime el fluido (aceite) que ingresa a los intensificadores; intensificadores de alta presión que presurizan fluido de presurización; tuberías de alta presión que permiten que se transmita la presión del fluido de presurización al interior del cilindro donde se trata el alimento y un sistema de control (Elamin *et al.*, 2015; Rao *et al.*, 2014). Este tipo de equipos es de compresión indirecta (ver ítem 2.3.1). Generalmente, el fluido de presurización utilizado es agua, o soluciones acuosas, o aceites aptos para industria alimentaria. Las ventajas de este tipo de diseño es que minimiza el riesgo de contaminación de los alimentos procesados con lubricantes o similares y no requiere limpieza del equipo entre cambios de lotes a procesar al reducir el riesgo de contaminación cruzada.

2.3.1 Tipos de compresión

La compresión en los equipos de APH se puede generar de manera directa o indirecta. En la compresión directa, un pistón actúa como cierre del cilindro de alta presión. Al activarse, se reduce

el volumen interno del cilindro, incrementando la presión interna y transmitiéndola al producto líquido contenido en la cámara (Elamin *et al.*, 2015). Por la dificultad en el mantenimiento del sello hermético entre el pistón y la cámara, esta clase de equipos sólo se utiliza a pequeña escala en laboratorios y, presentan como desventaja adicional, un mayor riesgo de contaminación del producto con lubricantes del equipo u otro material extraño. Los equipos de APH de compresión directa se utilizaron para tratar alimentos líquidos como jugos pero su aplicación no prosperó y actualmente no es el tipo de equipamiento empleado en la industria alimentaria.

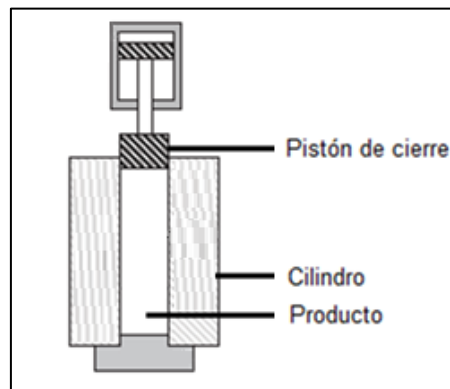


Figura 1: Esquema de equipo APH de compresión directa. Figura adaptada de Elamin *et al.* (2015).

Por otro lado, el sistema de compresión indirecta es el más utilizado a escala comercial. Este método emplea un sistema constituido por bombas de baja presión que accionan sobre los intensificadores de alta presión, en los cuales se comprime el fluido de compresión, el cual se introduce en la cámara de alta presión, que tiene forma cilíndrica. El fluido de compresión normalmente se encuentra en tanques reservorios cuando el equipo está en reposo. Este mecanismo permite controlar y mantener constante la presión durante el tiempo requerido (San Martín *et al.*, 2002) y la presión es transmitida por el fluido al alimento envasado que se encuentra en el interior de la cámara. Una vez que se alcanza la presión objetivo, esta puede ser mantenida prácticamente sin consumo energético durante el tiempo requerido por el proceso (*holding time*). Finalizado el tiempo necesario de tratamiento con alta presión, el fluido se descomprime de forma segura y retorna al tanque de reserva.

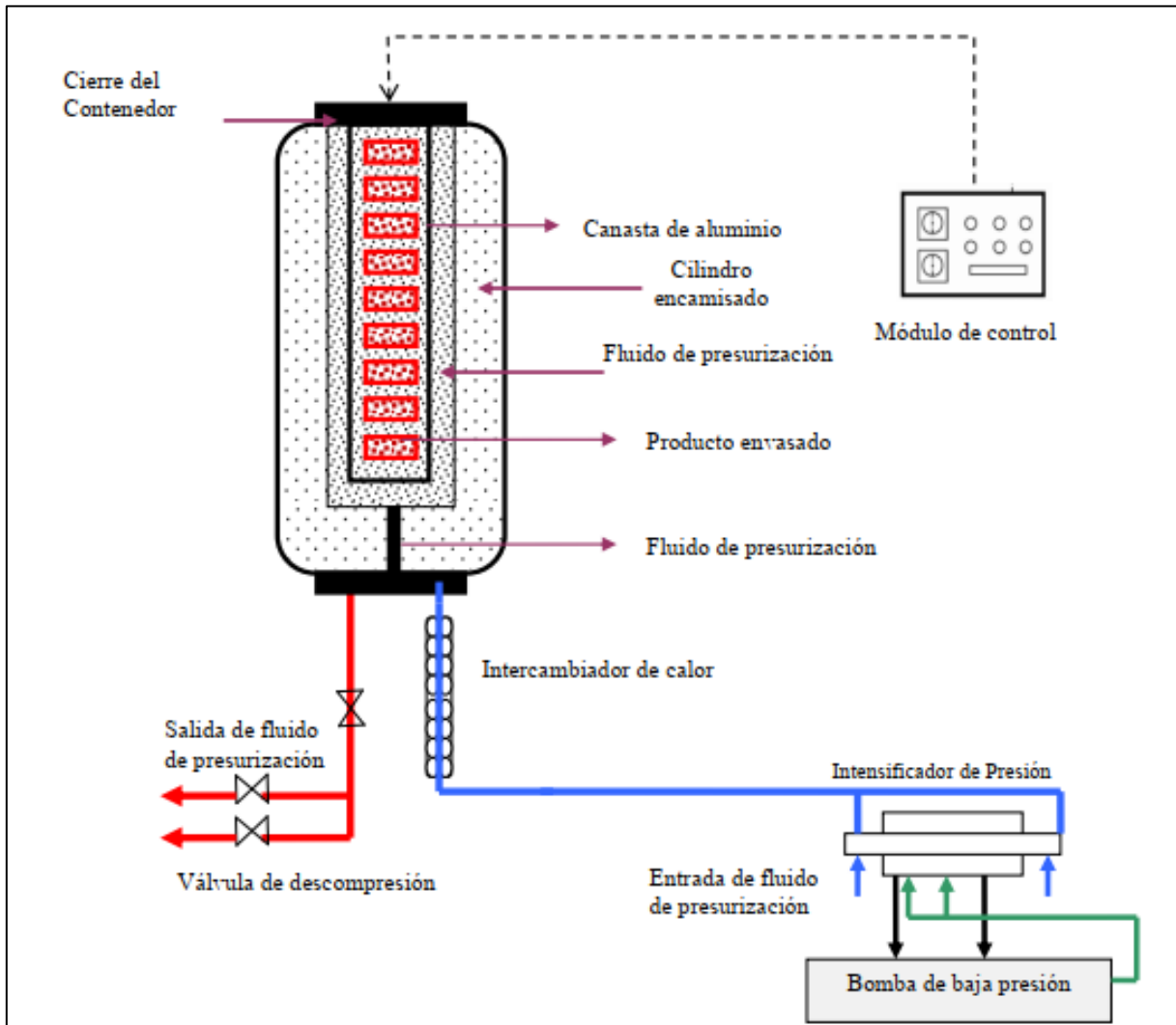


Figura 2: Esquema de equipo discontinuo de APH, de compresión indirecta. Figura adaptada de Somerville (2009).

2.3.2 Funcionamiento del equipo de APH Stansted Fluid Power

En la Planta Piloto del Instituto Tecnológica de Alimentos (CIA, INTA) se encuentra instalado un equipo de APH marca Stansted Fluid Power Ltd. modelo High Pressure Iso-Lab System FPG9400:922. El equipo está conformado por los módulos de control y servicio, el módulo prensa que contiene el cilindro de alta presión y un sistema de refrigeración (Figura 3).

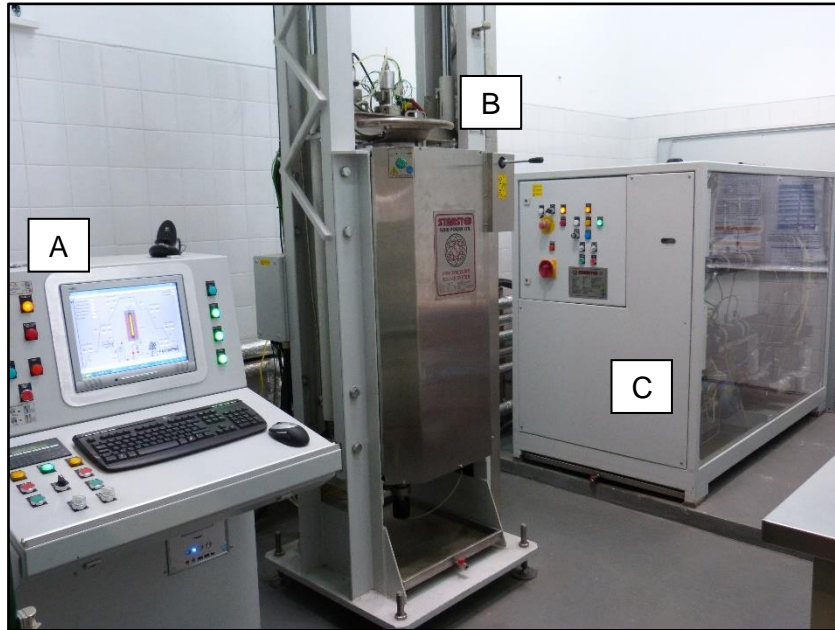


Figura 3: Imagen del equipo de APH marca Stansted Fluid Power Ltd. modelo Iso-Lab System FPG9400:922. A: Módulo de control. B: Módulo prensa. C: Módulo de servicio.

A continuación, se describe brevemente la función que cumple cada parte del equipo:

- Módulo de control: consta de una computadora que dispone de un controlador lógico programable (PLC) con software SCADA para el control automático del equipo (Figura 4). Mediante la interface del sistema SCADA se programan las distintas variables involucradas en el proceso de APH (presión de trabajo, velocidad de compresión, tiempo de mantenimiento, temperatura de fluido de compresión, identificación de la muestra tratada, etc.). Además, en el disco rígido de la computadora se almacenan los registros de las evoluciones de la presión y de la temperatura durante los tratamientos con APH, para luego ser analizados.



Figura 4: Imagen del módulo de control del equipo de APH marca Stansted Fluid Power Ltd. modelo Iso-Lab System modelo FPG9400:922.

- Modulo prensa: está compuesto por un cilindro de acero encamisado al cual ingresa el fluido de compresión por su parte inferior (Figura 5-A). El fluido de compresión, por recomendación del fabricante, siempre es una mezcla de propilenglicol y agua y la proporción utilizada está relacionada con la temperatura de tratamiento. En la camisa de intercambio de calor circula una mezcla de agua y propilenglicol, la cual permite acondicionar la temperatura del cilindro. En el interior del cilindro se coloca la canasta de aluminio de paredes cribadas (receptáculo de muestras) (Figura 5-B) en la cual se depositan los envases flexibles conteniendo el alimento. La presión máxima de operación del equipo es de 900 MPa y el cilindro tiene una capacidad de trabajo de 2 litros. En la parte superior del módulo prensa se encuentra el cabezal de cierre del cilindro de alta presión. Ese cabezal contiene en su parte inferior los conectores para las termocuplas que permiten monitorear la temperatura del fluido de compresión y de las muestras. Además, en la parte inferior del cabezal se inserta la canasta de aluminio que contiene las muestras y el conjunto cabezal/canasta se desplaza verticalmente (accionado por un sistema hidráulico) para ingresar o retirar la canasta del interior del cilindro de alta presión. El cabezal se traba girándolo manualmente, utilizando la rosca lateral del mismo. A su vez, el sistema se cierra con una llave electrónica. Si la misma no fue insertada, el PLC no permite iniciar el funcionamiento del equipo APH.



Figura 5: Módulo prensa del equipo de APH marca Stansted Fluid Power Ltd. modelo Iso-Lab System modelo FPG9400:922. A) Cilindro de alta presión, B) Canasta para la carga de muestras.

- Módulo de servicio: está compuesto por las bombas de baja presión (Figura 6-C) y por los intensificadores de alta presión (Figura 6-B) que permiten que el fluido de compresión alcance las presiones requeridas para los tratamientos. Además, en el módulo de servicio se encuentran las bombas de precarga del cilindro de alta presión, las válvulas de descompresión (Figura 6-D), el tanque de acondicionamiento del fluido de intercambio de calor (Figura 6-E) y los tanques de almacenamiento de aceite para funcionamiento de las bombas de baja presión y del fluido de compresión, y un panel de control propio del módulo (Figura 6-A).

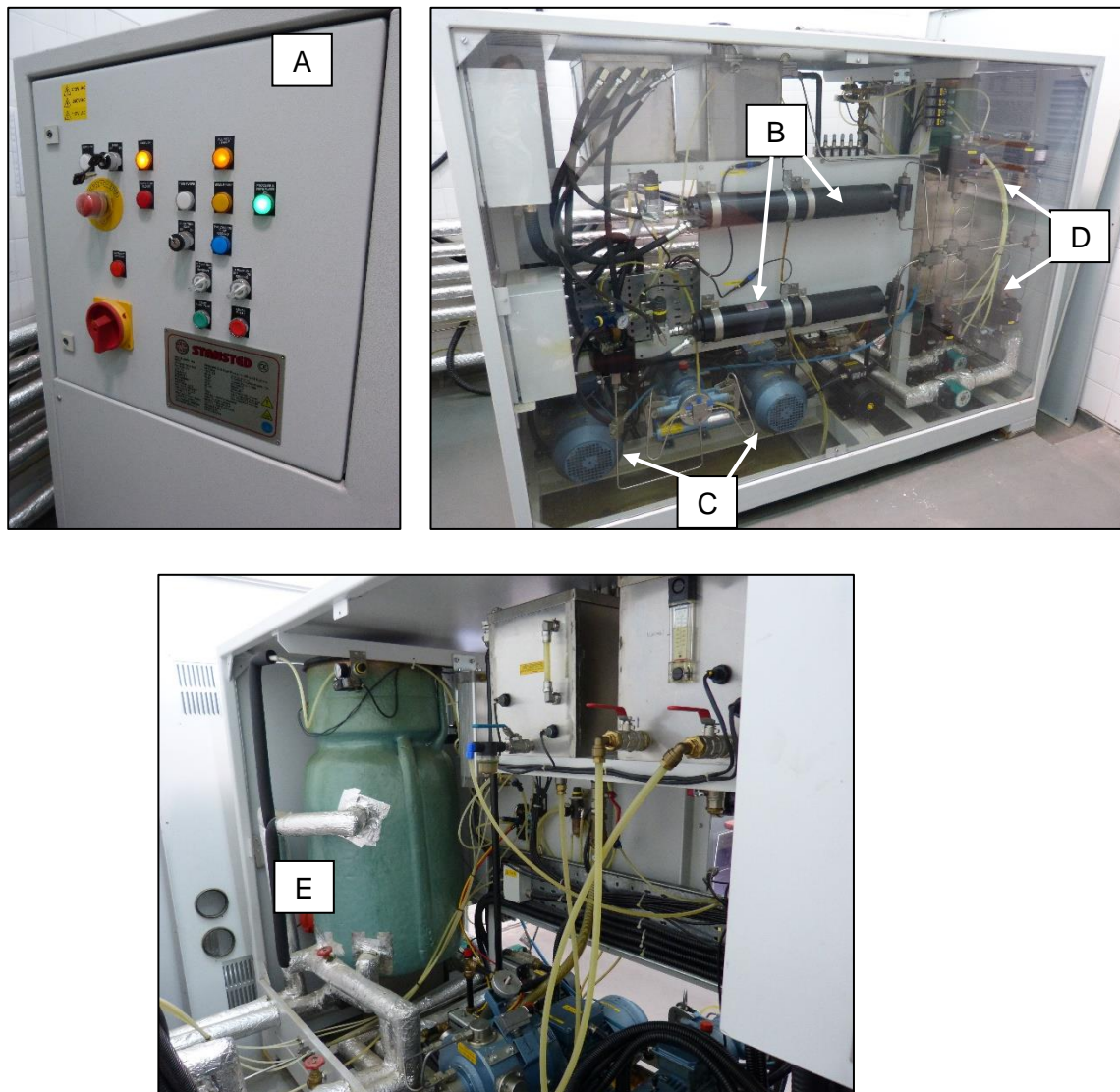


Figura 6: Módulo de servicio del equipo de APH marca Stansted Fluid Power Ltd. modelo Iso-Lab System modelo FPG9400:922. A) Panel de control, B) Intensificadores, C) bombas de baja presión para el fluido de compresión, D) Válvulas de descompresión, E) Tanque de calentamiento del fluido de compresión.

- Módulo de refrigeración y sistema de calefacción: El módulo de refrigeración (marca Eurochiller) permite disminuir la temperatura del cilindro hasta $-10\text{ }^{\circ}\text{C}$. Por el módulo de refrigeración circula en reciclo una mezcla de agua y etilenglicol, la cual refrigera, a través de un serpentín, el fluido de intercambio de calor (mezcla de agua y propilenglicol) almacenado en el tanque de acondicionamiento térmico, ubicado en el módulo de servicio del sistema. Además, el fluido de intercambio circula en circuito cerrado entre el tanque de acondicionamiento y la camisa de intercambio de calor del cilindro de alta presión. En el caso que sea necesario utilizar en el cilindro temperaturas inferiores a la ambiente, entonces se opera el sistema con el módulo de refrigeración en funcionamiento. A su vez, si se

requiere trabajar en el cilindro con temperaturas superiores a la ambiente, el fluido de intercambio se calienta mediante una resistencia eléctrica ubicada en el tanque de acondicionamiento (Figura 6-E). La resistencia al igual que el resto de los componentes del equipo están controlados mediante el PLC.

3. Etapas del proceso con APH

El tratamiento de un alimento sólido con APH comienza con su envasado. El mismo debe realizarse en un envase flexible, removiéndose todo el aire que sea posible. Luego, el alimento envasado se coloca en la canasta de aluminio, este se introduce en el cilindro del equipo de APH y el cilindro se cierra herméticamente, mediante el cabezal descrito en el ítem previo. Una vez programadas las variables de trabajo (presión, tiempo de mantenimiento, temperatura, etc.) en el módulo de control para el tratamiento deseado se da inicio al ciclo. El PLC acciona la bomba de precarga del fluido de compresión en el cilindro y las bombas de baja presión comprimen el aceite que ingresa al intensificador. El aceite presurizado acciona los intensificadores que incrementan la presión del fluido de compresión. Esta compresión se produce hasta alcanzar la presión de trabajo programada y esta etapa se denomina presurización o compresión y el tiempo necesario para alcanzar la presión programada se lo denomina tiempo de presurización, compresión o *come up time*. La velocidad de compresión es seleccionada y programada en el módulo de control, por lo que tiempo de compresión se puede modificar cambiando la velocidad de compresión seleccionada. Cuando se alcanza la presión de trabajo, esta se mantiene durante el tiempo programado (tiempo de mantenimiento o *holding time*). Finalizado el tiempo de mantenimiento de la presión, el equipo por medio de las válvulas de descompresión inicia el vaciado del líquido del cilindro, hasta llegar al equilibrio con la presión atmosférica. La velocidad de descompresión no se puede modificar, corresponde a la definida por el fabricante del equipo en función del tipo y cantidad de válvulas de descompresión instaladas. En el equipo disponible en el Instituto Tecnología de Alimentos la descompresión es casi instantánea. Una vez alcanzada la presión atmosférica, el módulo de control habilita la apertura del cabezal del cilindro y es posible retirar la canasta de aluminio con las muestras.

Por lo tanto, el tiempo total del proceso (*cycle time*) incluye el tiempo de compresión o presurización, el tiempo de mantenimiento de la presión y el tiempo de descompresión. Los registros de las variables medidas por el equipo (presión y temperatura del fluido y de las muestras) posteriormente se pueden descargar para producir los gráficos de presión-tiempo y temperatura-tiempo de los ciclos de tratamientos (Figura 7).

4. Evolución de la presión y la temperatura durante el procesamiento con APH

Durante el tratamiento con APH, por efecto termodinámico, se genera un incremento de la temperatura de forma inevitable. Al incrementar la presión aplicada al sistema, la temperatura se eleva por efecto de la compresión. Este fenómeno se denomina calentamiento adiabático dado que ocurre sin transferencia de calor y se produce en un ambiente aislado (de acuerdo con la primera y segunda ley de la termodinámica un proceso adiabático se origina sin transferencia de calor entre el sistema y el ambiente). Este incremento de la temperatura es importante y debe ser considerado para la planificación de los ensayos o bien para los procesos a escala industrial. La siguiente ecuación expresa el calentamiento adiabático producido por la compresión:

$$\frac{dT}{dP} = \frac{T\alpha_p}{\rho C_p} = \delta_i$$

donde T es la temperatura (K), P es la presión (Pa), α es el coeficiente de expansión volumétrica (K^{-1}), ρ es la densidad ($kg.m^{-3}$), C_p es el calor específico ($J.kg^{-1}.K^{-1}$) y δ_i calor de compresión. La compresión durante el tratamiento con APH incrementará la temperatura tanto del producto como del fluido de compresión a razón de aproximadamente $3^\circ C$ por cada 100 MPa, en el caso del agua y en productos de alta humedad y para temperatura inicial de $20^\circ C$ (Rastogi *et al.*, 2007).

La magnitud del incremento depende de la compresibilidad y de la capacidad calorífica de la sustancia, la temperatura inicial del sistema y la presión aplicada. El máximo de temperatura alcanzado a la presión objetivo es independiente de la velocidad de compresión, siempre y cuando la transferencia de calor con el medio externo sea despreciable (Nguyen *et al.*, 2011).

La presión y la temperatura se deben monitorear durante el tratamiento con APH debido a los efectos que tienen sobre microorganismos, enzimas y la calidad del producto.

En la Figura 7 se representa la evolución de la temperatura y la presión en un ciclo típico de tratamiento con APH. A continuación, se describe cada etapa:

- *Come up time*: es el tiempo requerido para incrementar la presión de la muestra desde la presión atmosférica a la presión objetivo ($t_2 - t_1$, Figura 7). Durante esta fase se incrementa tanto la presión ($p_2 - p_1$) como la temperatura ($T_2 - T_1$). Esta última puede incrementarse únicamente por efecto de la compresión o bien sumado al efecto de una fuente de calor del equipo programada para el proceso deseado (procesos térmicos asistidos por altas presiones hidrostáticas).

- Tiempo de mantenimiento: es el tiempo que transcurre entre el final de la etapa de compresión (una vez que el sistema alcanzó la presión objetivo) y el inicio de la etapa de descompresión ($t_3 - t_2$). Durante el tiempo de mantenimiento la presión se mantiene constante ($p_2 - p_3$), siempre y cuando no ocurra disminución importante de la misma como resultado de intercambio de calor con el ambiente. Durante esta etapa del proceso, generalmente, no hay energía adicional aportada al sistema; es decir que no hay nuevo ingreso de fluido de compresión al cilindro, ya que la presión es constante. Alternativamente, se puede definir como el intervalo entre la finalización de la compresión (*come up time*) y el inicio de la fase de descompresión. El producto es mantenido durante un tiempo predeterminado a la presión y temperatura definida. A fin de lograr la mayor estabilidad de los parámetros se requieren sellos y cierres efectivos para evitar pérdidas de presión y aislantes térmicos adecuados para disminuir intercambios de temperatura con el medio exterior a través de las paredes de la cámara de presión. Durante el tiempo de mantenimiento la temperatura puede disminuir ($T_2 - T_3$) debido a la pérdida de calor por la pared metálica del cilindro de alta presión. Una forma de evitar esa pérdida es colocar un aislante térmico en el interior del cilindro de alta presión o en el caso que el cilindro disponga de una camisa de intercambio, se puede acondicionar al fluido de intercambio de calor a la misma temperatura de proceso (T_2), de modo de anular el gradiente térmico y evitar la pérdida de calor a través de la pared metálica.
- Tiempo de descompresión: es el tiempo que transcurre desde el final del mantenimiento a la presión objetivo hasta volver a la presión atmosférica inicial ($t_4 - t_3$). Por efecto de la disminución de la presión ($p_4 - p_3$), la temperatura disminuye hasta alcanzar los valores iniciales o levemente inferiores (T_4).

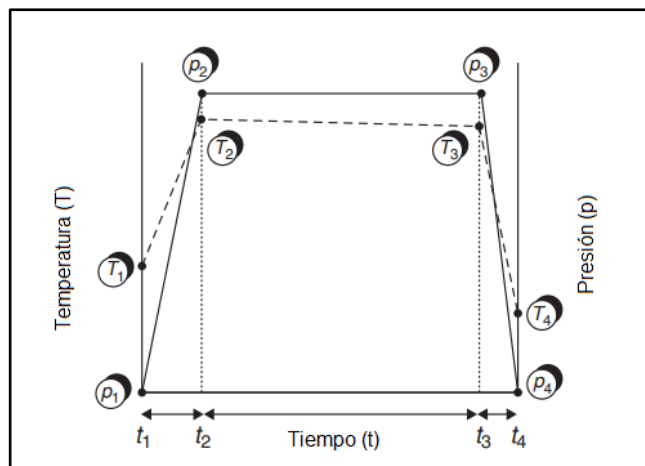


Figura 7: Gráficos de presión-tiempo y temperatura-tiempo típicos durante un tratamiento con APH (Nguyen y Balasubramaniam, 2011)

5. Definición de carne y corte anatómico utilizado

El CAA (Código Alimentario Argentino) en el Capítulo VI Artículo 247 define como denominación genérica “carne” a la parte comestible de los músculos de vacunos, bubalinos, porcinos, ovinos, caprinos, llamas, conejos domésticos, nutrias de criadero, pollos, pollas, gallos, gallinas, pavitos, pavitas, pavos, pavas, patos domésticos, gansos domésticos y codornices, declarados aptos para la alimentación humana por la inspección veterinaria oficial antes y después de la faena.

La parte comestible de los músculos puede definirse como la parte muscular de la res faenada, constituida por todos los tejidos blandos que rodean el esqueleto incluyendo su cobertura grasa, tendones, vasos, nervios, aponeurosis y todos aquellos tejidos no separados durante la operación de faena.

Para la realización de los ensayos involucrados en esta Tesis de Maestría se utilizó el corte denominado tapa de asado, cuya base anatómica es el músculo *Superficial pectoralis* originado de la despostada del cuarto delantero, a partir del corte “Pecho 10 costillas” (código IPCVA 2312 – 2323), provenientes de bovinos categoría novillo (machos castrados mayores a 18 meses de edad y peso superior a 350 kg) de raza británica a las 48 horas post-faena. La selección de este tipo corte se justificó por las siguientes razones:

- Corte de bajo valor comercial, de los denominados “populares” (principalmente cortes del cuarto delantero), para la evaluación del impacto de la aplicación de las APH en características de interés comercial y tecnológico en vistas a generar un producto con valor agregado
- Facilidad de retiro de aponeurosis y cobertura grasa. Debido a su geometría permite extraer y preparar las muestras según las condiciones del estudio.

5.1. Estructura del músculo esquelético

El músculo esquelético está conformado por células musculares multinucleadas, denominadas fibras musculares junto con tejido conectivo, tejido adiposo, vasos linfáticos y sanguíneos y fibras nerviosas. Aproximadamente el 90 % de la masa muscular corresponde a fibras musculares y el resto a tejido conectivo y adiposo principalmente (Listrat *et al.*, 2016). Las fibras musculares se encuentran asociadas entre ellas de manera paralela en su eje mayor, formando los fascículos musculares. Dependiendo de la función y demanda mecánica del músculo pueden contener uno o varios fascículos (Hib, 2001).

Cada fibra muscular se encuentra rodeada por una lámina externa, sintetizada por la propia célula muscular. Esta lámina cumple funciones de sostén y es la primera estructura de interacción entre la célula y la matriz extracelular, de forma análoga a la lámina basal de los tejidos epiteliales. Rodeando esta estructura se encuentra un tejido de tipo reticular, denominado endomisio, el cual está compuesto mayoritariamente por colágeno tipo III. A su vez, los fascículos están delimitados por el perimisio, un tejido conectivo denso. El conjunto de fascículos, que conforman el músculo, se encuentra rodeado por el epimisio (Figura 8). Las estructuras vasculares y nervios que irrigan e inervan al musculo penetran el epimisio, se adentran en las diferentes regiones del músculo mientras transcurren y se ramifican por el epimisio para llegar como terminales nerviosas y capilares a través del endomisio, en intimidad con la fibra muscular (Hib, 2001). El sarcoplasma, citoplasma de las fibras musculares, es el medio interno de la célula y contiene las organelas citoplasmáticas.

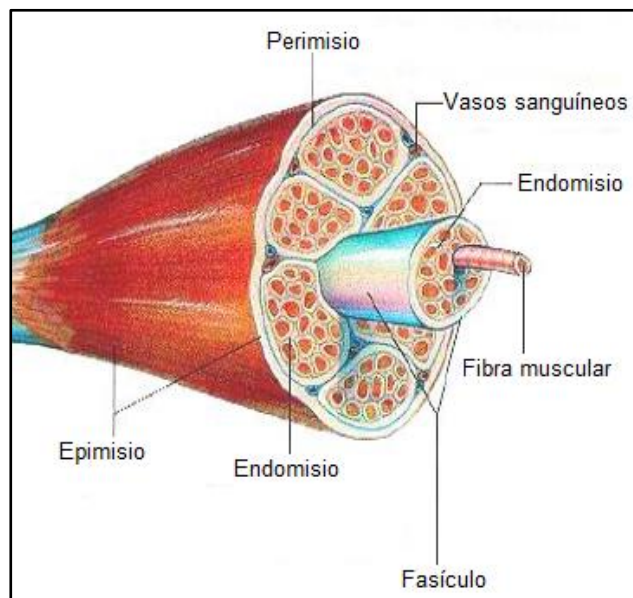


Figura 8: Esquema de estructura macroscópica de músculo estriado. Adaptado de Arenas (2011)

Como parte de la especialización para funciones contráctiles, el citoesqueleto está organizado en estructuras denominadas miofibrillas, las cuales ocupan la mayor parte del volumen del sarcoplasma. En promedio cada miofibrilla tiene un diámetro de 1 μm , independientemente de la especie (Listrat *et al.*, 2016).

Las miofibrillas están alineadas a lo largo de su eje longitudinal y son las responsables de la contracción muscular. Una característica del músculo esquelético que se observa por microscópica electrónica es el patrón de bandas claras y oscuras repetidas longitudinalmente como resultado de

la superposición parcial de miofilamentos gruesos y finos estructurados en unidades funcionales denominadas sarcómeros (Figura 9).

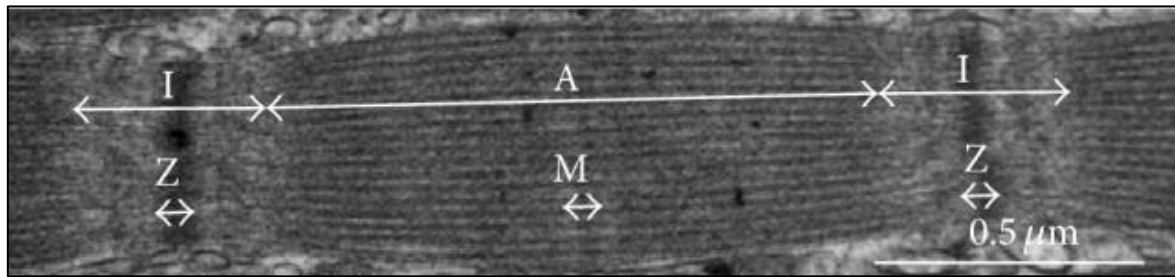


Figura 9: Sarcómero observado por microscopía electrónica. (Listrat *et al.*, 2016). A: Banda A I: Banda I, M: Línea M, Z: Línea Z.

El sarcómero tiene como principales componentes constitutivos dos proteínas, la actina y la miosina. La contracción es posible gracias a la interacción cíclica y formación de puentes cruzados entre las cabezas de la miosina y los sitios activos de la actina, con gasto de ATP (adenosín trifosfato) (Squire, 2010). La miosina es una proteína fibrosa que consta de dos regiones, una globular, en la cual se encuentran dos “cabezas” responsables de la interacción con la actina y posee actividad APTasa y otra región fibrosa denominada “cola” que le otorga la estructura fibrilar.

La actina es una proteína fibrilar la cual está anclada a una estructura que delimita los extremos de cada sarcómero. Por medio de la actina se transfiriere el movimiento de tracción ejercido por las cabezas de la miosina resultando en el acortamiento del sarcómero. La sumatoria de la contracción de cada sarcómero determina la contracción de la miofibrillas y, por lo tanto, del músculo (Figura 10).

La estructura del sarcómero origina el patrón en bandas claras y oscuras característico del músculo estriado esquelético. Las bandas oscuras son conocidas como bandas A (anisotrópicas) consisten en filamentos gruesos y finos. En su centro la banda A tiene una zona denominada zona H (heller – brillante en alemán) donde solo están presentes filamentos finos y la línea M (mittelscheibe – porción media en alemán) que contiene filamentos cruzados de unión y estabilización del citoesqueleto. Las bandas I (isotrópicas) es una zona de filamentos finos que no están superpuestos por filamentos gruesos. Estas bandas están centradas en una zona del sarcómero denominada línea Z (zwischen-scheibe – “entre el disco” en alemán), la cual contiene proteínas denominadas CapZ que permiten el anclaje de los filamentos de α -actina a los discos Z y los estabiliza. El disco Z es considerado como los límites de las unidades de sarcómeros. El sarcómero tiene otras proteínas estructurales como la titina, que conecta la línea Z con la línea M y permite la transmisión de

tensiones desde la línea Z, limita el movimiento del sarcómero en tensión y en relajación provee tensión pasiva cuando se distiende el sarcómero (Hib, 2001).

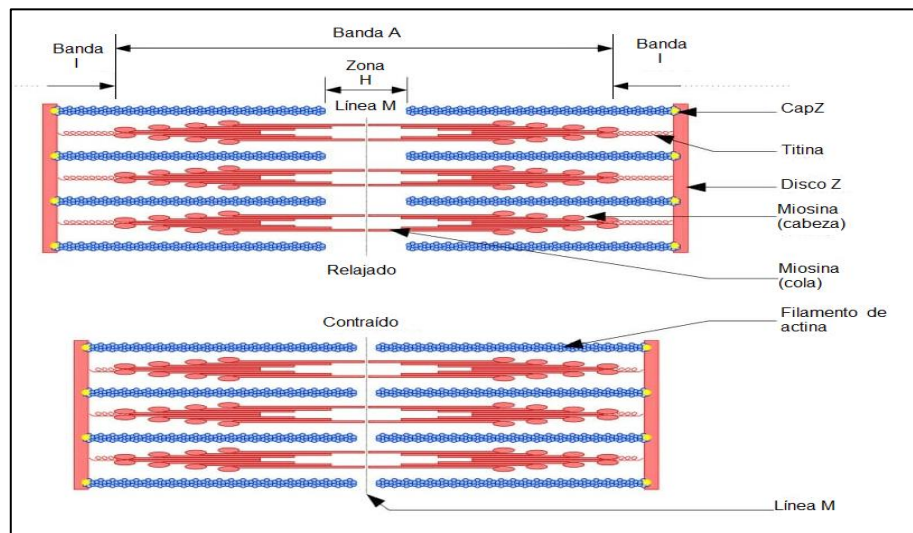


Figura 10: Esquema de estructura de un sarcómero. Adaptado de <https://biologydictionary.net/myofibril/>

5.2. Parámetros de estudio

5.2.1. Textura

Los consumidores consideran a la ternura como un factor determinante a la hora de evaluar la calidad de la carne (Bhat *et al.*, 2018) y definir la decisión de compra. Por lo tanto, su medición, ya sea para evaluar la calidad, los efectos del procesamiento o estimar la aceptabilidad del consumidor resulta fundamental.

La textura de la carne se puede definir como la propiedad que resulta de las características mecánicas del tejido. Esta definición resulta apropiada para las mediciones instrumentales objetivas de textura en carne ya que no incluye otras características como, por ejemplo, la jugosidad. Desde el punto de vista del consumidor se ha definido como la facilidad percibida para desorganizar la estructura de la carne durante la masticación (Bhat *et al.*, 2018).

La ternura es el resultado de la interacción de diversos factores endógenos y exógenos. Entre estos, podemos mencionar la raza y genética del animal, edad, sexo, tipo de crianza y nutrición, sacrificio y tratamientos *post-mortem* (Claus, 1995). También, otros factores como el tamaño de las fibras musculares, el grado de proteólisis, estado de contracción del complejo actina-miosina, proporción de tejido conectivo y contenido de grasa intramuscular modifican la textura (Miller *et al.*, 1996).

En relación a las proteínas miofibrilares, es importante la etapa de conversión del músculo en carne, ya que puede ocurrir el fenómeno de “*cold-shortening*”. Este es ocasionado por el acortamiento irreversible de las fibras debido al incremento en el número y organización de las proteínas contráctiles (actina y miosina). Durante la refrigeración, se desencadena la liberación masiva de Ca^{2+} del retículo sarcoplásmico y las mitocondrias uniéndose al complejo troponina C-tropomiosina y permitiendo la interacción y formación del enlace cruzado entre la cabeza de miosina del filamento grueso del sarcómero y la actina de forma análoga al proceso de contracción muscular fisiológica del músculo esquelético. La disponibilidad de ATP y un valor de pH mayor a 6,2; es decir, músculo aún no madurado es condición necesaria para la presentación del fenómeno.

Tal como fue definida, la terneza es una característica sensorial, no instrumental, por lo que se desarrollaron métodos instrumentales y objetivos para evaluar características de textura de la carne.

Medición de la textura

Los métodos instrumentales utilizados para evaluar la textura de la carne están en su mayoría basados en pruebas mecánicas estandarizadas. La textura es medida objetivamente por medio de la fuerza requerida para cortar o comprimir una muestra. Este tipo de mediciones requiere que las muestras tengan un tamaño definido para poder realizar comparaciones. Es prácticamente imposible comparar resultados entre diferentes laboratorios o ensayos con muestras de distinto tamaño y/o forma o ajustes diferentes del instrumental empleado (Saláková, 2012). Además, estas técnicas usualmente son destructivas. Entre ellas, las más utilizadas son la medición de la resistencia al corte con la cizalla de Warner-Bratzler, método recomendado por AMSA (1995) y el análisis de perfil de textura (TPA – *texture profile analysis*).

La medición de la resistencia al corte con la cizalla de Warner-Bratzler es utilizado desde hace más de 60 años para estimar el comportamiento del alimento con la primera mordida (Saláková, 2012).

Este consiste en medir el esfuerzo requerido para cortar completamente una muestra (extraída en forma de cilindro) con una cuchilla triangular en forma de “V”. La dirección de las fibras de la muestra debe ser paralela al eje mayor del cilindro y el corte se realiza de forma perpendicular a la dirección de estas. Las muestras deben estar cocidas y refrigeradas según metodología AMSA (1995). Durante el ensayo la muestra se somete a fuerzas de tensión, cizalla y compresión y la

fuerza máxima aplicada para completar el corte se puede tomar como indicador de ternura, aún cuando esta propiedad solo puede ser evaluada en forma sensorial. La repetitividad de los resultados obtenidos mediante la celda de Warner-Bratzler se incrementa cuadráticamente al incrementar el número de muestras evaluadas (Saláková, 2012).



Figura 11: Analizador de textura marca Stable Micro Systems modelo TA.TX plus equipado con celda de Warner-Bratzler de cuchilla triangular

Otro método que se utiliza para la evaluación de textura en carne es el análisis del perfil de textura. General Foods Corporation desarrolló en 1963 este tipo de análisis a fin de permitir la medición de otros atributos de textura (además de la dureza) con una misma muestra (Trinh, 2012). Este método simula las condiciones a la que el alimento es expuesto en la boca del consumidor (Xiong *et al.* 2006). El análisis consiste en someter a la muestra a dos ciclos de compresión para simular “mordidas” sucesivas. La muestra es colocada entre dos placas, una de ellas fija y la otra móvil (normalmente esta consiste en un accesorio cilíndrico; Figura 12). Ésta ejerce la fuerza de compresión y los sensores detectan la fuerza requerida para ejecutar los dos ciclos. Para que la ejecución del ensayo sea correcta, la superficie de contacto de la muestra debe ser lisa y plana para un contacto homogéneo entre los extremos de la muestra y las placas del instrumento.



Figura 12: Analizador de textura marca Stable Micro Systems modelo TA.TX plus equipado con accesorio cilíndrico para ensayo TPA.

La fuerza requerida para realizar las compresiones en función del tiempo permite estimar distintos parámetros de textura, los cuales se definen a continuación (Figura 13):

Dureza: es la fuerza máxima registrada durante la primera compresión (Bourne, 1978).

Fractura: parámetro no presente en todos los alimentos (en carne no se observa), corresponde a un pico secundario significativo de la fuerza, que decae, antes de que se presente el pico que corresponde a dureza.

Adhesividad: se define como el trabajo necesario para superar las fuerzas de atracción entre la superficie de los alimentos y la superficie de otros materiales con los que los alimentos entran en contacto (por ejemplo, lengua, dientes, paladar, etc.) (Szczesniak, 1963).

Cohesividad: Szczesniak (1963) lo definió como la fuerza de las uniones internas que dan estructura al producto. La cohesividad se calcula como la relación entre el área de fuerza positiva obtenida durante la segunda compresión y el área de fuerza positiva obtenida durante la primera compresión.

Elasticidad: indica la velocidad a la cual el material deformado vuelve a su condición original luego de aplicada una fuerza de deformación dada. La forma más habitual de calcularlo es mediante la relación entre los segmentos en el eje de abscisas (tiempo) correspondiente a la máxima altura detectada desde el inicio de la segunda compresión y el segmento en el mismo eje definido entre el inicio de la primera compresión y el pico máximo de esta.

Masticabilidad: es la energía requerida para masticar un alimento sólido hasta que está listo para ser tragado. Su cálculo es el producto de la dureza por la cohesividad y la elasticidad.

Resiliencia: es la capacidad de un alimento para retornar a su estado original, similar a elasticidad. Sin embargo, su cálculo se basa en relación de energía en vez de relación de distancias. Es menos intuitivo para comprender este parámetro que la elasticidad, por lo que generalmente se utiliza más la elasticidad que la resiliencia (Trinh, 2012).

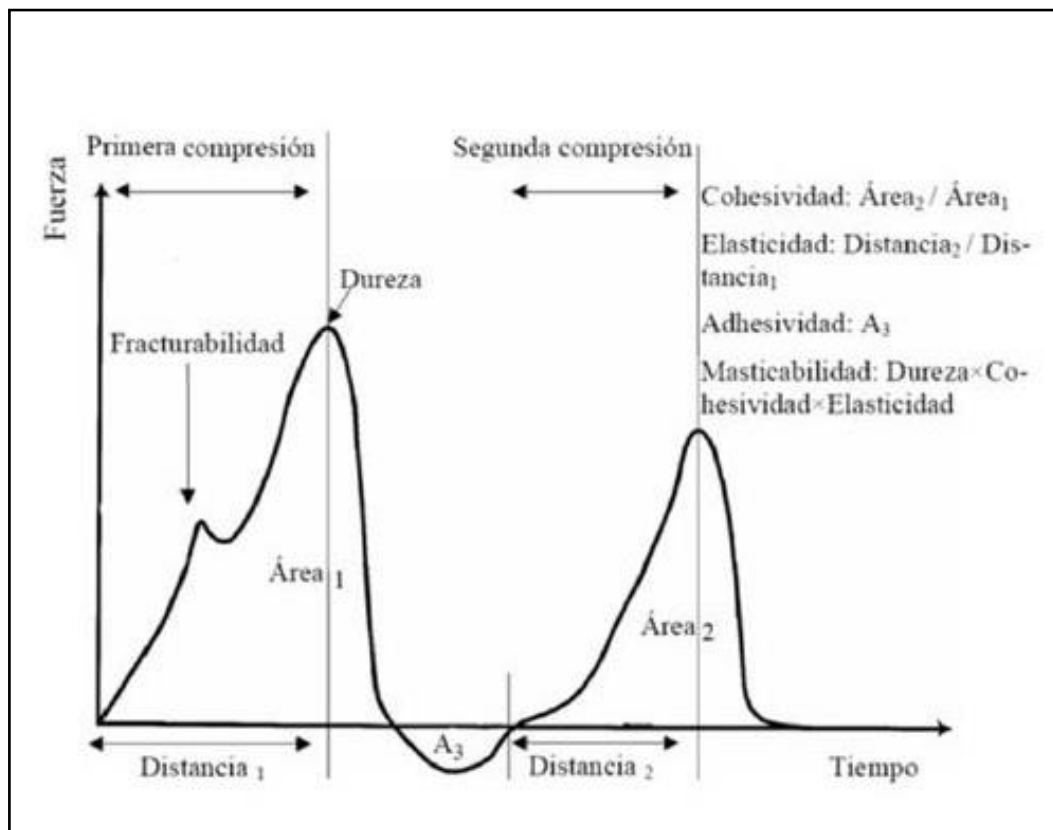


Figura 13: Esquema de un gráfico de fuerza en función del tiempo obtenido luego de la prueba de doble compresión.

5.2.2. Jugosidad

La jugosidad es un atributo de importancia en la aceptabilidad de la carne por parte del consumidor. Esta puede estar influenciada por la cantidad de agua retenida por la carne luego de la cocción. La jugosidad se relaciona íntimamente con la percepción del consumidor del sabor, textura y estimula la producción de saliva en la boca (FAO, 2014)

El contenido de lípidos, intramuscular o marmoleo o la grasa intermuscular que pueda quedar en los extremos del corte cárnico, se correlaciona positivamente con la jugosidad y con el sabor y permite aumentar la capacidad de retención de líquidos (disminuyendo pérdidas de evaporación y goteo), logrando mantener la jugosidad de la carne (FAO, 2014).

Efecto de la aplicación de tratamientos térmicos asistidos por altas presiones hidrostáticas

La percepción de jugosidad también está relacionada con la ternura, dado que, la mayor facilidad de masticación, permite liberar los líquidos de la pieza de carne con menor esfuerzo.

La jugosidad no se mide de manera instrumental ya que es un atributo sensorial subjetivo. La percepción del consumidor puede estimarse indirectamente midiendo la proporción de lípidos, capacidad de retención de agua, pérdidas luego de cocción, humedad expresable, entre otras metodologías, sin embargo la metodología más confiable y consistente son los métodos sensoriales (Winger y Hagyard, 1994). Los estudios comparativos de métodos subjetivos de análisis de jugosidad contrastados con mediciones objetivas tales como capacidad de retención de agua luego de cocción arrojan resultados contradictorios, mostrando una variedad de escenarios, desde alta correlación a poca o nula (Winger y Hagyard, 1994). En relación a la cantidad de lípidos en la carne, esta influye tanto como lubricante durante la masticación como estímulo para la salivación, sumado al efecto sensorial del sabor de la grasa en la percepción subjetiva de jugosidad (FAO, 2014; Winger y Hagyard, 1994).

5.2.3. Color

El color, junto con la textura, es una variable fundamental de estudio en carne. Generalmente, los consumidores valoran la apariencia y el color de los cortes cárnicos para su aceptación o rechazo (AMSA, 2012).

Desde un punto de vista físico el color se puede definir como una sensación subjetiva, resultado de una compleja serie de respuestas fisiológicas y psicológicas a la radiación electromagnética de longitudes de onda comprendidas en el intervalo de 400-700 nm. También, es posible definirlo como la interacción de una fuente luminosa (iluminante) sobre un objeto (alimento) en un entorno definido y determinado por un observador. Físicamente, la mayoría de los alimentos son translúcidos; sin embargo, el color de la carne se puede considerar como un fenómeno de superficie de un sólido opaco, en el cual la luz incidente sufre fenómenos de absorción, reflexión o dispersión, pero generalmente existe una escasa transmisión (AMSA, 1991).

El color de la carne está fuertemente influenciado por el pigmento proteico mioglobina, cuya función es de transporte y reserva de oxígeno para el tejido muscular (principalmente músculo esquelético). Esta proteína, se encuentra relacionada con la hemoglobina y, al igual que ésta, contiene el grupo prostético hemo (anillo tetrapirrólico unido a un átomo de hierro en su centro). La mioglobina está compuesta solo por una cadena polipeptídica con estructura terciaria globular y estructura secundaria (75%) en α -hélicoidal la cual está unida al grupo prostético. El color que

presenta la carne depende del estado de oxidación del hierro del grupo hemo de la mioglobina. Cuando el hierro se encuentra reducido (Fe^{2+}) y en ausencia de oxígeno (desoximioglobina) el color que presenta la carne es rojo/púrpura. Cuando el hierro se encuentra en ese estado y en presencia de oxígeno (oximioglobina) el color de la carne es rojo brillante. Cuando el hierro se encuentra oxidado (Fe^{3+}) se denomina metamioglobina y es incapaz de unirse al oxígeno. El consumidor promedio relaciona frecuentemente el color rojo brillante de la oximioglobina con frescura e inocuidad en la carne, mientras que el color pardo de la metamioglobina es considerado indeseado (Mancini y Hunt, 2005). También, se puede formar sulfomioglobina por la combinación de la mioglobina con sulfhídrico de origen bacteriano, otorgando un color verde a la carne (Lupano, 2013). Por otro lado, la carboximioglobina, que se produce al unirse monóxido de carbono (CO) al grupo hemo, genera un color rojo brillante (Mancini y Hunt, 2005). Esta se presenta en la carne envasada en atmósfera modificada con CO.

Otros factores que afectan en menor medida el color son la proporción de grasa intramuscular (que depende de la especie, raza, genética e historial nutricional) y los cambios *post-mortem* en el músculo como la modificación del pH, condiciones de almacenamiento, pérdidas de humedad, forma y tipo de iluminación durante la exposición al consumidor.

Medición del color

Las mediciones de color se pueden realizar mediante dos métodos básicos: uno basado en la apreciación visual humana (método subjetivo), y el otro en el análisis instrumental (método objetivo). Las limitaciones de los métodos visuales son las que justifican la utilización de las técnicas instrumentales.

La CIE (Comité Internacional de Iluminación), organización responsable de formular y promover estándares internacionales en relación al estudio de color, desarrolló los sistemas más utilizados para la determinación del color los cuales se basan en el uso de fuentes de iluminación y un observador estándar (por ej., iluminación D65 y observador 10°) (Giese, 1995). El espacio físico de colores definido en 1931 por la CIE se basa en la percepción tricromática. Se sabe que para el ojo es posible reconstruir todos los estímulos coloreados mezclando cantidades apropiadas de los tres estímulos fundamentales: rojo, verde y azul (modelo RGB: red, green, blue). Dentro de la multitud de espacios definidos actualmente, la CIE recomendó en 1976 el espacio de color CIELab adoptado también como norma. El espacio de color CIELab es un sistema tridimensional esférico definido por tres coordenadas colorimétricas L^* , a^* y b^* ; estas son magnitudes adimensionales y

se calculan a partir de fórmulas matemáticas (Figura 14). La coordenada L^* , ubicada en el eje vertical, se asocia con la luminosidad y puede tener valores entre 0 (negro) y 100 (blanco). La coordenada a^* se asigna al espectro de longitudes de onda que van desde el verde (valores negativos) al rojo (valores positivos). La coordenada b^* , de forma similar, se asigna a las longitudes de onda que van desde el azul (valores negativos) al amarillo (valores positivos) (Saláková, 2012). Existen dos magnitudes colorimétricas, también llamadas magnitudes psicofísicas, el tono (h^*) y el croma (C^*) calculadas a través de fórmulas matemáticas a partir de a^* y b^* .

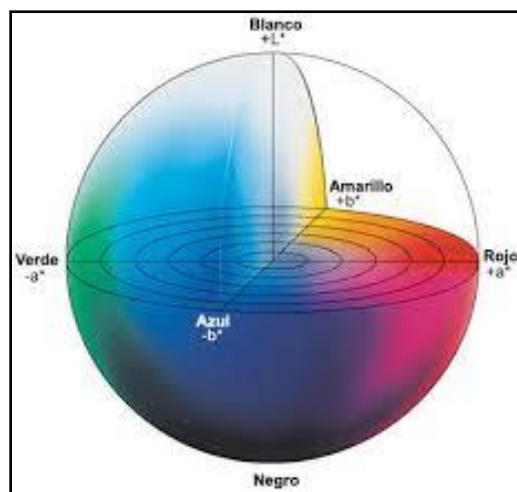


Figura 14: Espacio de color CIELab (Minolta).

6. Principales efectos de la aplicación de APH en carnes rojas

La tecnología de APH se utiliza extensamente en la industria cárnica como tratamiento de pasteurización fría con el fin principal de extender la vida útil y asegurar la inocuidad de los productos listos para consumir (Marcos *et al.*, 2010). Además de estos efectos positivos, las APH inducen diferentes cambios fisicoquímicos en la carne, tales como modificaciones en el color, la textura, oxidación lipídica, y ciertos procesos biológicos (Duranton *et al.*, 2014). Estos cambios se originan principalmente por el efecto que ejercen las APH sobre las proteínas cárnicas, su desnaturalización y pérdida de la estructura nativa (Duranton *et al.*, 2014; Mújica-Paz *et al.*, 2011). La presión promueve el despliegue de la estructura de las proteínas con posterior re-asociación una vez que la presión desciende, estas modificaciones en la estructura son reversibles cuando las presiones son inferiores a 300 MPa (Sun y Holley, 2010). Es importante destacar que los enlaces covalentes no son afectados por la presión; por lo tanto, las vitaminas y compuestos asociados al sabor no se ven modificados. El efecto térmico, en contraste, afecta enlaces de hidrógeno y covalentes, determinando la desnaturalización irreversible de proteínas y otras moléculas, este

efecto provoca un agregado irreversible de las proteínas a diferencia del efecto transitorio de la presión (Warner *et al.*, 2017; Mújica-Paz *et al.*, 2011).

La aplicación de tratamientos con APH en carnes frescas aún es un desafío para el sector de I+D+i y para la industria. El uso de esta tecnología podría favorecer la comercialización de carne fresca con atributos asegurados ya que, además de extender la vida útil, mejoraría la terneza. Este es un punto de interés debido a que se estima que la demanda de carnes, y en particular las rojas, aumentará en los próximos años (Mullen *et al.*, 2017), a la vez que los consumidores demandarán alimentos más naturales, sin aditivos, mínimamente procesados (McArdle *et al.*, 2011).

Como se mencionó anteriormente, entre los principales atributos que influyen en el disfrute al momento del consumo de carne se encuentran tanto la terneza como la jugosidad y el flavour (Bhat *et al.*, 2018). En relación a la terneza, la aplicación de APH puede tiernizar o endurecer un corte cárnico dependiendo de la naturaleza del músculo, el estado de *rigor mortis*, el nivel de presión, la temperatura del medio, y la duración del tratamiento.

Varios estudios indican que la aplicación de tratamientos con APH (100-225 MPa; 10-35°C) a carne pre-*rigor mortis* es efectiva para lograr una mejora de la terneza (Bouton, Harris, Macfarlane, y O'Shea, 1977; Macfarlane, 1985; Macfarlane *et al.*, 1982). Sin embargo, la comercialización de carne pre-*rigor* tratada con APH no se ha realizado aún, probablemente debido a la complejidad del deshuesado en caliente, cuestiones legales, costos, entre otros (Rastogi *et al.*, 2007).

La aplicación de tratamientos con APH en carne post-*rigor mortis*, a bajas temperaturas o temperatura ambiente, ha presentado diferentes resultados dependiendo del tiempo, la temperatura y nivel de presión aplicada. Sin embargo, los resultados correspondientes a las muestras tratadas con APH indican que no hay cambios evidentes en la textura o bien se observa un aumento de la dureza de los cortes cárnicos presurizados (Warner *et al.*, 2017).

Para lograr un efecto de mejora en la terneza en carne post-*rigor mortis* se deben combinar los tratamientos con APH con valores más elevados de temperaturas (> 25°C). Estos tratamientos han demostrado ser muy efectivos en el aumento de la terneza de carne vacuna (Sikes y Warner, 2016). Esta mejora se asocia a varios factores, entre ellos una aceleración de la proteólisis, una acción cooperativa entre una mejora en la acción de las enzimas y modificaciones en la estructura muscular (Sikes *et al.*, 2010), no asociadas a cambios en el colágeno (Beilken *et al.* 1990; Bouton *et al.*, 1980). La mayoría de los estudios en músculo *post-rigor mortis* que aplicaron tratamientos con APH combinados con temperaturas elevadas (de hasta 73°C) involucraron tiempos de

Efecto de la aplicación de tratamientos térmicos asistidos por altas presiones hidrostáticas

mantenimiento de 20 min con niveles de presión entre 100 y 600 MPa (Ma y Ledward, 2004; McArdle *et al.*, 2011; Sikes *et al.*, 2010; Sikes y Tume, 2014).

Teniendo en cuenta que entre los parámetros críticos en las aplicaciones comerciales de APH se encuentran los costos de capital, los costos operativos y la producción por hora, los tiempos de proceso son muy importantes. De todas maneras, otros desafíos se presentan en el desarrollo y utilización comercial de APH para la mejora de la terneza de la carne, además de los costos. Para que la aplicación industrial de APH para la mejora de la terneza de piezas cárnicas enteras sea una realidad será necesario desarrollar procesos que se puedan adaptar a los equipos existentes, los cuales actualmente no tienen esta capacidad (Sikes y Warner, 2016).

7. Objetivo general

El objetivo general de la presente Tesis de Maestría fue evaluar el efecto de la aplicación de tratamientos térmicos asistidos por altas presiones hidrostáticas sobre los parámetros tecnológicos, cromáticos y de textura de músculo *Superficial pectoralis* bovino.

Capítulo II: Materiales y métodos

1. Materia prima

Para la realización de los ensayos se utilizaron músculos *Superficial pectoralis* bovino (tapa de asado) originado de la despostada del cuarto delantero, a partir del corte “Pecho 10 costillas” (código IPCVA 2312 – 2323), provenientes de medias reses de novillos de razas británicas (48 h post-faena). Luego de eliminar la grasa superficial los músculos se envasaron al vacío en bolsas Cryovac BB2800CB (Buenos Aires, Argentina) y se almacenaron a $1,5\pm 0,5^{\circ}\text{C}$ (Figura 15).



Figura 15: Muestras acondicionadas e identificadas previo a su almacenamiento

2. Diseño experimental

Con el fin de estudiar el efecto de la presión y la temperatura, durante el tiempo de mantenimiento de la presión, en el tratamiento con APH sobre los parámetros tecnológicos, cromáticos y de textura de músculos *Superficial pectoralis* bovino se planteó un diseño de Red de Doehlert con dos factores (Araujo y Brereton, 1996; Ferreira, dos Santos, Quintella, Neto, y Bosque-Sendra, 2004). En la Tabla 1 se presentan los valores codificados y reales para cada uno de los factores y sus niveles. Los valores reales correspondientes a cada nivel de cada factor se calcularon fijando los valores extremos, y luego los valores intermedios se obtuvieron del diseño experimental. El punto central del diseño (correspondiente al tratamiento 7) se realizó por triplicado para la determinación del error experimental.

Tabla 1: Valores codificados y reales de los factores nivel de presión y temperatura

Tratamiento	Valores codificados		Valores reales	
	Nivel de Presión	Temperatura	Nivel de Presión (MPa)	Temperatura (°C)
1	-0,5	-0,866	200	30
2	0,5	-0,866	400	30
3	-0,5	0,866	200	70
4	0,5	0,866	400	70
5	1	0	500	50
6	-1	0	100	50
7	0	0	300	50

Las variables respuesta (variación del pH con el tratamiento de APH y luego de la cocción, porcentaje de pérdida de peso por APH y por cocción, rendimiento total, humedad expresable, parámetros cromáticos, resistencia al corte y del perfil de textura) son representadas por un diseño cuadrático completo conteniendo 6 coeficientes, el cual se ajusta a la siguiente ecuación:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^2 \beta_i x_i + \sum_{i=1}^2 \beta_{ii} x_{ii} + \sum_{i < j} \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon$$

donde Y es la variable respuesta; β_0 es la constante, β_i , β_{ii} y β_{ij} son los coeficientes para los efectos lineales, cuadráticos y de interacción, respectivamente; y x_i son las variables independientes codificadas, linealmente relacionadas con del nivel de presión y la temperatura, durante el tiempo de mantenimiento de la presión, del tratamiento con APH y ε es el término de error (variable que representa todos los otros factores que pueden influir en la variable respuesta exceptuando a las variables independientes consideradas en el modelo).

3. Preparación de las muestras

La carne refrigerada se cortó en forma de paralelepípedos (30x20x100 mm) de manera tal que la dirección de la fibra fuese perpendicular a la superficie de corte. Luego de la medición de pH, las porciones se pesaron en una balanza Vibra (Modelo AJ-4200E, Japón, capacidad de 4200±0,01 g), envasaron al vacío en bolsas Cryovac BB2800CB y mantuvieron refrigeradas (1,5±0,5°C) durante 18 h.

4. Aplicación de los tratamientos de APH

Las muestras envasadas al vacío fueron sometidas a los tratamientos con APH (Tabla 1) en un equipo Stansted Fluid Power Ltd. modelo Iso-Lab FPG9400:922 (Stansted, Reino Unido, volumen de trabajo de 2 L, presión máxima de operación de 900 MPa, y rango de temperatura de trabajo entre -20 y 120°C). El fluido de presurización utilizado fue una mezcla de propilenglicol y agua destilada (proporción 70:30 v/v). La velocidad de presurización en todos los tratamientos fue de 300 MPa.min⁻¹.

Previo al tratamiento con APH, las muestras fueron precalentadas en un baño de agua termostatzado (Lindberg/Blue M, modelo RWB3220CY-1, NC USA) hasta alcanzar la temperatura requerida en el punto de mínimo tratamiento (PMT, entre 20 y 65°C según el tratamiento). Para determinar esta temperatura inicial se tuvieron en cuenta ensayos previamente realizados (Silva Paz, 2015). El incremento de temperatura de la carne, debido al calentamiento adiabático, es de aproximadamente entre 3,2 y 4,0°C por cada 100 MPa. Una vez precalentadas, las muestras se colocaron en el cilindro de alta presión, termostatzado a la temperatura de tratamiento, para evitar fluctuaciones de temperatura una vez alcanzada la presión de tratamiento. Asimismo, la temperatura del fluido de presurización fue programada a una temperatura inferior a la de tratamiento, teniendo en cuenta el efecto del calentamiento adiabático, para que luego de la presurización la temperatura del medio de presurización al inicio de la fase de mantenimiento sea la planificada para cada tratamiento. Para ello, se consideró un incremento de la temperatura del fluido de presurización de aproximadamente 3°C por cada 100 MPa. El tiempo de mantenimiento de la presión fue, para todos los tratamientos, de 5 min.

Para medir las temperaturas, tanto durante el precalentamiento como en el procesamiento con APH se colocaron termopares tipo K de punta rígida en 2 muestras por cada tratamiento, utilizando un dispositivo plástico de cierre. El registro de las temperaturas durante el precalentamiento en baño se realizó utilizando un multímetro digital (Fluke Hydra 2625A, John Fluke Mfg. Co., Inc., Everett, USA) y los datos se almacenaron en el disco rígido de una computadora personal conectada al multímetro mediante una placa RS232. Las lecturas de las temperaturas fueron tomadas a intervalos de 30 s y la precisión de la medición fue de $\pm 0,1^\circ\text{C}$. Durante el procesamiento con APH, las temperaturas fueron registradas y almacenadas por el software SCADA instalado en la computadora del equipo (ver anexo). Luego del tratamiento con APH, las muestras se enfriaron en un baño de agua con hielo y se conservaron refrigeradas ($1,5\pm 0,5^\circ\text{C}$) hasta su posterior análisis o cocción.

5. Cocción

Las muestras fueron envasadas al vacío en bolsas *cook-in* (Cryovac CN640) y se cocinaron en un baño de agua a 75°C (Lindberg/Blue M, mod. RWB3220CY-1, NC USA). Se aplicó una combinación 70°C–2 min en el PMT (reducción de 6D de *Listeria monocytogenes*) y la curva de penetración de calor se registró utilizando termopares flexibles tipo T, colocados mediante dispositivos *stuffing box* (Ecklund Harrison Tech, USA). Los datos se registraron con un multímetro digital (Fluke Hydra 2625A, John Fluke Mfg. Co., Inc., Everett, USA) y se almacenaron en el disco rígido de una computadora. Las lecturas de las temperaturas fueron tomadas a intervalos de 10 s y la precisión de la medición fue de $\pm 0,1^\circ\text{C}$ (ver anexo). Inmediatamente después del tratamiento térmico, las muestras se sumergieron en un baño de agua-hielo hasta que la temperatura en el PMT alcanzó los 26°C (Vaudagna *et al.*, 2002). Posteriormente fueron almacenadas en refrigeración a $1,5\pm 0,5^\circ\text{C}$ hasta su posterior análisis.

6. Análisis de las muestras

6.1. Determinación de pH

El pH de las muestras se determinó antes de su procesamiento (pH_{crudo}), luego de los tratamientos con APH (pH_{APH}) y de la cocción (pH_{C}). Para realizar las mediciones se empleó un pH-metro portátil con electrodo de punción (TESTO mod. 230, Buenos Aires, Argentina). La variación de pH luego del tratamiento ($\Delta\text{pH}_{\text{APH}}$) se calculó como la diferencia entre el pH de las muestras luego del tratamiento APH y el pH de las muestras crudas. La variación de pH luego de cocción ($\Delta\text{pH}_{\text{C}}$) se calculó como la diferencia entre el pH de las muestras luego de la cocción y el pH de las muestras crudas.

6.2. Pérdidas de peso y rendimiento total

Los parámetros tecnológicos evaluados fueron el porcentaje de pérdida de peso durante el tratamiento con APH (PP_{APH}), durante la cocción (PP_{C}) y el rendimiento total (RT). Cada porcentaje de pérdida de peso se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula general:

$$PP(\%) = \left(\frac{m_1 - m_2}{m_c} \right) * 100$$

donde, según el porcentaje de pérdida de peso que se trate, m_1 y m_2 corresponden a:

PP_{APH}: m₁ es el peso de la muestra cruda y m₂ es el peso de la muestra luego del tratamiento con APH;

PP_C: m₁ es el peso de la muestra luego del tratamiento con APH y m₂ es el peso de la muestra luego de la cocción.

Todos los porcentajes de pérdida de peso se calcularon sobre la base del peso de la muestra cruda, m_c.

El rendimiento total (RT) se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$RT(\%) = \left(\frac{m_1}{m_2}\right) * 100$$

donde m₁ es el peso de la muestra cocida y m₂ es el peso de la muestra cruda.

6.3. Humedad expresable

Las muestras de carne cocida se cortaron en cubos de aproximadamente 1,5±0,2 g, y se colocaron en tubos de centrífuga de 50 mL, conteniendo un capirote formado por papel de filtro Munktell 1003 (retención de partícula: 6 µm) rodeado con un segundo papel de filtro Munktell 1F (retención de partícula: 3 µm). Luego, las muestras se centrifugaron a 4800xg durante 20 min a 4°C (Model RC3C, Sorvall Instruments). La humedad expresable (HE) se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$HE(\%) = \left(\frac{m_1 - m_2}{m_1}\right) * 100$$

donde m₁ y m₂ son los pesos de las muestras antes y después de la centrifugación, respectivamente.

6.4. Parámetros cromáticos

Los parámetros cromáticos se midieron en las muestras de carne luego del tratamiento con APH y de la cocción utilizando un colorímetro Minolta portátil modelo CR400 (Konica Minolta, Japón), utilizando un iluminante D65 y un ángulo de observador de 2°. Los parámetros cromáticos se midieron en el sistema CIELab, obteniéndose los valores de L* (luminosidad), a*(rojo/verde) y b* (amarillo/azul).

6.5. Resistencia al corte

La resistencia al corte se midió con una celda de Warner-Bratzler con cuchilla triangular, utilizando un analizador de textura Stable Micro Systems modelo TA.XT *plus* (Godalming, Surrey, Reino Unido). Las mediciones se realizaron sobre 8 tarugos (2,0 cm altura; 1,27 cm de diámetro) separados de las piezas de carne luego de la cocción. La preparación y el acondicionamiento refrigerado de las muestras y el procedimiento de medición se ejecutaron siguiendo las pautas generales establecidas por AMSA (1995).

6.6. Análisis del perfil de textura

El análisis del perfil de textura se realizó sobre 8 muestras cilíndricas obtenidas de las piezas de carne cocidas (1,6 cm altura; 1,27 cm de diámetro) para evaluar cada tratamiento. Previamente se equilibraron a temperatura ambiente (25 °C). Los parámetros de textura fueron evaluados mediante una prueba de doble compresión, utilizando un analizador de textura Stable Micro Systems modelo TA.XT *plus* (Godalming, Surrey, Reino Unido). Los ensayos de compresión se realizaron con un accesorio cilíndrico (35 mm diámetro). Las muestras fueron comprimidas un 70% de su altura original con una velocidad de compresión de 0,5 mm/s. Los parámetros dureza (N), elasticidad, cohesividad y masticabilidad (N) fueron calculados utilizando el software Texture Exponent 32 software (v 5.1.1.0).

7. Análisis estadístico

Los valores de los coeficientes de las variables independientes de las ecuaciones para cada variable respuesta (porcentaje de pérdida de peso por tratamiento con APH y por cocción, rendimiento total, pH después del tratamiento con APH y luego de la cocción, humedad expresable, parámetros cromáticos, resistencia al corte mediante cizalla de Warner Bratzler y del perfil de textura) se obtuvieron mediante análisis de regresión lineal múltiple. El nivel de significación se determinó utilizando la prueba F ($p < 0,05$). Aquellas variables independientes que fueron significativas ($p < 0,05$) en los modelos completos se retuvieron en los modelos reducidos. Esos modelos reducidos se utilizaron para generar las superficies de respuesta.

A fin de establecer la combinación de presión-temperatura del proceso APH más favorable para los objetivos del presente trabajo se empleó la función de deseabilidad compuesta del programa Statistica12 (trial version 12, Stat Soft, OK, USA). La función deseabilidad compuesta permite evaluar la combinación de variables que optimiza un conjunto de respuestas deseadas. La

deseabilidad tiene un rango de cero a uno, siendo uno la situación ideal que maximiza la respuesta deseada y cero indica que se encuentra fuera de límite. Al buscar la combinación óptima de variables independientes, previamente se debe determinar si se desea maximizar o minimizar la/s variables respuestas seleccionadas como más importantes en el modelo experimental.

La deseabilidad individual es un método de optimización para la búsqueda de maximización/minimización de una variable respuesta específica mediante la búsqueda de los valores de las variables independientes que mejor resultados logran para el objetivo establecido. Esto puede implicar compromisos, por ejemplo, la minimización individual de la respuesta resistencia al corte conlleva una disminución en el rendimiento total (RT).

Por otra parte, tal como se detalla anteriormente, la función de deseabilidad compuesta se pueden seleccionar diferentes objetivos de maximización/minimización de más de una variable respuesta, con diferentes ponderaciones según las prioridades asignadas.

Capítulo III: Resultados y discusión

1. Variación de pH

Los coeficientes de regresión estimados para los parámetros variación del pH durante el tratamiento de APH ($\Delta\text{pH}_{\text{APH}}$) y luego de cocción ($\Delta\text{pH}_{\text{C}}$) fueron obtenidos por análisis de regresión múltiple (Tabla 2 y 3).

Para la $\Delta\text{pH}_{\text{APH}}$, el modelo fue significativo y explicó el 97,5% de las respuestas observadas ($R^2 = 0,975$), la falta de ajuste no fue significativa ($p > 0,05$) (Tabla 2). Los términos nivel de presión y temperatura modificaron significativamente ($p < 0,05$) este parámetro, tanto de forma lineal como cuadrática (Tabla 3). Los valores de $\Delta\text{pH}_{\text{APH}}$ aumentaron con el incremento de estos factores. Además, el término de interacción P x T fue significativo ($p < 0,05$). Como puede observarse en la Figura 16, el $\Delta\text{pH}_{\text{APH}}$ tiende a valores máximos cuando la temperatura y la presión superaron los 50°C y 300 MPa, respectivamente.

En relación a la $\Delta\text{pH}_{\text{C}}$, el modelo fue significativo y explicó el 63,3% de las respuestas observadas ($R^2 = 0,633$). Sin embargo, la falta de ajuste no fue significativa ($p > 0,05$) (Tabla 2). Dado que el efecto de la temperatura fue significativo ($p < 0,05$), sería posible pensar que el incremento de este factor aumentaría los valores de $\Delta\text{pH}_{\text{C}}$.

Tabla 2: Análisis de varianza (ANOVA) del modelo de segundo orden correspondiente a las variaciones de pH luego del tratamiento APH ($\Delta\text{pH}_{\text{APH}}$) y luego de la cocción (ΔpH_c) de músculos *Superficial pectoralis* bovinos tratados con APH.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio del error	Valor F	Valor p
$\Delta\text{pH}_{\text{APH}}$					
Modelo	0,094809	5	0,018962	92,95	0,000
Falta de ajuste	0,00072	1	0,000752	4,88	0,050
Error puro	0,001696	11	0,000154		
Total	0,097257	17			
R ² : 0,9748					
ΔpH_c					
Modelo	0,023369	5	0,004674	4,15	0,020
Falta de ajuste	0,003675	1	0,003675	4,10	0,068
Error puro	0,009850	11	0,000895		
Total	0,036894	17			
R ² : 0,6334					

Tabla 3: Coeficientes de regresión para los modelos de regresión correspondientes a las variaciones de pH luego del tratamiento APH ($\Delta\text{pH}_{\text{APH}}$) y luego de la cocción (ΔpH_c) de músculos *Superficial pectoralis* bovinos tratados con APH.

Términos	$\Delta\text{pH}_{\text{APH}}$	ΔpH_c
Constante	0,27*	0,33*
Lineales		
P	0,08*	0,00
T	0,09*	0,05*
Cuadráticos		
P²	-0,03*	0,05
T²	-0,03*	-0,04
Interacciones		
PxT	-0,05*	0,00
* Nivel de significancia $p < 0,05$		
Ecuaciones reducidas (valores codificados):		
$\Delta\text{pH}_{\text{APH}} = 0,27 + 0,08 P + 0,09 T - 0,03 P^2 - 0,03 T^2 - 0,05 PxT$		
$\Delta\text{pH}_c = 0,33 + 0,05 T$		

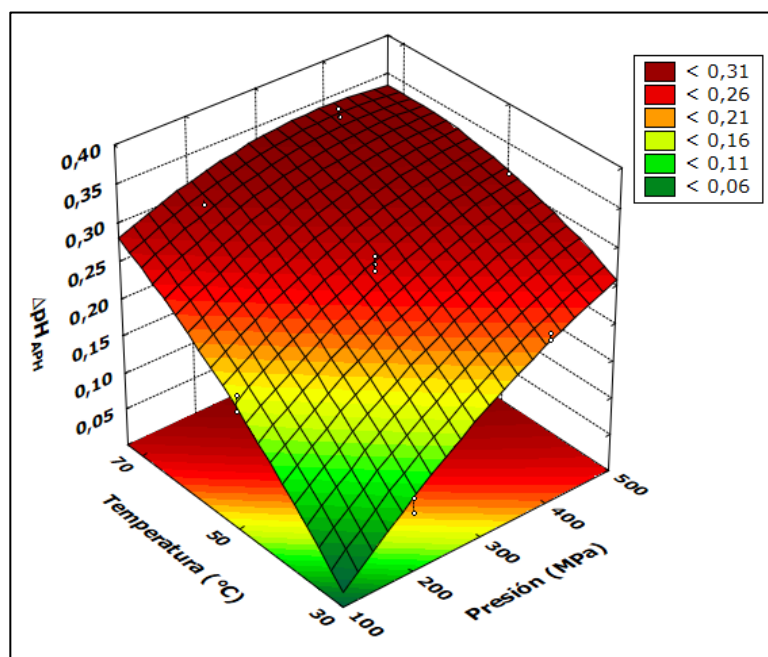


Figura 16: Superficie de respuesta del efecto de la temperatura y presión sobre la diferencia de pH luego de tratamiento APH (ΔpH_{APH}). -o- valores experimentales.

Ma y Ledward (2004) observaron en músculos *Longissimus dorsi* bovino un aumento de los valores de pH con el incremento del nivel de presión, independientemente de la temperatura de proceso (40-70°C). Además, el tratamiento térmico *per se* aumenta el pH de manera dependiente de la temperatura (Ledward, 1979). Estos autores indicaron que tanto la temperatura como la presión aumentaron los valores de pH; sin embargo, estos incrementos no serían aditivos. Por otra parte, Sikes y Tume (2014) estudiaron el efecto del tratamiento térmico asistido por APH en músculos *Semimembranosus* y *Biceps femoris*. Estos autores observaron un comportamiento similar en relación al incremento del pH luego de los tratamientos APH (200 MPa, 60°C a 76°C – 20 min). Sin embargo, el pH de los músculos tratados únicamente térmicamente (a distinta temperaturas entre 60 y 76°C) fue superior a los tratados a las mismas temperaturas durante la presurización (200 MPa). Esto indicaría que el tratamiento con APH restringiría ciertos procesos de desnaturalización térmica que normalmente ocurren a esas temperaturas (Sikes y Tume, 2014). El incremento de pH por acción térmica es atribuido al reordenamiento de las estructuras de las proteínas que, al desnaturalizarse, resulta en la pérdida de grupos ácidos. Estos efectos ocurren de manera menos intensa por acción de la presión que por la temperatura, lo que explica que los incrementos de pH observados son afectados principalmente por este último parámetro (McArdle *et al.*, 2011).

Un mecanismo descrito, que puede contribuir al incremento del pH es la liberación de grupos imidazol de la histidina, un aminoácido presente tanto en la actina como en la miosina, además de diferentes proteínas sarcoplásmicas de unión al calcio (Ca^{2+}) (Suzuki *et al.*, 1990). En el presente estudio se observó que ambas variables aumentaron los valores de pH en la carne tratada por APH, siendo la temperatura la más importante. Sin embargo, se observa un efecto de interacción, el cual ocasiona que luego de superar los 50°C y los 300 MPa, el incremento en los valores de pH se minimice, ocasionando que las diferencias de pH luego del tratamiento APH se estabilicen en los máximos observados. Este comportamiento podría estar asociado a un efecto de estabilización de la desnaturalización de las proteínas, limitando los aumentos de pH. Posiblemente, la pérdida de los grupos ácidos de las proteínas más susceptibles a la desnaturalización ocurre a temperaturas menores de 50°C y 300 MPa.

La cocción posterior de las muestras ocasionó un aumento del pH, independientemente de la presión del tratamiento, en aquellas muestras sometidas a las menores temperaturas, lo cual indica que aún las proteínas cárnicas no se encontraban completamente desnaturalizadas, lo que sí ocurrió luego de la cocción.

2. Pérdidas de peso y rendimiento total

Los coeficientes de regresión estimados para el parámetro pérdida de peso luego del tratamiento con APH (PP_{APH}) fueron obtenidos por análisis de regresión múltiple (Tablas 4 y 5).

El modelo fue significativo y explicó el 98,2% de las respuestas observadas ($R^2 = 0,982$) y la falta de ajuste no fue significativa ($p > 0,05$) (Tabla 4). El nivel de presión y la temperatura modificaron significativamente ($p < 0,05$) la PP_{APH} tanto en forma lineal como cuadrática (Tabla 5). Por lo tanto, el aumento de la temperatura incrementó los valores de PP_{APH} ; mientras que el aumento del nivel de presión la disminuyó moderadamente (Tabla 5). Además, la interacción $P \times T$ fue significativa ($p < 0,05$). En la Figura 17 se puede observar que los valores mínimos de PP_{APH} se obtuvieron cuando la presión fue de 300 MPa y la temperatura entre 30 y 50°C.

Tabla 4: Análisis de varianza (ANOVA) para el modelo de segundo orden correspondiente a la pérdida de peso luego del tratamiento de APH (PP_{APH}) y luego de la cocción (PP_C), rendimiento total (RT) y humedad expresable (HE) de músculos *Superficial pectoralis* bovinos tratados con APH.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio del error	Valor F	Valor p
PP_{APH}					
Modelo	324,327	5	64,865	134,12	0,000
Falta de ajuste	1,527	1	1,527	3,93	0,073
Error puro	4,277	11	0,389		
Total	330,131	17			
$R^2: 0,9824$					
PP_C					
Modelo	191,919	5	38,384	6,31	0,004
Falta de ajuste	5,057	1	5,057	0,82	0,385
Error puro	67,966	11	6,179		
Total	264,942	17			
$R^2: 0,7244$					
RT					
Modelo	98,783	5	19,7567	16,49	0,000
Falta de ajuste	0,298	1	0,2977	0,23	0,639
Error puro	14,077	11	1,2797		
Total	113,158	17			
$R^2: 0,8730$					
HE					
Modelo	128,718	5	25,7436	11,54	0,000
Falta de ajuste	3,797	1	3,7969	1,82	0,205
Error puro	22,962	11	2,0874		
Total	155,477	17			
$R^2: 0,8279$					

Tabla 5: Coeficientes de regresión para los modelos de regresión correspondientes a la pérdida de peso luego del tratamiento de APH (PP_{APH}) y luego de la cocción (PP_C) rendimiento total (RT) y humedad expresable (HE) de músculos *Superficial pectoralis* bovinos tratados con APH.

Términos	PP_{APH}	PP_C	RT	HE
Constante	3,25*	23,89*	71,39*	28,49*
Lineales				
P	-2,42*	2,67*	1,05*	1,44*
T	5,52*	-2,68*	-3,58*	-2,33*
Cuadráticos				
P²	2,46*	1,19	0,29	1,86
T²	5,91*	-6,01*	-0,40	-5,11*
Interacciones				
PxT	-3,48*	1,86	3,10*	0,47

* Nivel de significancia $p < 0,05$
 Ecuaciones reducidas (valores codificados):
 $PP_{APH} = 3,25 - 2,42 P + 5,52 T + 2,46 P^2 + 5,91 T^2 - 3,48 PxT$
 $PP_C = 24,37 + 2,67 P - 2,67 T - 6,25 T^2$
 $RT = 71,43 + 1,05 P - 3,58 T + 3,09 PxT$
 $HE = 29,24 - 2,33 T - 5,48 T^2 + 1,44 P$

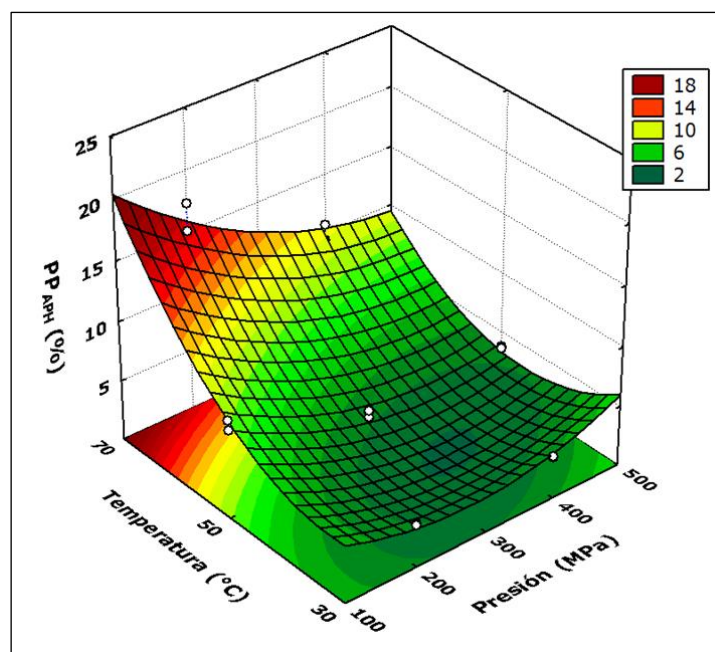


Figura 17: Superficie de respuesta del efecto de la temperatura y el nivel de presión sobre la pérdida de peso luego de tratamiento con APH (PP_{APH}). -o- valores experimentales.

Efecto de la aplicación de tratamientos térmicos asistidos por altas presiones hidrostáticas

Sikes y Tume (2014) observaron un incremento en la pérdida de peso de muestras de carne bovina (músculos *Semimembranosus* y *Bíceps femoris*) tratadas a 200 MPa – 20 min (tiempo de mantenimiento) a medida que la temperatura aumentó de 60 a 76°C. Estos autores informaron mayores pérdidas de peso en muestras sometidas a tratamientos térmicos más intensos y describieron un efecto protector de la presión sobre la desnaturalización de proteínas inducida por efectos térmicos. El efecto de la presión sobre la pérdida de peso estaría asociado a un fortalecimiento del tejido conectivo por mayores uniones hidrógeno en la estructura de la triple hélice del colágeno. Consecuentemente, la estructura proteica se estabilizaría frente a los efectos térmicos y se modera la pérdida de agua.

Con respecto a la pérdida de peso por cocción (PP_C), los coeficientes de regresión estimados fueron obtenidos por análisis de regresión múltiple (Tablas 4 y 5). El modelo fue significativo y explicó el 72,4% de las respuestas observadas ($R^2 = 0,724$) y la falta de ajuste no fue significativa ($p > 0,05$) (Tabla 4). Este parámetro fue afectado significativamente ($p < 0,05$) por la temperatura de manera lineal y cuadrática, en ambos casos en forma negativa. Por otra parte, el nivel de presión tuvo un efecto lineal significativo ($p < 0,05$) (Tabla 5). En la Figura 18 se observa que las muestras tratadas a mayores niveles de presión presentaron las mayores PP_C. Asimismo, a temperaturas de tratamiento intermedias (50°C), la PP_C también fue mayor.

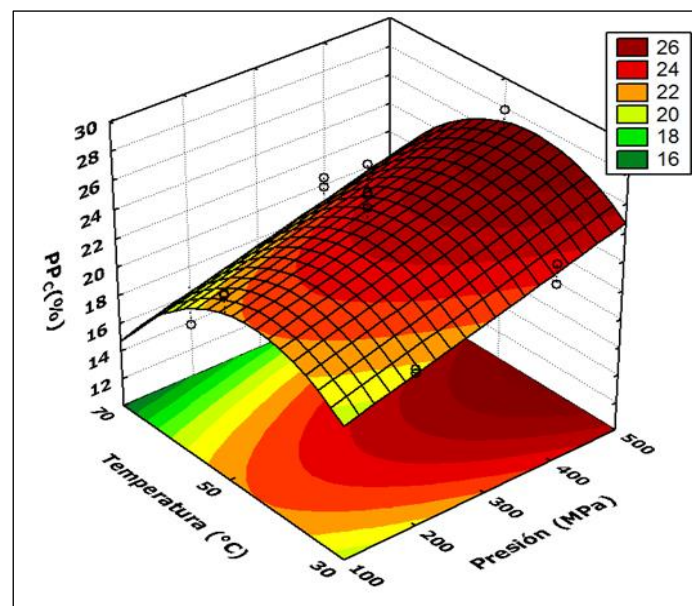


Figura 18: Superficie de respuesta del efecto de la temperatura y el nivel de presión sobre la pérdida de peso luego de la cocción (PP_C). -o- valores experimentales.

La desnaturalización de las proteínas cárnicas ocurre con mayor intensidad durante la cocción, lo que provoca una disminución en su capacidad de retención de agua. McArdle *et al.* (2011) obtuvieron mayores pérdidas por cocción en músculo *Pectoralis profundus* bovino tratados durante 20 min a 600 MPa en comparación con 400 MPa. Por lo tanto, estos autores indicaron que cuando las presiones fueron mayores, la capacidad de retención de agua de las muestras resultó menor (McArdle *et al.*, 2011). Es importante destacar que estos autores obtuvieron menores pérdidas por cocción a medida que la temperatura de tratamiento aumentó desde 35 a 55°C. Además, McArdle *et al.* (2010) observaron un incremento en la pérdida de peso por cocción, en muestras del mismo tipo de músculo, cuando el nivel de presión al cual fueron tratadas aumentó de 200 a 400 MPa, siendo notoria a partir de 300 MPa. Asimismo, el incremento en la temperatura de tratamiento (20 vs. 40°C) disminuyó las pérdidas de peso luego de la cocción. Otros autores, también observaron un aumento en la pérdida por cocción en músculo *Semitendinosus* bovino tratados a 400 MPa en comparación con los tratados a 200 o 300 MPa (Kim *et al.*, 2007). En el presente estudio, también se observa un aumento en la PP_C causado por el incremento en los niveles de presión utilizados durante el tratamiento con APH, el cual se puede atribuir a una disminución en la capacidad de retención de agua debido a cambios en la estructura de las miofibrillas. Asimismo, no hay interacción entre la temperatura y la presión, tal como se documenta en otros estudios. Sin embargo, los resultados obtenidos en el presente estudio difieren de los mencionados en párrafos anteriores ya que al aumentar la temperatura de mantenimiento de 30 a 50°C, la PP_C fue mayor. Esto puede deberse a que durante el tratamiento de APH, las muestras sometidas a esas temperaturas no presentaron altas pérdidas de peso; por lo tanto, al someterlas al proceso de cocción las muestras aumentaron las pérdidas de sus líquidos. Al incrementar la temperatura a 70°C, la PP_C disminuye. Esto puede relacionarse con que las muestras sometidas a las temperaturas más altas, perdieron mayor cantidad de líquidos durante el tratamiento de APH (tal como puede observarse en la Figura 18). Por lo tanto, esas muestras habrían retenido menor cantidad de agua en su estructura, y en la cocción liberaron menor cantidad de jugos.

Los coeficientes de regresión estimados para el rendimiento total (RT) fueron obtenidos por análisis de regresión múltiple (Tablas 4 y 5). El modelo fue significativo, explicó el 88,4% de las respuestas observadas ($R^2=0,884$) y la falta de ajuste no fue significativa ($p>0,05$) (Tabla 4). El nivel de presión y la temperatura modificaron significativamente ($p<0,05$) este parámetro (términos lineales, Tabla 5). Además, la interacción $P \times T$ fue significativa ($p<0,05$; Tabla 5), no así los términos cuadráticos de las variables independientes. Los valores más altos de RT se

obtuvieron cuando la temperatura de tratamiento fue de 30°C, y el nivel de presión estuvo entre 100 y 300 MPa (Figura 19).

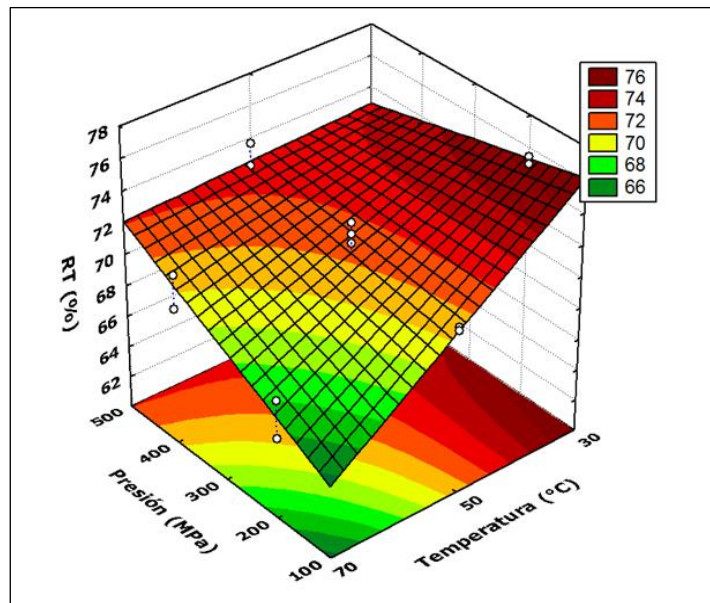


Figura 19: Superficie de respuesta del efecto de la temperatura y el nivel de presión sobre el rendimiento total (RT). -o- valores experimentales.

Este parámetro involucra todas las pérdidas de peso que ocurren durante el proceso (tratamiento con APH y cocción). Como puede observarse en la Figura 19, los menores RT se obtuvieron en las muestras tratadas a las mayores temperaturas y menores presiones. Cuando los tratamientos térmicos asistidos por APH superan los 50°C y los niveles de presión son bajos, el efecto de la temperatura sobre la desnaturalización de las proteínas tendría más relevancia que la presión. Sin embargo, cuando los niveles de presión son elevados, aún a temperaturas altas, se retiene más agua en la estructura, alcanzándose RT similares. Por ejemplo, comparando tratamientos de 500 MPa a 30°C o a 70°C, el RT fue de aproximadamente 72% y 76%, respectivamente. Esto podría deberse a la formación de ciertos agregados por efecto del tratamiento con APH, los cuales permitirían retener mayor cantidad de líquidos.

2. Humedad expresable

Los coeficientes de regresión estimados para el parámetro humedad expresable (HE) fueron obtenidos por análisis de regresión múltiple (Tablas 4 y 5). El modelo de regresión fue significativo ($p < 0,05$) y logró explicar el 82,8% las respuestas observadas ($R^2 = 0,828$). La falta de ajuste no fue significativa ($p < 0,05$) (Tabla 4). La temperatura afectó significativamente ($p < 0,05$) de manera lineal y cuadrática a este parámetro, en ambos casos en forma negativa (Tabla 5). A su vez, el nivel

de presión lo hizo solo de manera lineal (positivo) (Figura 20). La interacción PxT no fue significativa ($p>0,05$).

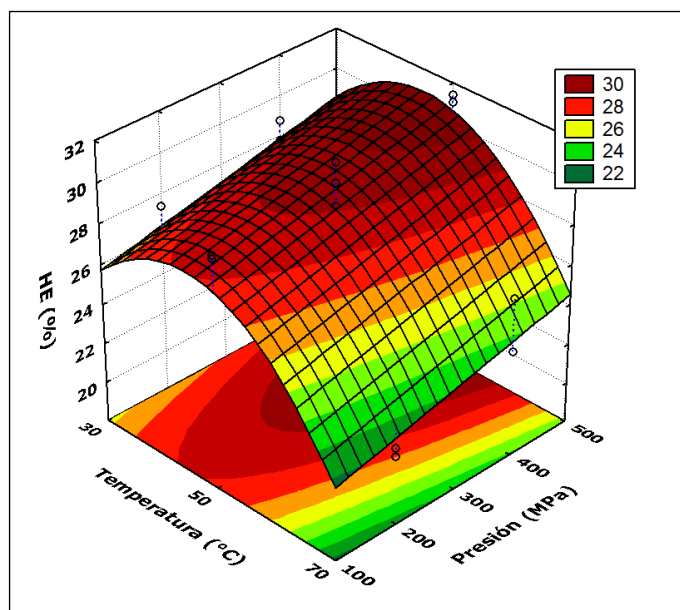


Figura 20: Superficie de respuesta del efecto de la temperatura y el nivel de presión sobre la humedad expresable (HE). -o- valores experimentales.

Este parámetro indica la cantidad de agua libre que se puede extraer mediante la aplicación de una fuerza externa, en este caso centrifuga, y se asocia a la jugosidad que podría tener una muestra de carne. Por lo tanto, las muestras que presentaron mayores valores de HE, liberaron más agua, y se podrían asociar a muestras más jugosas. En este estudio, podemos observar que las muestras tratadas a temperaturas intermedias (50°C), y presiones mayores a 300 MPa presentaron valores más altos de HE (Figura 20). En general, las muestras tratadas a 70°C presentaron los valores más bajos de HE, asociadas a un menor RT, debido a la pérdida de líquidos en las diferentes etapas del proceso. A temperaturas inferiores, a pesar de que las muestras tratadas a 30°C presentaron mayores RT que las tratadas a 50°C, estas últimas fueron las que tuvieron valores de HE más altos. Este resultado indicaría que las estructuras formadas por las proteínas miofibrilares durante el tratamiento térmico asistido por APH serían diferentes. La aplicación de un tratamiento a 30°C, permitió obtener un alto RT; y la red formada con las proteínas miofibrilares, debido a la extracción y desnaturalización de las mismas, logró retener agua al aplicarle una fuerza externa. Mientras que un tratamiento a 50°C, también permitió alcanzar un alto RT; sin embargo, el agua retenida en la estructura no estaba unida fuertemente, por lo tanto se obtuvo una alta HE. Por último, a 70°C ocurre una mayor desnaturalización de las proteínas miofibrilares afectando la capacidad de retención de agua de las miofibrillas. Podría suponerse, que las muestras tratadas a 50°C, serán las

Efecto de la aplicación de tratamientos térmicos asistidos por altas presiones hidrostáticas

más jugosas, debido a su más altos valores de HE. Esto debería confirmarse realizando un estudio de análisis sensorial.

3. Parámetros cromáticos

En la Tablas 6 y 7 se presenta el ANOVA y los coeficientes de regresión estimados para los parámetros cromáticos luego del tratamiento con APH (L^*_{APH} , a^*_{APH} y b^*_{APH}) y luego de la cocción (L^*_C , a^*_C y b^*_C) obtenidos por análisis de regresión múltiple.

Para el parámetro L^*_{APH} , el modelo de regresión fue significativo ($p < 0,05$) y logró explicar el 91,7% de las respuestas observadas ($R^2 = 0,9166$). La falta de ajuste no fue significativa ($p > 0,05$) (Tabla 6). La temperatura y la presión modificaron significativamente ($p < 0,05$) este parámetro de manera lineal (positiva) y cuadrática (negativa) (Tabla 7). Asimismo, la interacción $P \times T$ fue significativa ($p < 0,05$). Por lo tanto, a medida que la temperatura y la presión aumentaron los valores de L^*_{APH} fueron más altos, indicando un incremento en la luminosidad (muestras más blancas). Sin embargo, los valores de este parámetro fueron similares cuando el tratamiento con APH superó los 350 MPa (Figura 21.a).

Tabla 6: Análisis de varianza (ANOVA) modelo de segundo orden correspondientes a los parámetros cromáticos luego del tratamiento de APH (L^*_{APH} , a^*_{APH} y b^*_{APH}) y luego de la cocción (L^*_c , a^*_c y b^*_c) de músculos *Superficial pectoralis* tratados con APH.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio del error	Valor F	Valor p
L^*_{APH}					
Modelo	331,554	5	66,311	26,38	0,000
Falta de ajuste	9,240	1	9,240	4,86	0,050
Error puro	20,920	11	1,902		
Total	361,714	17			
R ² : 0,9166					
a^*_{APH}					
Modelo	342,010	5	68,402	75,85	0,000
Falta de ajuste	1,449	1	1,449	1,70	0,219
Error puro	9,373	11	0,852		
Total	352,832	17			
R ² : 0,9693					
b^*_{APH}					
Modelo	14,9420	5	2,98841	6,54	0,004
Falta de ajuste	1,5841	1	1,58413	4,47	0,058
Error puro	3,9005	11	0,35459		
Total	20,4266	17			
R ² : 0,7315					
L^*_c					
Modelo	214,670	5	42,934	16,99	0,000
Falta de ajuste	8,179	1	8,179	4,06	0,069
Error puro	22,152	11	2,014		
Total	245,000	17			
R ² : 0,8762					
a^*_c					
Modelo	39,9729	5	7,9946	14,58	0,000
Falta de ajuste	0,0990	1	0,990	0,17	0,69
Error puro	6,4799	11	0,5891		
Total	46,5518	17			
R ² : 0,8587					
b^*_c					
Modelo	10,2188	5	2,04376	14,27	0,000
Falta de ajuste	0,0000	1	0,00001	0,00	0,994
Error puro	1,7186	11	0,15624		
Total	11,9374	17			
R ² : 0,8560					

Tabla 7: Coeficientes de regresión para los modelos de regresión correspondientes a los parámetros cromáticos luego del tratamiento de APH (L^*_{APH} , a^*_{APH} y b^*_{APH}) y luego de la cocción (L^*_c , a^*_c y b^*_c) de músculos *Superficial pectoralis* tratados con APH.

Términos	Luego del tratamiento de APH			Luego de la cocción		
	L^*_{APH}	a^*_{APH}	b^*_{APH}	L^*_c	a^*_c	b^*_c
Constante	59,29*	22,03*	13,06*	52,39*	13,11*	14,29*
Lineales						
P	6,67*	-5,45*	-0,01	5,39*	-2,04*	-0,17
T	1,44*	-4,25*	0,98*	1,68*	-0,85*	0,58*
Cuadráticos						
P²	-3,13*	-2,62*	0,21	1,95	-1,52*	-0,17
T²	-2,82*	-4,32*	-0,57	-1,87	-1,10*	-0,39
Interacciones						
PxT	-3,32*	-1,34	-2,33*	-0,87	-1,52*	-2,26*

* Nivel de significancia $p < 0,05$

Ecuaciones reducidas (valores codificados):

$$L^*_{APH} = 59,29 + 6,67 P - 3,13 P^2 + 1,44 T - 2,82 T^2 - 3,32 PxT$$

$$a^*_{APH} = 22,03 - 5,46 P - 4,25 T - 2,61 P^2 - 4,31 T^2$$

$$b^*_{APH} = 12,93 + 0,98 T - 2,33 PxT$$

$$L^*_c = 52,53 + 5,56 P + 1,40 T$$

$$a^*_c = 13,11 - 2,04 P - 0,85 T - 1,52 P^2 - 1,1 T^2 - 1,52 PxT$$

$$b^*_c = 14,11 + 0,58 T - 2,26 PxT$$

El incremento en la luminosidad en carnes rojas, como consecuencia de la aplicación de APH, se encuentra ampliamente documentado (Bak *et al.*, 2019; Carlez *et al.*, 1995). Carlez *et al.* (1995) sugirieron que el aumento en los valores de L^* después de tratar carne bovina picada a presiones entre 200 y 300 MPa podría deberse principalmente a la desnaturalización de la globina o al desplazamiento del grupo hemo. Otros autores propusieron que esos cambios se asocian a la modificación de la conformación o coagulación de proteínas (Jung *et al.*, 2003) y daño del anillo porfirínico (Goutefongea *et al.*, 1995). Hughes *et al.* (2014) indicaron que los cambios observados en la luminosidad de la carne, sometida a tratamientos con APH, serían una consecuencia de las modificaciones en la estructura, entre las que se pueden mencionar cambios en la conformación miofibrilar, alteraciones en la refracción del sarcoplasma, reducción del diámetro de la fibra muscular y cambios en las propiedades de dispersión de la luz de la carne. Por lo tanto, las modificaciones a nivel de la microestructura y de la mioglobina, ocasionarían el aumento de luminosidad. Es interesante remarcar que a presiones superiores a 350 MPa, no se observan mayores cambios en este parámetro. Esto podría deberse a que las mayores modificaciones en la estructura miofibrilar ocurren a presiones menores; así como la desnaturalización de la mioglobina.

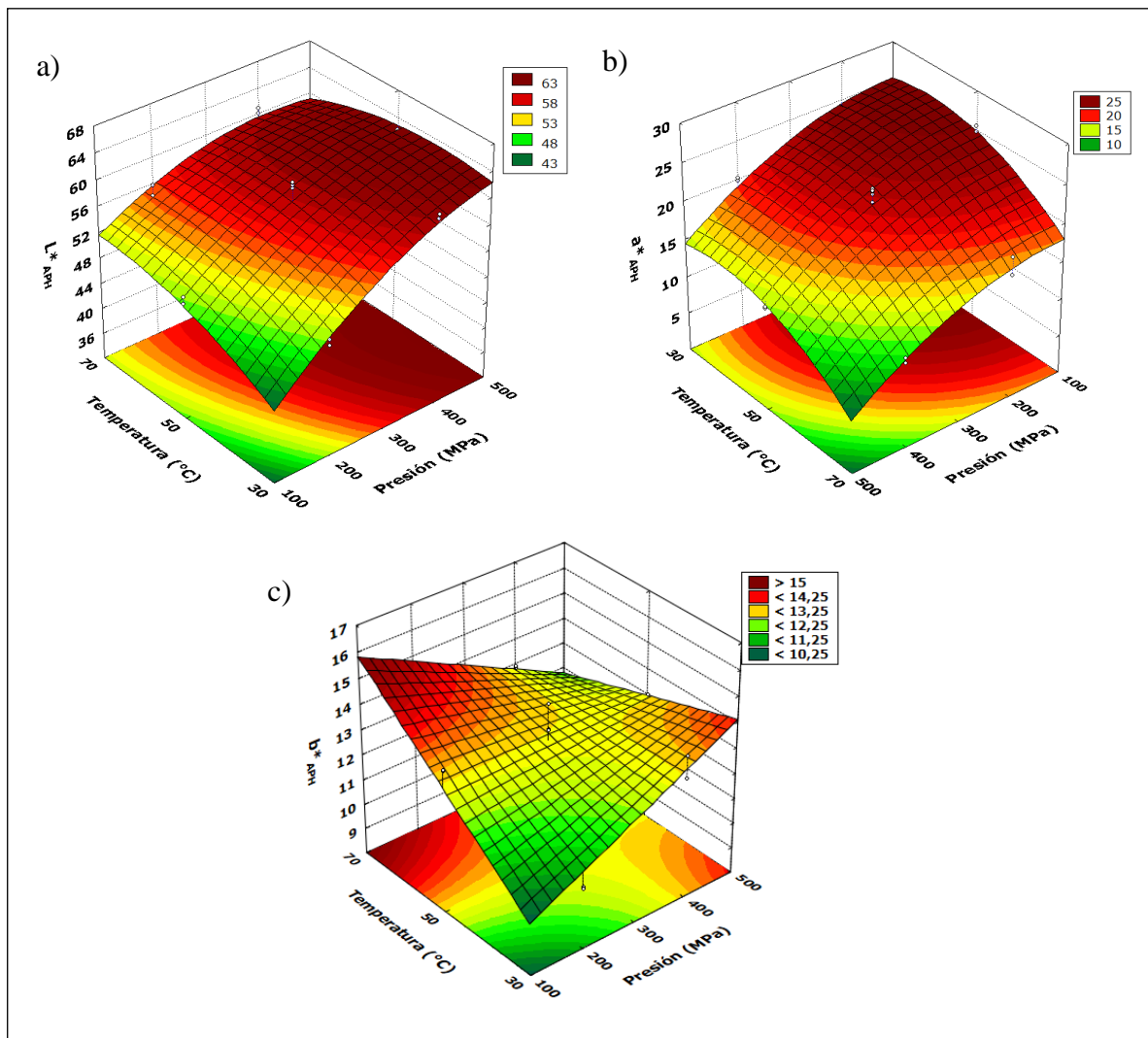


Figura 21: Superficie de respuesta del efecto de la temperatura y el nivel de presión sobre los parámetros cromáticos L*APH (a) a* APH (b) y b* APH (c) -o- valores experimentales.

Para el parámetro a^*_{APH} , el modelo fue significativo ($p < 0,05$) y logró explicar el 96,9% de respuestas observadas ($R^2 = 0,969$). La falta de ajuste no fue significativa ($p > 0,05$) (Tabla 6). La temperatura y la presión modificaron significativamente ($p < 0,05$) este parámetro tanto de manera lineal como cuadrática (ambos negativos) (Tabla 7). Por lo tanto, los valores del parámetro a^* disminuyeron con el aumento tanto de la presión como de la temperatura. La interacción $P \times T$ no fue significativa ($p > 0,05$). Las menores modificaciones se observaron en los tratamientos que combinaron temperaturas inferiores a 50°C y presiones menores a 300 MPa. Por arriba de este umbral, los valores correspondientes al parámetro a^* , disminuyen con el aumento de la presión y la temperatura, siendo mínimo cuando la temperatura fue de 70°C y la presión de 500 MPa (Figura 21.b). La disminución del parámetro a^* se atribuye a la oxidación del grupo prostético hemo de la

mioglobina a estado férrico y desnaturalización de la globina (Bhat *et al.*, 2018; Guillou *et al.*, 2016; Neto *et al.*, 2015).

Por último, el modelo para el parámetro b^*_{APH} fue significativo ($p < 0,05$) y logró explicar el 73,1% de las respuestas observadas ($R^2 = 0,731$). La falta de ajuste fue no significativa ($p > 0,05$) (Tabla 6). La temperatura afectó significativamente ($p < 0,05$) este parámetro de manera lineal positiva (Tabla 7). Por lo tanto, el aumento en la temperatura ocasionó un incremento en los valores de b^*_{APH} . Además, la interacción $P \times T$ fue significativa ($p < 0,05$) (Tabla 7). En la Figura 21.c puede observarse que, a bajos niveles de presión, el parámetro b^* aumentó con el incremento de la temperatura de proceso; mientras que, a bajas temperaturas, aumentó con el incremento del nivel de presión. Por lo tanto, los mayores valores para este parámetro se obtuvieron a altas temperaturas y bajos niveles de presión; o bien, altos niveles de presión y bajas temperaturas. Sin embargo, a altas temperaturas y altos niveles de presión se observó que los valores de b^* disminuyeron. En forma similar se observó un mínimo a bajas temperaturas y bajos niveles de presión. El comportamiento del parámetro b^* debido al incremento de la presión puede explicarse por la oxidación de la mioglobina ferrosa a metamioglobina férrica (Marcos *et al.*, 2010; Neto *et al.*, 2015). No obstante, Marcos *et al.* (2010) no observaron modificaciones en este parámetro al incrementar la temperatura de proceso de 10 a 30°C, aunque estas temperaturas son menores a las aplicadas en el presente estudio. Por otra parte, Beltran *et al.* (2004) informaron que los valores del parámetro b^* en muslos de pollo picados disminuyeron a medida que la temperatura aumentó de 20 a 50 °C a 500 MPa.

Cuando a las muestras se les aplica un tratamiento térmico asistido por APH, estas son sometidas a un proceso previo de calentamiento, en ausencia de oxígeno, durante el cual ocurre el pasaje de deoximioglobina (Fe^{+2}) a ferrohemocromo (rojo) (King y Whyte, 2006). El calentamiento causa la desnaturalización de la globina, mientras que el grupo hemo permanece intacto (Lawrie, 1998). La desnaturalización de la mioglobina y otras proteínas comienza entre los 55°C y 65°C en la carne y la mayor desnaturalización ocurre entre 75°C y 80°C (Geileskey *et al.*, 1998). Además, como se mencionó anteriormente la aplicación de presión genera la oxidación del grupo hemo (de ferroso a férrico). Por lo tanto, las muestras sometidas a tratamientos combinados a temperaturas más altas se les aplicarían las altas presiones a la globina, que ya se encontraría total o parcialmente desnaturalizada, y con el grupo hemo sufriría modificaciones debido a la presión. Esto causaría los cambios en los parámetros de color observados.

En relación al parámetro L^*_C , el modelo fue significativo ($p < 0,05$) y logró explicar el 87,6% de respuestas observadas ($R^2 = 0,876$), asimismo la falta de ajuste fue no significativa ($p > 0,05$) (Tabla

6). Tanto variable presión como temperatura modificaron significativamente ($p < 0,05$) el parámetro L^*_C de manera lineal positiva (Tabla 7). La interacción $P \times T$ no fue significativa ($p > 0,05$). El efecto sobre este parámetro puede ser explicado, además de los ya mencionados como desnaturalización de proteínas miofibrilares, sarcoplásmicas y de la mioglobina, a una disminución de la capacidad de retención de agua (Neto *et al.*, 2015). A presiones de tratamiento menores a 300 MPa se han informado menores pérdidas por cocción y de la capacidad de retención de agua en relación a tratamientos aplicando presiones superiores a 300 MPa (Bhat *et al.*, 2018). Por lo tanto, es esperable un aumento en los valores del parámetro L^* con tratamientos a presiones más altas. Además, es importante mencionar que la luminosidad en las muestras cocidas fue menor a las muestras previas a la cocción.

El modelo estadístico relacionado al parámetro a^*_C fue significativo ($p < 0,05$), logró explicar el 85,9% de respuestas observadas ($R^2 = 0,859$) y la falta de ajuste no fue significativa ($p > 0,05$). Tanto la presión como la temperatura modificaron significativamente al parámetro a^*_C de manera lineal y cuadrática, en ambos casos de manera negativa (Tablas 6 y 7). La interacción $P \times T$ también fue significativa ($p < 0,05$). Este comportamiento es similar al observado para el parámetro a^*_{APH} , donde el aumento en los valores de los parámetros de tratamiento redujo los valores del mismo.

En relación al parámetro b^*_C , el modelo fue significativo ($p < 0,05$) y explicó el 86% de las respuestas observadas ($R^2 = 0,86$) y la falta de ajuste no fue significativa ($p > 0,05$). La temperatura modificó significativamente al parámetro b^*_C de forma lineal y positiva (Tablas 6 y 7). Además, la interacción $P \times T$ fue significativa ($p < 0,05$). Estas modificaciones del parámetro b^*_C se explicarían por la oxidación de la mioglobina a metamioglobina, luego del tratamiento y la cocción (Neto *et al.*, 2015).

En la Figura 22 se presentan fotografías de las muestras de carne luego de la aplicación de los tratamientos evaluados en el estudio. En ellas se puede apreciar que los cambios de color observados luego de los tratamientos de APH, no son tan notorios luego de la cocción.

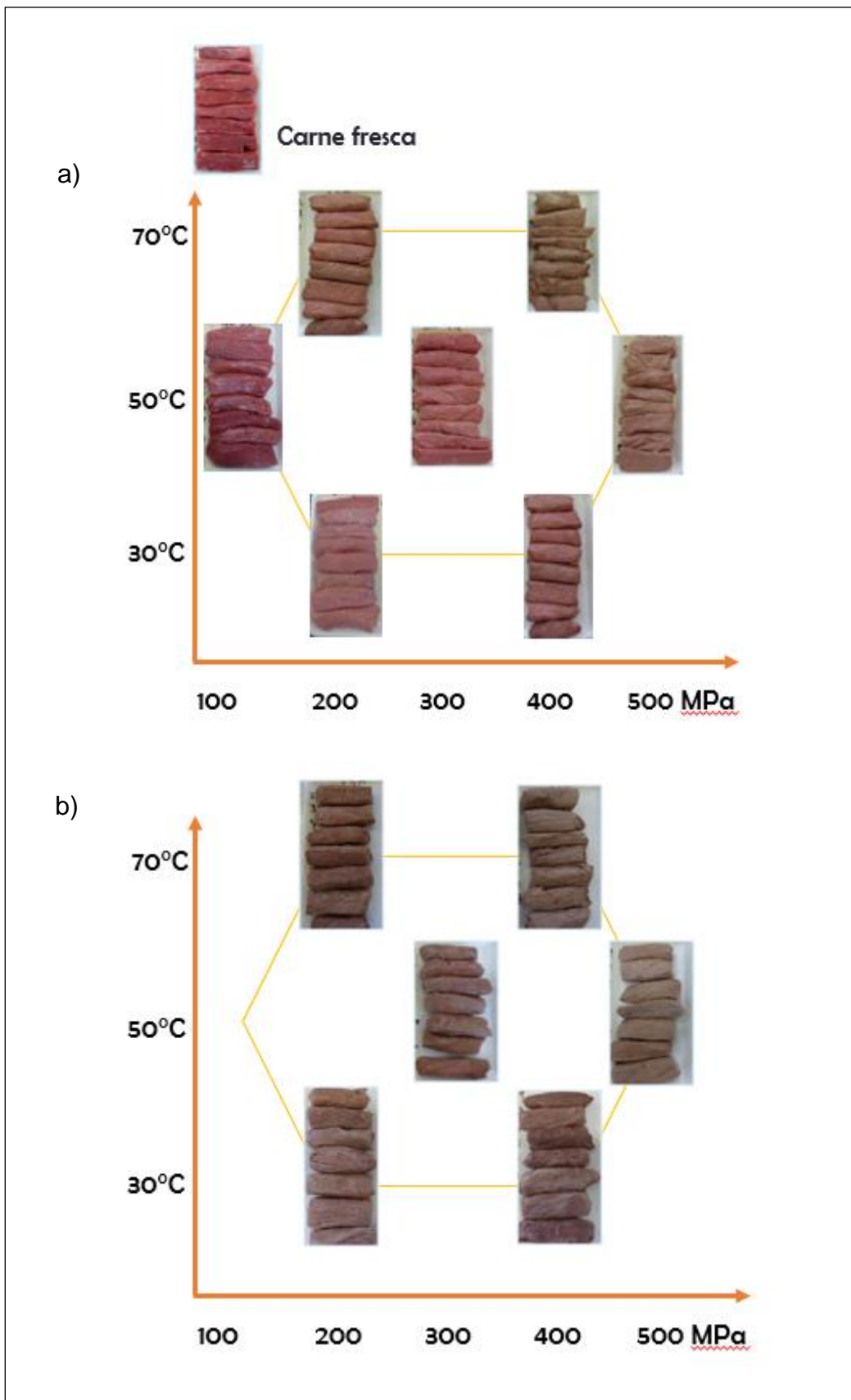


Figura 22: Fotografías de las muestras de carne: a) luego del tratamiento de APH, b) luego de la cocción

4. Resistencia al corte

El ANOVA y los coeficientes de regresión estimados para la resistencia al corte (RC) determinado por el método de Warner-Bratzler, obtenidos por análisis de regresión múltiple, se presentan en las Tablas 8 y 9.

Tabla 8: Análisis de varianza (ANOVA) modelo de segundo orden correspondientes a la resistencia al corte (RC) y los parámetros de textura (dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad) de músculos *Superficial pectoralis* bovino tratados con APH.

	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio del error	Valor F	Valor p
RC					
Modelo	370,937	5	74,187	12,54	0,000
Falta de ajuste	19,064	1	19,064	4,04	0,070
Error puro	51,935	11	4,721		
Total	441,936	17			
R ² : 0,8393					
Dureza					
Modelo	247,583	5	49,517	37,62	0,000
Falta de ajuste	4,597	1	4,597	4,52	0,057
Error puro	11,199	11	1,018		
Total	263,379	17			
R ² : 0,9400					
Elasticidad					
Modelo	0,001603	5	2,98841	1,12	0,399
Falta de ajuste	0,000075	1	1,58413	0,25	0,629
Error puro	0,003350	11	0,35459		
Total	0,005028	17			
R ² : 0,3188					
Cohesividad					
Modelo	0,010358	5	0,002072	3,51	0,035
Falta de ajuste	0,001408	1	0,001408	2,73	0,127
Error puro	0,005683	11	0,000517		
Total	0,017450	17			
R ² : 0,5936					
Masticabilidad					
Modelo	25,2664	5	5,0533	2,39	0,101
Falta de ajuste	4,0950	1	4,0950	2,11	0,174
Error puro	21,3205	11	1,9382		
Total	50,6819	17			
R ² : 0,4985					

Tabla 9: Coeficientes de regresión para los modelos de regresión correspondientes a resistencia al corte (RC) y los parámetros de textura (dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad) de músculos *Superficial pectoralis* bovino tratados con APH.

Términos	RC (N)	Dureza (N)	Elasticidad	Cohesividad	Masticabilidad (N)
Constante	24,60*	39,33*	0,381*	0,479*	8,71*
Lineales					
P	5,11*	-4,28*	-0,005	-0,003	-1,30*
T	1,09	2,29*	-0,003	-0,030*	0,37
Cuadráticos					
P²	-2,16	-0,93	0,008	0,037*	-0,97
T²	8,29*	6,26*	0,004	-0,005	0,40
Interacciones					
PxT	-2,00	0,09	-0,030	-0,029	-2,73*
* Nivel de significancia $p < 0,05$					
Ecuaciones reducidas (valores codificados):					
RC = 23,733 + 5,11 P + 8,72 T ²					
Dureza = 39,96 – 4,28 P + 2,29 T + 6,44 T ²					

El modelo fue significativo ($p < 0,05$) y logró explicar el 83,9% de los resultados obtenidos ($R^2 = 0,839$). La falta de ajuste al modelo no fue significativa ($p > 0,05$) (Tabla 8). La presión tuvo un efecto significativo lineal ($p < 0,05$); por lo tanto, a medida que el nivel de presión aumentó los valores de RC también aumentaron. Además, la temperatura modificó significativamente ($p < 0,05$) la RC de manera cuadrática, presentando valores mínimos a temperaturas intermedias (Tabla 9, Figura 23). La interacción PxT no fue significativa ($p > 0,05$).

Varios autores estudiaron el efecto de la aplicación de tratamientos térmicos asistidos por APH para mejorar la terneza de carne bovina post-*rigor mortis* (Ma y Ledward, 2004; Sikes *et al.*, 2010; Sikes y Tume, 2014). Ma y Ledward (2004) propusieron que la mejora en la textura de músculos *Longissimus dorsi* tratados a 200 MPa y a temperaturas superiores a 60°C fue debido a la aceleración de la proteólisis luego del tratamiento. Por otra parte, Sikes *et al.* (2010) sugirieron que la aplicación de un tratamiento a 200 MPa – 60°C durante 20 min a muestras de músculos *Sternomandibularis* mejoró la textura tanto gracias a la acción de las enzimas como a modificaciones en la estructura del músculo. McArdle *et al.* (2011) informaron que tanto la temperatura como el nivel de presión del tratamiento tuvieron un efecto sobre los valores de la RC de músculo *Pectoralis profundus*. Estos autores observaron que la aplicación de tratamientos a 55°C fue más efectiva en la reducción de la RC que a 35 o 45°C; además, el incremento del nivel de presión de 400 a 600 MPa aumentó los valores de RC. Estos resultados son similares a los obtenidos en el presente estudio. Por lo tanto, la mejora de la textura asociada a un incremento de la temperatura podría deberse a una mayor actividad de las enzimas proteolíticas, lo que ocasiona

la ruptura de las proteínas miofibrilares (Jiménez-Colmenero *et al.*, 1998; Ma y Ledward, 2004) principalmente a nivel de la línea Z (Sikes *et al.*, 2010). Sin embargo, al incrementar la temperatura por arriba de los 50°C, la RC aumentó. Esto puede deberse a que la acción de las enzimas fue menor, causado probablemente por una desnaturalización térmica de las mismas. El incremento en la RC a medida que aumentó la presión podría estar asociado a una mayor estabilización de las uniones puentes de hidrógeno del colágeno, las cuales son favorecidas por la presión (Sikes *et al.*, 2010).

5. Análisis de perfil de textura

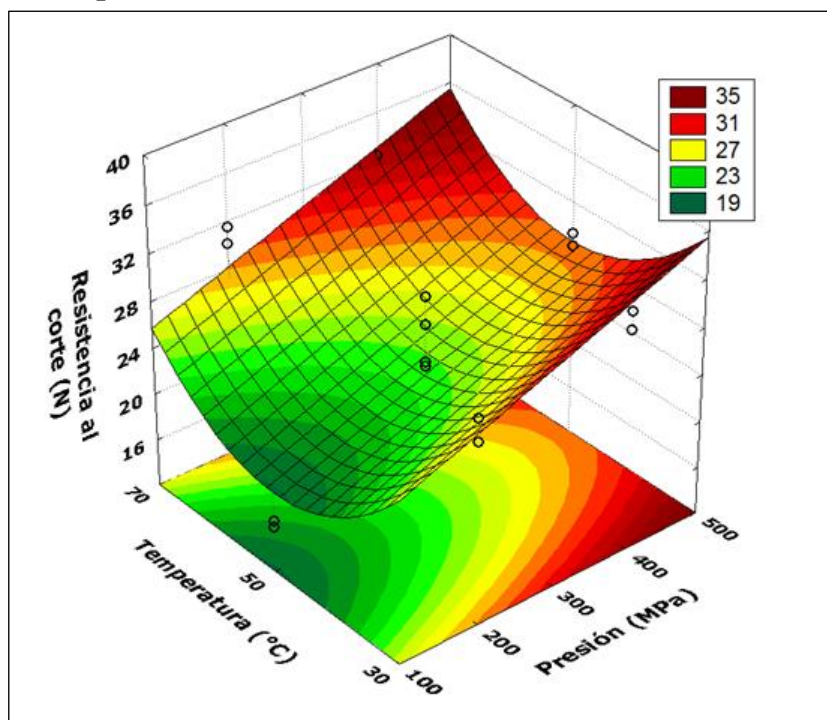


Figura 23: Superficie de respuesta del efecto de la temperatura y el nivel de presión sobre la resistencia al corte (RC). -o- valores experimentales.

El ANOVA y los coeficientes de regresión estimados para los parámetros de textura (dureza, elasticidad, cohesividad y masticabilidad) fueron obtenidos por análisis de regresión múltiple (Tablas 8 y 9).

Respecto al parámetro dureza, el modelo fue significativo ($p < 0,05$) y logró explicar el 89,5% de los resultados obtenidos ($R^2 = 0,895$). La falta de ajuste al modelo fue no significativa ($p > 0,05$) (Tabla 8). La temperatura afectó de manera lineal y cuadrática (ambos positivos) este parámetro; mientras que el nivel de presión lo hizo únicamente de manera lineal negativa (Tabla 8, Figura 24). Los valores de dureza disminuyeron con el de la presión. Este resultado es diferente al observado para la RC, y podría estar relacionado con las diferencias en las metodologías de

medición de estos parámetros. Mientras la RC se mide como la fuerza necesaria para cortar una pieza, la dureza está relacionada con una fuerza de compresión. En relación a la temperatura, también se observó un mínimo a 50°C, lo cual puede asociarse a una mayor acción de las enzimas proteolíticas de la carne, tal como fue mencionado anteriormente.

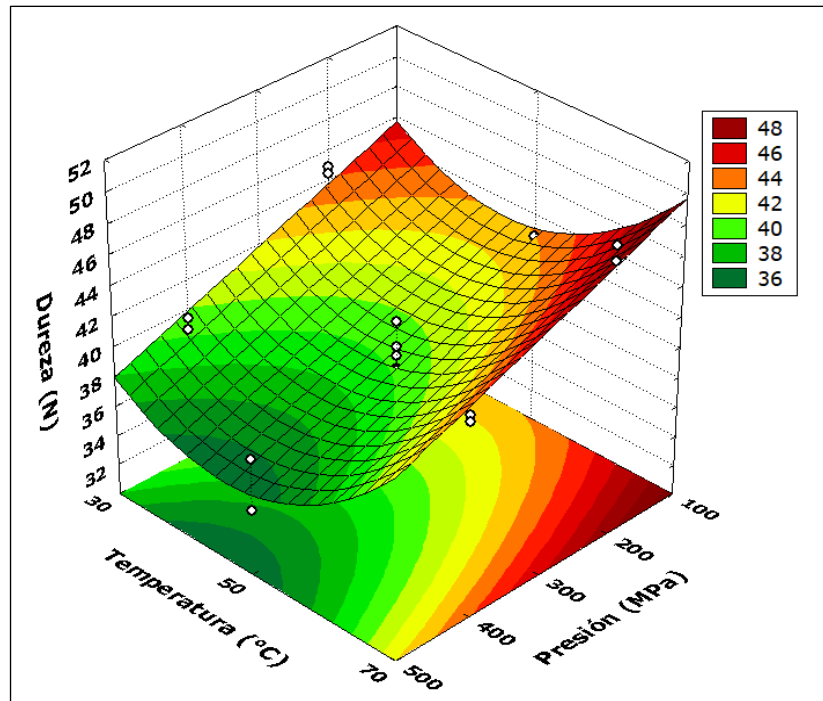


Figura 24: Superficie de respuesta del efecto de la temperatura y el nivel de presión sobre la dureza (N). -o- valores experimentales

El modelo fue significativo para el parámetro cohesividad, con un $R^2 = 0,591$ y la falta de ajuste no fue significativa ($p > 0,05$). Para los parámetros elasticidad y masticabilidad, los modelos no fueron significativos ($p > 0,05$). Por lo tanto, estos parámetros no presentaron un comportamiento cuadrático, no observándose diferencias entre los tratamientos aplicados.

Los cambios observados en los parámetros de textura indican que los tratamientos aplicados modificaron en gran medida la estructura muscular. De acuerdo a los resultados obtenidos se puede inferir que la disminución de la dureza con el incremento de la temperatura, hasta los 50°C, estaría asociada a la desnaturalización térmica de las proteínas miofibrilares (miosina principalmente), o bien a la acción de enzimas proteolíticas. Con mayores incrementos de la temperatura se desnaturalizan otras proteínas del sistema miofibrilar (actina y sarcoplásmicas) lo cual generaría una estructura más rígida, o bien como se observa en el parámetro HE, estas muestras tienen una menor retención de agua lo que podría asociarse con una mayor dureza. Por otra parte, la cohesividad disminuyó con el incremento de la temperatura. Este parámetro se asocia con la fuerza

de las uniones internas que dan estructura al producto. Por lo tanto, a medida que aumentó la temperatura estas uniones fueron menos fuertes.

El efecto de la presión sobre el parámetro dureza, tal como sugieren Sikes *et al.* (2010) se debería a la formación de una red miofibrilar fortalecida pero a la vez quebradiza, la cual cuando es expuesta a fuerzas de deformación, quiebra. Por lo tanto, cuando se logra una estructura más quebradiza, la carne es percibida como más tierna.

6. Selección de los valores óptimos de los parámetros del proceso utilizando la función deseabilidad

Para seleccionar los valores óptimos de los parámetros de proceso, en las condiciones planteadas en el presente estudio, se aplicó la función de deseabilidad. Este método integra simultáneamente las ecuaciones de regresión obtenidas para cada parámetro evaluado. Por lo tanto, la optimización se lleva a cabo mediante el uso de un método de respuesta múltiple denominado deseabilidad (Derringer y Suich, 1980), que consiste en transformar cada variable respuesta (Y_i) en una función individual (deseabilidad, d_i) cuyos valores oscilan entre 0 y 1. Esencialmente, si el valor de la respuesta está fuera de una región aceptable, se establece en 0, mientras que, si la respuesta alcanza el objetivo deseado, se establece en 1.

En el presente estudio, se seleccionaron de todas las variables estudiadas aquellas que presentaban mayor interés o bien habían sido significativamente afectadas por los tratamientos. Por lo tanto, la función de deseabilidad se diseñó para lograr un alto rendimiento total, con valores de textura bajos y con modificaciones menores en los parámetros cromáticos. Los objetivos establecidos incluyeron: la maximización del rendimiento total (RT), la minimización de la resistencia al corte y la dureza, y, la minimización del parámetro L^* (luego del tratamiento con APH y luego de la cocción) y la maximización del parámetro a^* (luego del tratamiento con APH y luego de la cocción).

En la Figura 25 se presentan los perfiles de los valores predichos y deseabilidad para las variables respuestas antes mencionadas. De acuerdo con estos datos, la condición de proceso óptima predicha que condujo al valor de deseabilidad global máximo ($D = 0,78$) fue la combinación de un nivel de presión de 100 MPa y una temperatura de 42°C. Con la aplicación de esta combinación de niveles de las variables de proceso se lograría un rendimiento total de 72,8% con valores de resistencia al corte de 17,9 N y de dureza de 42,7 N. Además, los parámetros cromáticos L^*_{APH} y

Efecto de la aplicación de tratamientos térmicos asistidos por altas presiones hidrostáticas

L^*_C presentarían valores de 47,5 y 47,6, respectivamente y a^*_{APH} y a^*_C de 23,39 y 13,27, respectivamente.

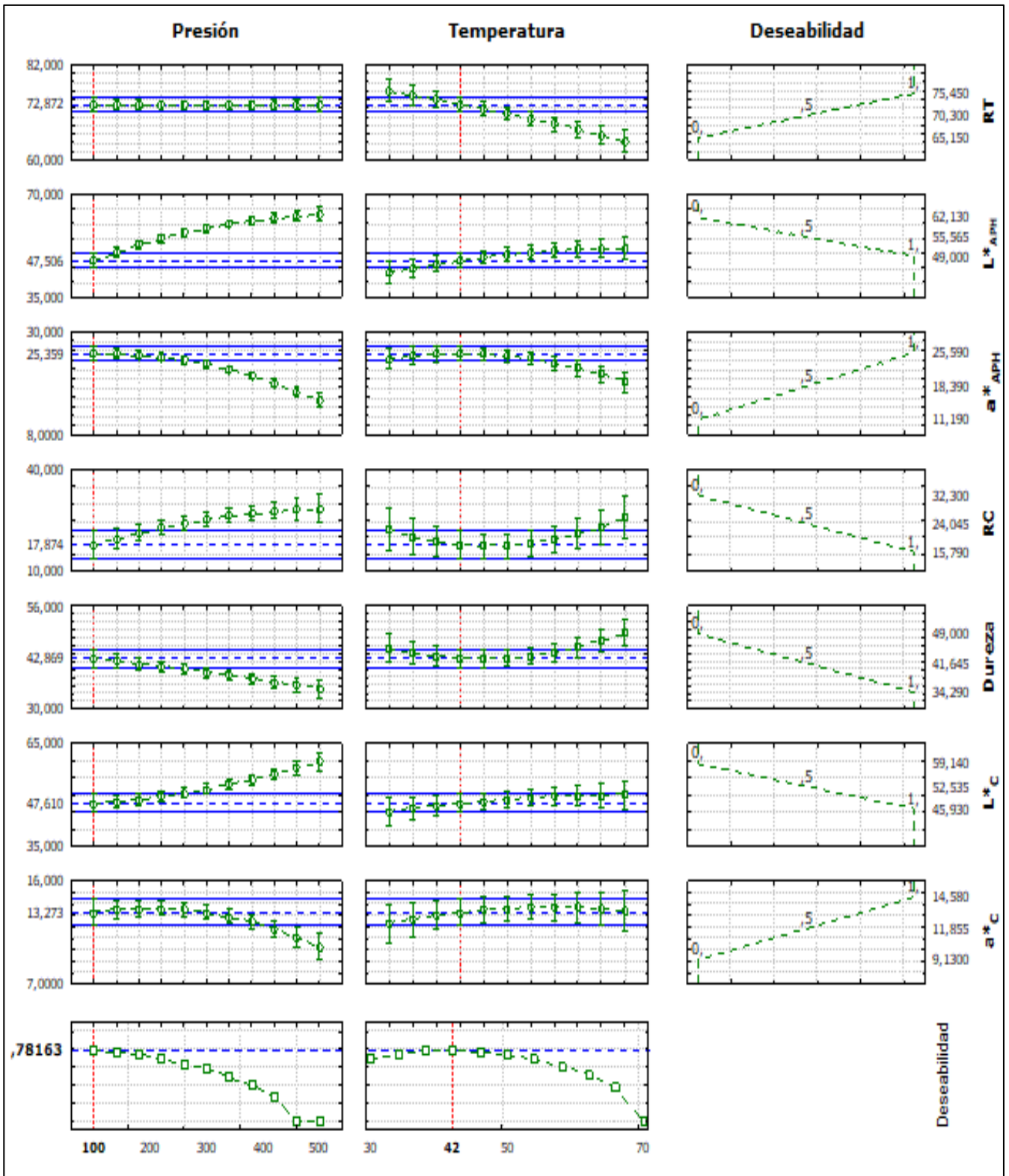


Figura 25: Perfiles de los valores predichos y deseabilidad para las variables rendimiento total (RT), resistencia al corte (RC) y dureza, y los parámetros cromáticos L^*_{APH} , a^*_{APH} , L^*_C y a^*_C .

Capítulo IV: Conclusiones

En el presente trabajo de Tesis se planteó como objetivo el estudio de la aplicación de un tratamiento térmico asistido con altas presiones hidrostáticas a carne vacuna. Se evaluaron distintos parámetros fisicoquímicos, de textura y cromáticos durante las diferentes etapas de proceso. Se aplicó un diseño experimental de optimización, y mediante la metodología de superficie de respuesta y la función deseabilidad se determinó la temperatura y el nivel de presión que se debería utilizar en el proceso para obtener un producto con las características deseadas.

En relación a la variación de pH debido al procesamiento con altas presiones hidrostáticas tanto la temperatura durante el proceso como el nivel de presión aumentaron este parámetro de estudio. Debido a un efecto de interacción entre ambas variables, a partir de los 50°C y los 300 MPa, no se observaron mayores incrementos en los valores de pH. La cocción posterior de las muestras ocasionó un aumento del pH principalmente en aquellas muestras sometidas a las menores temperaturas de proceso. Esto indicaría que aún las proteínas cárnicas no se encontraban completamente desnaturalizadas, lo que sí ocurrió luego de la cocción, razón por la cual se observaron modificaciones en este parámetro.

Asimismo, se estudiaron todas las pérdidas de peso que ocurrieron en las muestras de carne durante el proceso. Como conclusión, los tratamientos con los cuales se obtendrían los mayores valores de rendimiento total son aquellos que combinan temperaturas inferiores a 50°C y presiones menores a 300 MPa. Esto puede deberse a que las modificaciones en la estructura de las miofibrillas que ocurren durante el tratamiento térmico asistido por altas presiones y la posterior cocción, aplicando esos tratamientos permiten retener agua. Evidentemente la aplicación de tratamientos más severos causa cambios mayores que ocasionan que el agua no pueda ser retenida.

Esta mayor retención de agua en la estructura podría deberse a la formación de ciertos agregados de las proteínas miofibrilares.

Efecto de la aplicación de tratamientos térmicos asistidos por altas presiones hidrostáticas

El parámetro humedad expresable presentó valores más altos en las muestras tratadas a temperaturas intermedias (50°C) y presiones mayores a 300 MPa. La aplicación de tratamientos a 30°C, permitió obtener un alto rendimiento total; y la red formada con las proteínas miofibrilares, debido a la extracción y desnaturalización de las mismas, logró retener agua al aplicarle una fuerza externa. Mientras que un tratamiento a 50°C, también permitió alcanzar un alto rendimiento total; sin embargo, el agua retenida en la estructura no estaría unida fuertemente, por lo tanto se obtuvo una alta humedad expresable. Por último, a 70°C ocurre una mayor desnaturalización de las proteínas miofibrilares afectando la capacidad de retención de agua de las miofibrillas. Podría suponerse, que las muestras tratadas a 50°C, serán las más jugosas, debido a sus mayores valores de humedad expresable. Esto debería confirmarse realizando un estudio de análisis sensorial.

En relación con los parámetros cromáticos correspondientes a las muestras de carne tratada con altas presiones, el parámetro L^*_{APH} se modificó hasta un nivel de presión de 350 MPa, a partir del mismo no se observaron mayores cambios en este parámetro. Esto se debería a que a menores presiones ocurren las mayores modificaciones en la estructura miofibrilar; así como la desnaturalización de la mioglobina. El parámetro a^*_{APH} presentó las menores modificaciones en las muestras tratadas a temperaturas inferiores a 50°C y presiones menores a 300 MPa. Por arriba de este umbral, los valores correspondientes al parámetro a^*_{APH} , disminuyeron con los incrementos de los valores de las variables de los parámetros de proceso. Luego de la cocción, estas diferencias observadas se mantuvieron.

Los valores de resistencia al corte presentaron un mínimo a temperaturas de 50°C y niveles de presión bajos. La mejora de la textura asociada a un incremento de la temperatura podría deberse a una mayor actividad de las enzimas proteolíticas, lo que ocasiona la degradación de las proteínas miofibrilares. Sin embargo, el incremento en el nivel de presión aumentó la resistencia al corte, esto estaría asociado a una mayor estabilización de las uniones puentes de hidrógeno del colágeno, las cuales están favorecidas por el tratamiento por APH.

Evaluando en conjunto las variables de interés estudiadas mediante la función deseabilidad, se estableció que los valores óptimos predichos de los parámetros de proceso que condujeron al valor de deseabilidad global máximo ($D = 0,78$) fueron un nivel de presión de 100 MPa y una temperatura de 42°C.

Los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Tesis aportan conocimientos a la industria de los productos cárnicos, potenciando las posibilidades de la aplicación de nuevas tecnologías como las altas presiones hidrostáticas para el desarrollo de productos innovadores con propiedades mejoradas agregando valor.

Referencias bibliográficas

- AMSA. (1995). Research guidelines for cookery, sensory evaluation and instrumental tenderness measurements of fresh meat. American Meat Science Association. National Livestock and Meat Board, Chicago, IL.
- AMSA. (2012). Meat Color Measurement Guidelines: AMSA.
- Araujo, P. W., y Brereton, R. G. (1996). Experimental design II. Optimization. *Trends in Analytical Chemistry*, 15(2), 63-70.
- Arenas, C. E. M. (2011). Sistema locomotor (pp. 31): Universidad Nacional de México, Facultad de Medicina, Departamento de biología celular y tisular biología celular e histología médica.
- Bak, K. H., Bolumar, T., Karlsson, A. H., Lindahl, G., y Orlien, V. (2019). Effect of high pressure treatment on the color of fresh and processed meats: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(2), 228-252. doi: 10.1080/10408398.2017.1363712
- Balasubramaniam, V. M., Farkas, D., y Turek, E. (2008). Preserving Foods through High-Pressure Processing. *Food Technology*, 62(11), 32-38.
- Beilken, S. L., Macfarlane, J. J., y Jones, P. N. (1990). Effect of high pressure during heat treatment on the wamer-bratzler shear force values of selected beef muscles. *Journal of Food Science*, 55(1), 15-18. doi: 10.1111/j.1365-2621.1990.tb06006.x
- Benet, G. U. (2005). High-pressure low-temperature processing of foods: Impact of metastable phases on process and quality parameters. (Phd), Berlin University of Technology, Berlin, Germany.
- Bhat, Z., Morton, J., Mason, S., y Bekhit, A. (2018). Applied and Emerging Methods for Meat Tenderization: A Comparative Perspective. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. doi: 10.1111/1541-4337.12356
- Bonny, S. P. F., Gardner, G. E., Pethick, D. W., y Hocquette, J. F. (2015). What is artificial meat and what does it mean for the future of the meat industry? *Journal of Integrative Agriculture*, 14(2), 255-263. doi: 10.1016/S2095-3119(14)60888-1
- Bourne, M. C. (1978). Texture profile analysis. *Food Technology*, 32, 62-66.
- Bouton, P. E., Harris, P. V., y Macfarlane, J. J. (1980). Pressure-heat treatment of meat: Effect of prior aging treatments on shear properties. *Journal of Food Science*, 45(2), 276-278. doi: 10.1111/j.1365-2621.1980.tb02595.x
- Bouton, P. E., Harris, P. V., Macfarlane, J. J., y O'Shea, J. M. (1977). Effect of pressure treatments on the mechanical properties of pre- and post-rigor meat. *Meat Science*, 1(4), 307-318. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(77\)90025-0](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(77)90025-0)
- Carlez, A., Veciana-Nogues, T., y Cheftel, J. C. (1995). Changes in colour and myoglobin of minced beef meat due to high pressure processing. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 28(5), 528-538.
- Claus, J. R. (1995). Methods for the Objective Measurement of Meat Product Textura, JAMES R. CLAUS, R. eciprocal Meat Conference Proceedings, 48.
- Derringer, G., y Suich, R. (1980). Simultaneous Optimization of Several Response Variables. *Journal of Quality Technology*, 12(4), 214-219. doi: 10.1080/00224065.1980.11980968

- Duranton, F., Simonin, H., Guyon, C., Jung, S., y de Lamballerie, M. (2014). Chapter 3: High-Pressure Processing of Meats and Seafood. In D. W. Sun (Ed.), *Emerging Technologies for Food Processing (Second Edition)* (pp. 35-63). San Diego: Academic Press.
- Elamin, W. M., Endan, J. B., Yosuf, Y. A., Shamsudinand, R., y Ahmedov, A. (2015). High Pressure Processing Technology and Equipment Evolution: A Review. *Journal of Engineering Science and Technology Review*, 5(5), 75-83.
- FAO. (2014, 25 November 2014). Meat Quality. 2019, from http://www.fao.org/ag/againfo/themes/en/meat/quality_meat.html
- Farkas, D. F., y Hoover, D. G. (2000). High Pressure Processing. *Journal of Food Science*, 65, 47-64. doi: 10.1111/j.1750-3841.2000.tb00618.x
- Ferreira, S. L. C., dos Santos, W. N. L., Quintella, C. M., Neto, B. c. B., y Bosque-Sendra, J. M. (2004). Doehlert matrix: a chemometric tool for analytical chemistry—review. *Talanta*, 63(4), 1061-1067. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2004.01.015>
- Geileskey, A., King, R. D., Corte, D., Pinto, P., y Ledward, D. A. (1998). The kinetics of cooked meat haemoprotein formation in meat and model systems. *Meat Science*, 48(3), 189-199. doi: [https://doi.org/10.1016/S0309-1740\(97\)00089-2](https://doi.org/10.1016/S0309-1740(97)00089-2)
- Giese, J. (1995). Measuring physical properties of food. *Food Technology*, 49(2), 54-63.
- Goutefongea, R., Rampon, V., Nicolas, J., y Dumont, J. P. (1995, 20-25 August). Meat color changes under high pressure treatment. Paper presented at the 41st International Congress of Meat Science and Technology, San Antonio, Texas, USA.
- Guillou, S., Lerasle, M., Simonin, H., y Federighi, M. (2016). *Emerging Technologies in Meat Processing: Production, Processing and Technology* (E. J. C. J. G. Lyng Ed. 2017 ed.). 9600 Garsington Road, Oxford, OX4 2DQ, UK: John Wiley y Sons, Ltd.
- Guillou, S., Lerasle, M., Simonin, H., y Federighi, M. (2017). High-pressure processing of meat and meat products. In J. G. L. Enda J. Cummins (Ed.), *Emerging Technologies in Meat Processing* (pp. 50-55): Wiley Blackwell.
- Hib, J. (2001). *Histologia de Difiore* (E. Ateneo Ed. 3ra ed.): El Ateneo.
- Hiperbaric. (2020). Hiperbaric 525 y 1050 Bulk. Retrieved 02/2020, 2020, from <https://www.hiperbaric.com/es/hiperbaric525y1050bulk>
- Hite, B. H. (1899). The effect of pressure in the preservation of milk. *Bulletin of West Virginia University of Agriculture Experimental Station, Morgantown*, 58, 15-35.
- Hoover, D. G., Metricks, C., Papineau, C. A. M., Farkas, D. F., y Knorr, D. (1989). Biological effects of high hydrostatic pressure on food microorganisms. *Food Technology*, 43, 99-107.
- Hughes, J. M., Oiseth, S. K., Purslow, P. P., y Warner, R. D. (2014). A structural approach to understanding the interactions between colour, water-holding capacity and tenderness. *Meat Science*, 98(3), 520-532. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.05.022>
- INTA. (2018, 3 Jun 2018). Alimentos: el consumo responsable cambia paradigmas. <http://www.agritotal.com/nota/35005-alimentos-el-consumo-responsable-cambia-paradigmas/>. 2019, from <http://www.agritotal.com/nota/35005-alimentos-el-consumo-responsable-cambia-paradigmas/>
- IPCVA. (2019, Marzo 2019). Estadísticas. Mercado Doméstico. Retrieved 05/31/2019, 2019, from <http://www.ipcva.com.ar/vertext.php?id=964>

- Jiménez-Colmenero, F., Cofrades, S., Carballo, J., Fernández, P., y Fernández-Martín, F. (1998). Heating of chicken and pork meat batters under pressure conditions: protein interactions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(11), 4706-4711. doi: 10.1021/jf980354y
- Jung, S., Ghoul, M., y de Lamballerie-Anton, M. (2003). Influence of high pressure on the color and microbial quality of beef meat. *Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie*, 36(6), 625-631.
- Kim, Y.-J., Lee, E.-J., Lee, N.-H., Kim, Y.-H., y Yamamoto, K. (2007). Effects of Hydrostatic Pressure Treatment on the Physicochemical, Morphological, and Textural Properties of Bovine Semitendinosus Muscle. *Food Science and Biotechnology* 16(1), 49-54.
- King, N. J., y Whyte, R. (2006). Does It Look Cooked? A Review of Factors That Influence Cooked Meat Color. *Journal of Food Science*, 71(4), R31-R40. doi: 10.1111/j.1750-3841.2006.00029.x
- Knorr, D. (1995). Hydrostatic pressure treatment of food: microbiology. In G. W. Gould (Ed.), *New Methods of Food Preservation* (pp. 159-175). Boston, MA: Springer US.
- Lawrie, R. A. (1998). *Ciencia de la carne*. Zaragoza, España: Editorial Acirbia S.A.
- Ledward, D. A. (1979). Meat. In P. R. J. (Ed.), *Effect of heating on food-stuffs* (pp. 121-157). London: Applied Science Publishers.
- Listrat, A., Lebret, B., Louveau, I., Astruc, T., Bonnet, M., Lefaucheu, L., . . . Bugeon, J. (2016). How Muscle Structure and Composition Influence Meat and Flesh Quality. *ScientificWorldJournal*, 2016(2016:3182746), 14. doi: 10.1155/2016/3182746
- Lupano, C. E. (2013). Modificaciones de componentes minoritarios. In E. d. I. U. d. L. Plata (Ed.), *Modificaciones de componentes de los alimentos: cambios químicos y bioquímicos por procesamiento y almacenamiento* (Primera ed., pp. 205-208): Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata.
- Ma, H., y Ledward, D. (2004). High pressure/thermal treatment effects on the texture of beef muscle. *Meat Sci*, 68(3), 347-355. doi: 10.1016/j.meatsci.2004.04.001
- Ma, H., y Ledward, D. A. (2013). High pressure processing of fresh meat — Is it worth it? *Meat Science*, 95(4), 897-903. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.03.025>
- Macfarlane, J. J. (1985). Development in Meat Science - 3. In R. A. Lawrie (Ed.), *High pressure technology and meat quality* (pp. 155-184). London: Elsevier Applied Science.
- Macfarlane, J. J., McKenzie, I. J., y Turner, R. H. (1982). Pressure-induced pH and length changes in muscle. *Meat Science*, 7(3), 169-181. doi: [http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740\(82\)90083-3](http://dx.doi.org/10.1016/0309-1740(82)90083-3)
- Mancini, R. A., y Hunt, M. C. (2005). Current research in meat color. *Meat Science*, 71(1), 100-121. doi: doi:10.1016/j.meatsci.2005.03.003
- Marcos, B., Kerry, J. P., y Mullen, A. M. (2010). High pressure induced changes on sarcoplasmic protein fraction and quality indicators. *Meat Science*, 85(1), 115-120. doi: 10.1016/j.meatsci.2009.12.014
- Mattick, C. S., y Allenby, M. (2012). 1-6. doi: 10.1109/ISSST.2012.6228020
- McArdle, R., Marcos, B., Kerry, J. P., y Mullen, A. (2010). Monitoring the effects of high pressure processing and temperature on selected beef quality attributes. *Meat Science*, 86(3), 629-634. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2010.05.001>

- McArdle, R., Marcos, B., Kerry, J. P., y Mullen, A. M. (2011). Influence of HPP conditions on selected beef quality attributes and their stability during chilled storage. *Meat Science*, 87(3), 274-281. doi: 10.1016/j.meatsci.2010.10.022
- Miller, R. K., Taylor, J. F., Sanders, J. O., Lunt, D. K., Davis, S. K., Turner, J. K., . . . Lacey, R. E. (1996). Methods for Improving Meat Tenderness. Paper presented at the 49th Annual Reciprocal Meat Conference. https://meatscience.org/docs/default-source/publications-resources/rmc/1996/methods-for-improving-meat-tenderness.pdf?sfvrsn=fc4fbbb3_2
- Minolta, K. Espacio de Color CIE L*A*B*. Retrieved 08/2019, 2019, from <http://sensing.konicaminolta.com.mx/2014/09/entendiendo-el-espacio-de-color-cie-lab/>
- Mújica-Paz, H., Valdez-Fragoso, A., Samson, C., Welti-Chanes, J., y Torres, J. (2011). High-Pressure Processing Technologies for the Pasteurization and Sterilization of Foods. *Food and Bioprocess Technology*, 4(6), 969-985. doi: 10.1007/s11947-011-0543-5
- Mullen, A. M., Álvarez, C., Zeugolis, D. I., Henschion, M., O'Neill, E., y Drummond, L. (2017). Alternative uses for co-products: Harnessing the potential of valuable compounds from meat processing chains. *Meat Science*, 132, 90-98. doi: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2017.04.243>
- Neto, O. C., Rosenthal, A., Deliza, R., Torrezan, R., Ferreira, J. C. S., Leal, W. F., y Gaspar, A. (2015). Effects of Hydrostatic Pressure Processing on Texture and Color of Zebu Beef. *Food and Bioprocess Technology*, 8(4), 837-843. doi: 10.1007/s11947-014-1451-2
- Nguyen, L. T., y Balasubramaniam, V. M. (2011). Chapter 1: Fundamentals of Food Processing Using High Pressure. In H. Q. Zhang, G. V. Barbosa-Cánovas, V. M. Balasubramaniam, C. P. Dunne, D. F. Farkas y J. T. C. Yuan (Eds.), *Nonthermal Processing Technologies for Food* (pp. 3-19): Wiley-Blackwell.
- Rao, P., Chakraborty, S., Kaushik Shandilya, N., Kaur, B., y Swami Hulle, N. (2014). High hydrostatic pressure processing of food materials. (2014) Rao, P. S., Chakraborty, S., Kaushik, N., Kaur, B. P., and Swami Hulle, N. R. in J. K. Sahu (Ed.), *Introduction to Advanced Food Processing Technologies*, CRC Press, United Kingdom (pp. 151-186).
- Rastogi, N. K., Raghavarao, K. S., Balasubramaniam, V. M., Niranjana, K., y Knorr, D. (2007). Opportunities and challenges in high pressure processing of foods. *Crit Rev Food Sci Nutr*, 47(1), 69-112. doi: 10.1080/10408390600626420
- Saláková, A. (2012). Instrumental measurement of texture and color of meat and meat products. *Maso International – Journal of Food Science and Technology*, 2(1), 107-114.
- Sale, A. J. H., Gould, G. H., y Hamilton, W. A. (1970). *J. Gen. Microbiol.*, 60(null), 328.
- San Martín, M. F., Barbosa-Cánovas, G. V., y Swanson, B. G. (2002). Food Processing by High Hydrostatic Pressure. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 42(6), 627-645. doi: 10.1080/20024091054274
- Sikes, A. L., Tornberg, E., y Tume, R. K. (2010). A proposed mechanism of tenderising post-rigor beef using high pressure–heat treatment. *Meat Science*, 84(3), 390-399. doi: 10.1016/j.meatsci.2009.09.007
- Sikes, A. L., y Tume, R. K. (2014). Effect of processing temperature on tenderness, colour and yield of beef steaks subjected to high-hydrostatic pressure. *Meat Science*, 97(2), 244-248. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.12.007>
- Sikes, A. L., y Warner, R. (2016). 10 - Application of High Hydrostatic Pressure for Meat Tenderization. In K. Knoerzer, P. Juliano y G. Smithers (Eds.), *Innovative Food Processing Technologies* (pp. 259-290): Woodhead Publishing.

- Silva Paz, R. J. (2015). Aplicación de la tecnología de altas presiones hidrostáticas combinada con temperaturas moderadas en cortes cárnicos de bajo valor comercial. (Master), Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina.
- Somerville, J. (2009). The Effects of Pressure-Assisted Thermal Processing on the Quality Attributes of Black Beans (*Phaseolus vulgaris* L.). (Master), The Ohio State University, Columbus, Ohio, USA.
- Squire, J. M. (2010, 18 Octubre 2010). Muscle Contraction: Regulation. Retrieved 24/NOV/2019, from <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0000674.pub2>
- Sun, X. D., y Holley, R. A. (2010). High Hydrostatic Pressure Effects on the Texture of Meat and Meat Products. *Journal of Food Science*, 75(1), R17-R23. doi: 10.1111/j.1750-3841.2009.01449.x
- Suzuki, A., Watanabe, M., Iwamura, K., Ikeuchi, Y., y Saito, M. (1990). Effect of High Pressure Treatment on the Ultrastructure and Myofibrillar Protein of Beef Skeletal Muscle. *Agricultural and Biological Chemistry*, 54(12), 3085-3091. doi: 10.1080/00021369.1990.10870479
- Szczesniak, A. S. (1963). Classification of Textural Characteristics. *Journal of Food Science*, 28(4), 385-389.
- Szerman, N., Denoya, G. I., Sanow, L. C., Ormando, P., Maria Laura Vranic, Sergio Ramon Vaudagna, y Barrio, Y. X. (2012). Aplicación de la tecnología de altas presiones hidrostáticas en el procesamiento de alimentos. Retrieved 09/12/2019, 2019, from <https://inta.gob.ar/documentos/aplicacion-de-la-tecnologia-de-altas-presiones-hidrostaticas-en-el-procesamiento-de-alimentos>
- Tonello, C. (2018). Commercial applications of HPP y irradiation (ionizing radiation). Paper presented at the 2018 International Nonthermal Processing Workshop, Sorrento, Italia.
- Trinh, T. (2012). On the texture profile analysis test. Wellington, New Zealand. https://www.researchgate.net/publication/316093466_On_the_texture_profile_analysis_test
- Vaudagna, S. R., Sánchez, G., Neira, M. S., Insani, E. M., Picallo, A. B., Gallinger, M. M., y Lasta, J. A. (2002). Sous vide cooked beef muscles: Effects of low temperature-long time (LT-LT) treatments on their quality characteristics and storage stability. *International Journal of Food Science and Technology*, 37(4), 425-441.
- Warner, R. D., McDonnell, C. K., Bekhit, A. E. D., Claus, J., Vaskoska, R., Sikes, A., . . . Ha, M. (2017). Systematic review of emerging and innovative technologies for meat tenderisation. *Meat Science*, 132, 72-89. doi: 10.1016/j.meatsci.2017.04.241
- Winger R.J., Hagyard. C. J. (1994). Juiciness — its importance and some contributing factors. In D. T. R. Pearson A.M. (Ed.), *Quality Attributes and their Measurement in Meat, Poultry and Fish Products. Advances in Meat Research* (Vol. 9, pp. 94-124). Boston, MA, USA: Springer. doi: 10.1007/978-1-4615-2167-9
- Yordanov, D. G., y Angelova, G. V. (2010). High Pressure Processing for Foods Preserving. *Biotechnology y Biotechnological Equipment*, 24(3), 1940-1945. doi: 10.2478/V10133-010-0057-8

Anexo

1. Evolución de la temperatura y la presión durante los tratamientos

A continuación se presentan las curvas obtenidas durante la aplicación de los distintos tratamientos térmicos asistidos por APH

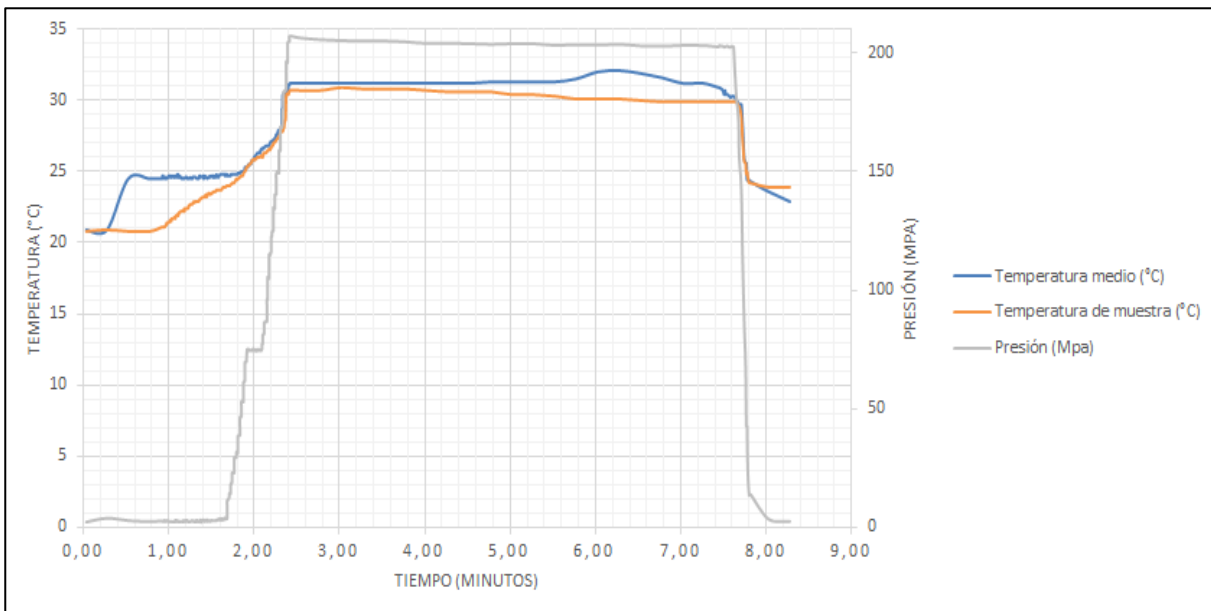


Figura A-1: Curva de evolución de la temperatura en muestra y nivel de presión correspondiente al Tratamiento 1 (30°C – 200 MPa).

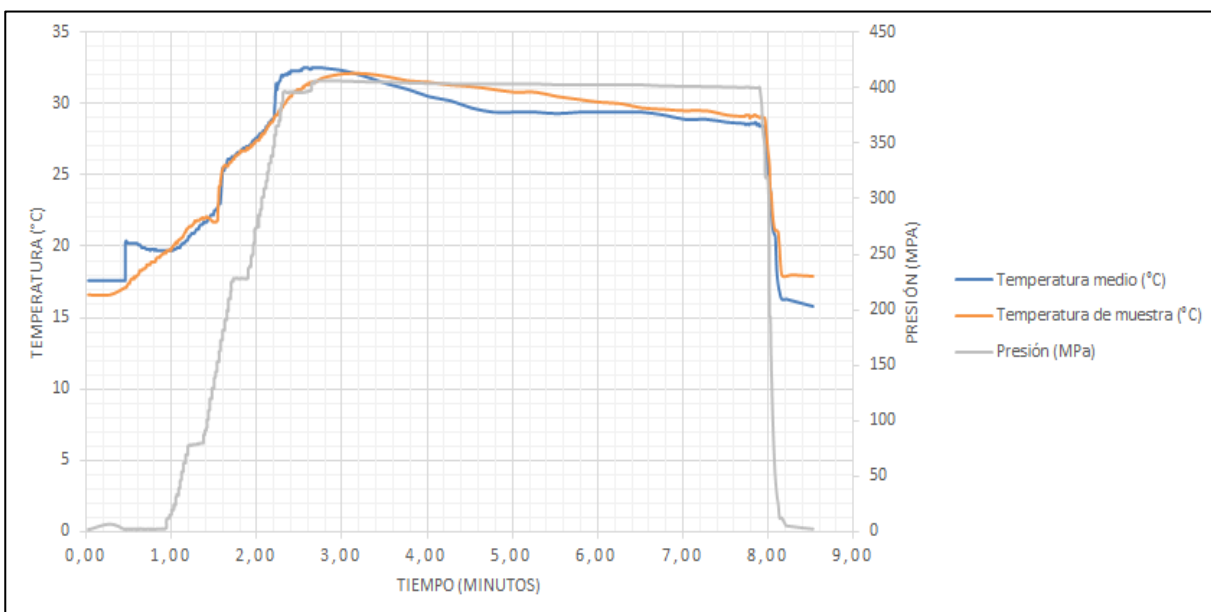


Figura A-2: Curva de evolución de la temperatura en muestra y nivel de presión correspondiente al Tratamiento 2 (30°C – 400 MPa).

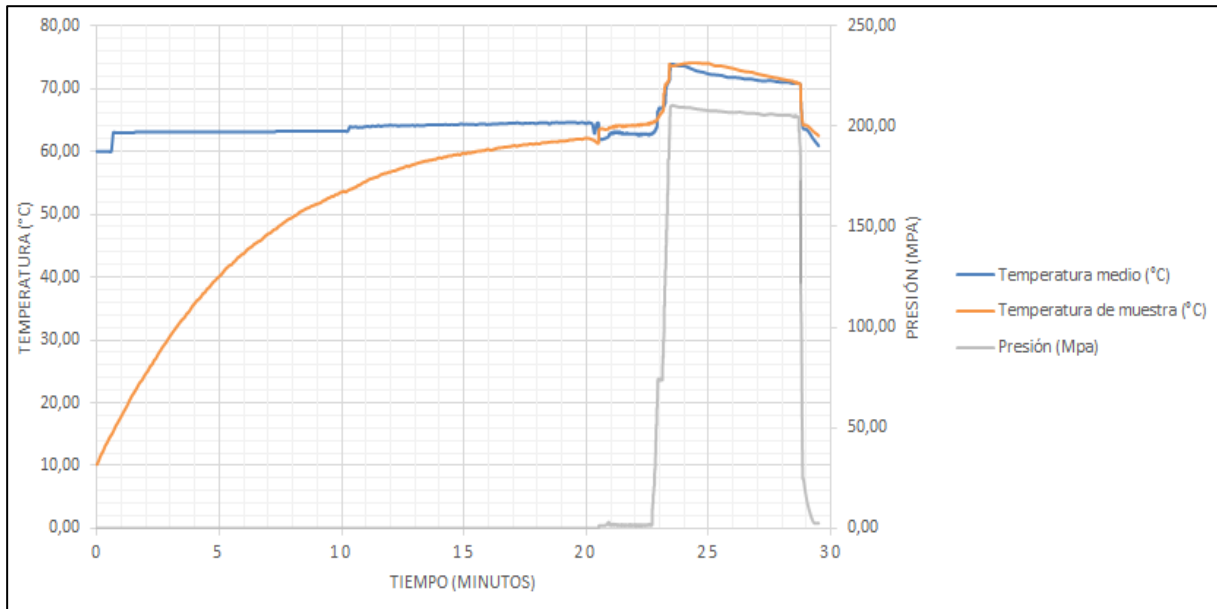


Figura A-3: Curva de evolución de la temperatura en muestra y nivel de presión correspondiente al Tratamiento 3 (70°C – 200 MPa).

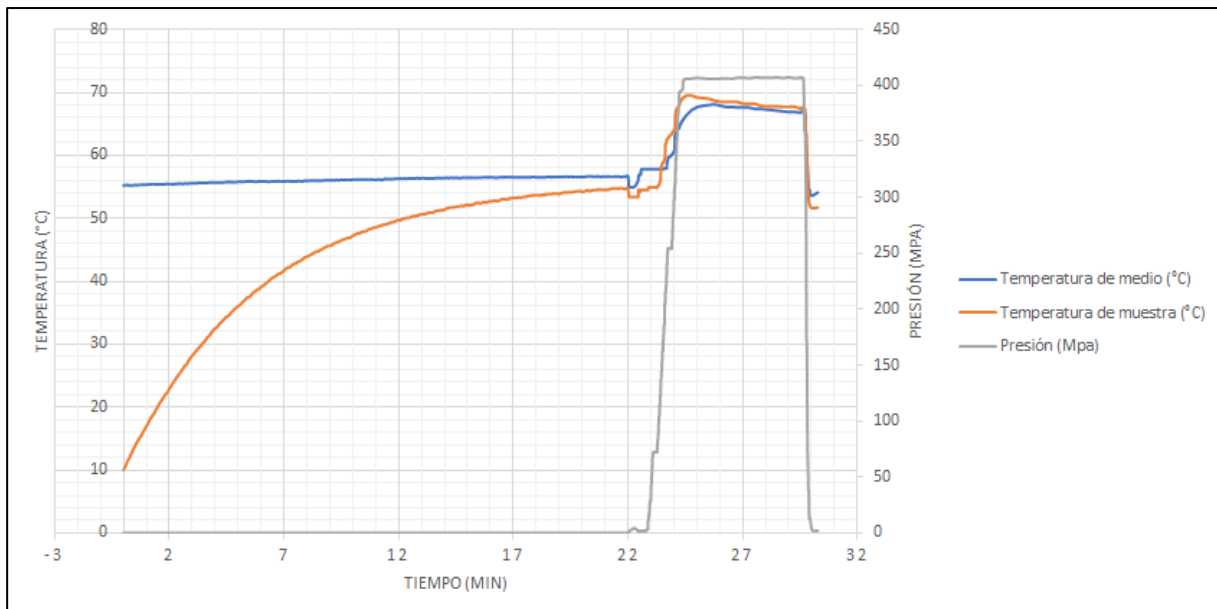


Figura A-4: Curva de evolución de la temperatura en muestra y nivel de presión correspondiente al Tratamiento 4 (70°C – 400 MPa).

Efecto de la aplicación de tratamientos térmicos asistidos por altas presiones hidrostáticas

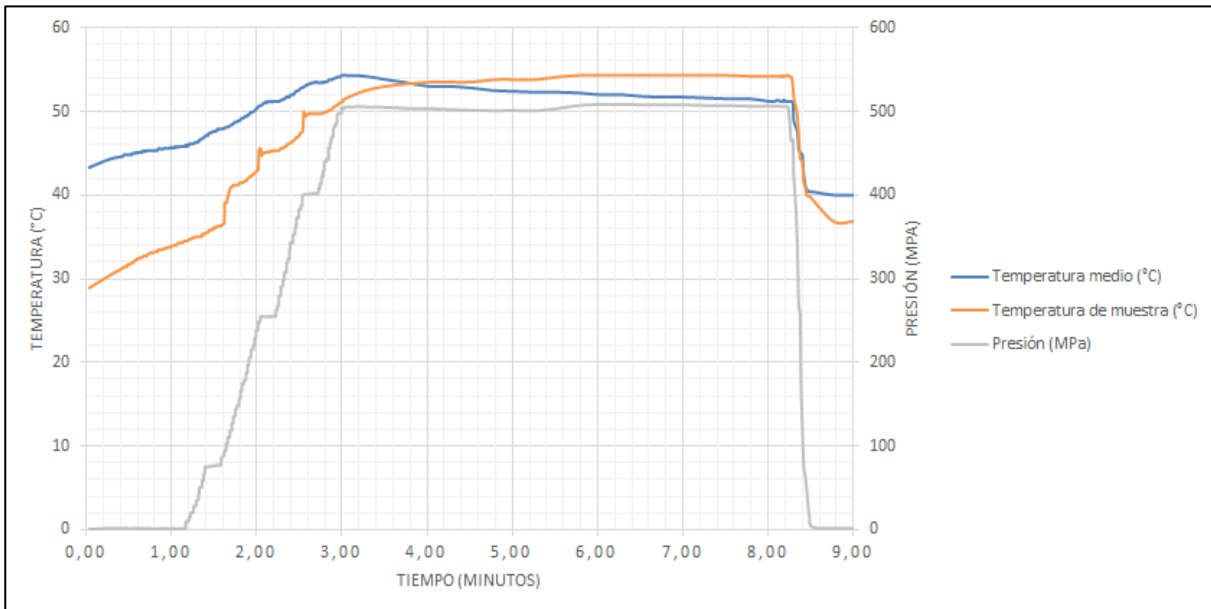


Figura A-5: Curva de evolución de la temperatura en muestra y nivel de presión correspondiente al Tratamiento 5 (50°C – 500 MPa).

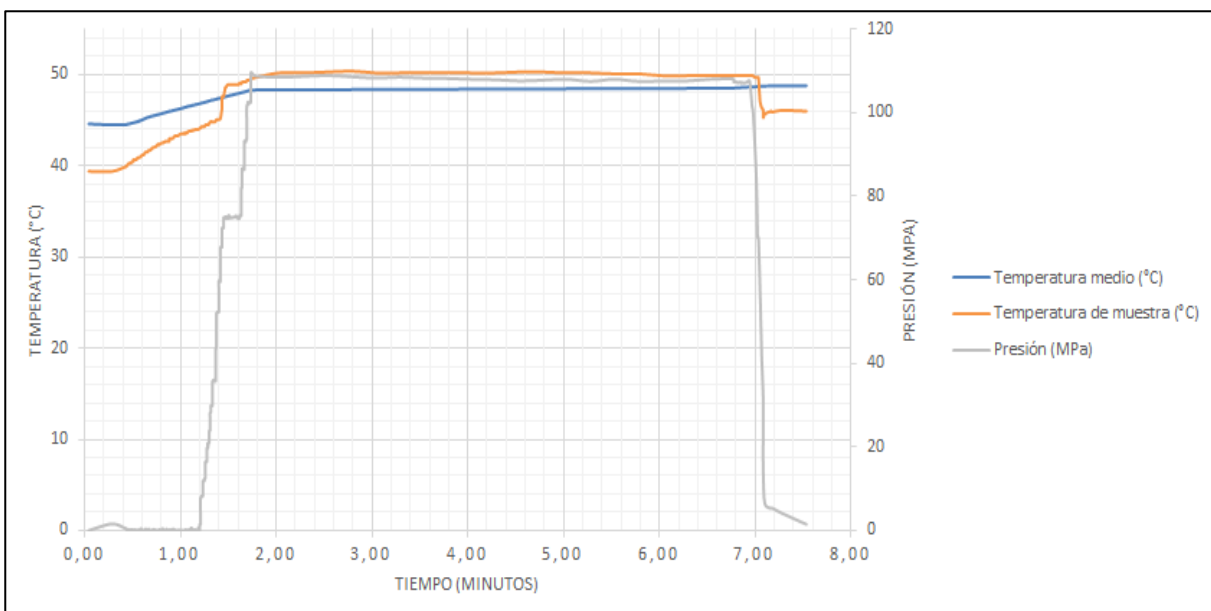


Figura A-6: Curva de evolución de la temperatura en muestra y nivel de presión correspondiente al Tratamiento 6 (50°C – 300 MPa).

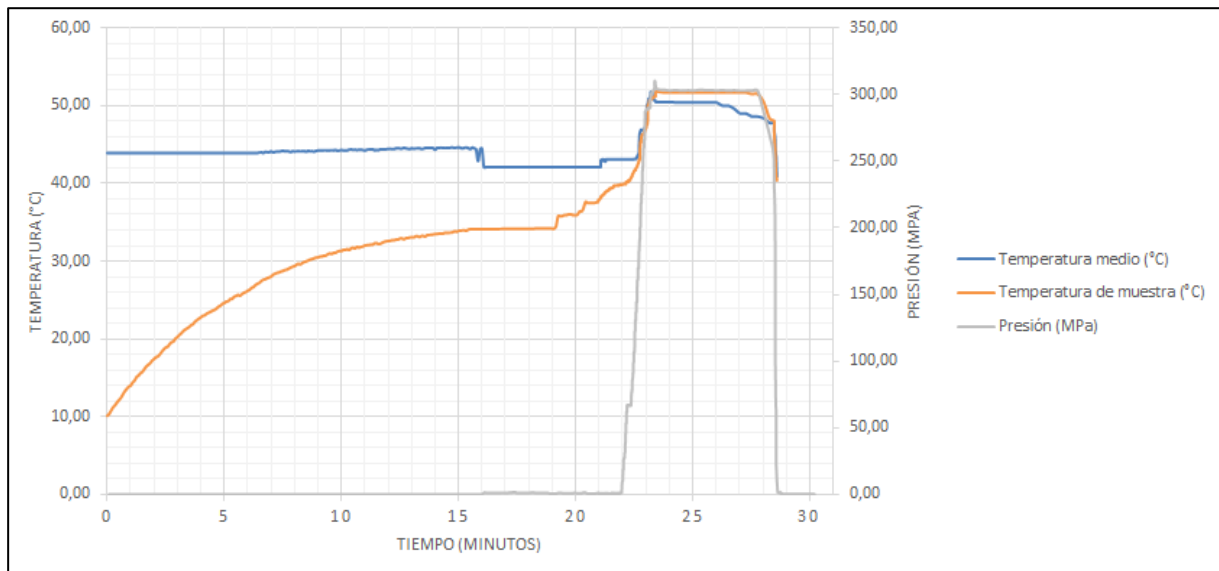


Figura A-7: Curva de presión-temperatura correspondiente al tratamiento aplicando una temperatura de 50°C y un nivel de presión de 300 MPa.

Nota aclaratoria: Algunos datos correspondientes a las curvas de precalentamiento registradas con el multímetro digital Fluke Hydra 2625a por problemas técnicos no se pudieron recuperar; por lo tanto, solo se encuentran graficados de forma completa todo el ciclo (precalentamiento y tratamiento APH) los tratamientos 3, 4 y 7.

2. Evolución de la temperatura durante la cocción

Figura A-8: Curva de penetración de calor durante la cocción. Este gráfico que corresponde la cocción de las muestras del Tratamiento 7, es un ejemplo de todas las curvas.

